

LA LIPOGENÈSE DANS LES "MICROSOMES" DU PARENCHYME DE POMME (*Pirus malus* L.)*

A. OURSEL-THIBAUDIN

Les études concernant le rôle de la fraction microsomale dans le métabolisme lipidique de la cellule sont relativement récentes et ont été menées principalement sur des tissus animaux. Cette thèse a pour objet l'étude de la lipogenèse dans des microsomes végétaux extraits du parenchyme de pomme.

CARACTERISTIQUES DE LA FRACTION MICROSOMALE

Selon CLAUDE (1946), les "microsomes" constituent la fraction subcellulaire sédimentant en une heure de centrifugation à 100 000g, à partir d'un broyat de tissu homogénéisé, après que noyaux, chloroplastes et mitochondries aient été éliminés. Un culot de microsomes d'origine animale (MOULE, 1960) est caractérisé par la présence de formations vésiculaires de tailles diverses à surface rugueuse (portant des ribosomes) ou lisse (libres de particules); ces formations vésiculaires proviennent essentiellement de la fragmentation des membranes du reticulum endoplasmique au cours du broyage; à ces membranes se joignent des vésicules golgiennes, lysosomales, des peroxyosomes, etc.

La composition biochimique de ces organites présente une certaine variabilité d'un tissu à un autre et peut dépendre du milieu d'extraction et des techniques de désintégration utilisée. De nombreux auteurs, travaillant essentiellement sur des tissus animaux (GETZ et coll., 1962 - SPIRO et Mc KIBBIN, 1956 - PASCAUD, 1962, etc.) signalent la richesse des microsomes en phospholipides parmi lesquels la phosphatidylcholine et la phosphatidyléthanolamine représentent 50 à 80 p. cent de l'ensemble. Ces auteurs signalent une certaine uniformité de composition entre les différentes fractions cellulaires d'un même tissu.

Les recherches poursuivies sur le métabolisme lipidique dans les microsomes de cellules animales ont amené des auteurs tels que KLENK (1955) MARGOLIS et BAUM (1966), NUGTEREN (1965) à localiser, dans cette fraction, les enzymes de la désaturation oxydative décrite par BLOCH en 1963; ces enzymes permettent la synthèse d'acides gras poly-insaturés à longue chaîne. De façon générale, les microsomes animaux semblent surtout participer à l'élongation des acides gras par addition des molécules de malonyl-CoA à une première molécule d'acyl-CoA de longueur intermédiaire. En outre, semblent également situées, dans cette fraction, les enzymes nécessaires à la synthèse de la plupart des phospholipides et des lipides neutres présents dans la cellule.

- Les microsomes du parenchyme de pomme

Les expériences ont porté essentiellement sur des pommes de la variété Golden délicieux cueillies vertes en octobre, et maintenues en survie en chambre frigorifique, à +2°C environ. A partir des fruits, les microsomes ont été obtenus par la technique classique de centrifugation différentielle.

Les micrographies électroniques des microsomes de parenchyme de pomme révèlent la présence de nombreuses vésicules à surface lisse dans les culots. Contrairement à ce que l'on peut observer avec des tissus animaux à métabolisme plus actif, il n'y a pratiquement pas de ribosomes

(*) - Résumé de la thèse de Doctorat de 3ème Cycle, soutenue devant la Faculté des Sciences de Paris (1970).

fixés sur les membranes. Les contrôles enzymatiques effectués ont mis en évidence la présence de certaines enzymes caractéristiques de la fraction étudiée ; NADH-cytochrome c réductase résistante à l'antimycine et glucose-6-phosphatase. L'activité de ces enzymes est conforme aux résultats trouvés par d'autres auteurs (MARTIN et coll. 1956 ; DALLNER et coll. 1965 ; Mc LEN-NAN et coll. 1967 ; BEN ABDELKADER, 1969).

Les lipides des membranes microsomales ont été analysés au moyen de différents systèmes chromatographiques : en phase gazeuse, sur couche mince de gel de silice ou sur papier silicé.

Les phospholipides représentent 45 p. cent des lipides totaux pour 43 p. cent de lipides neutres. La phosphatidylcholine (38 p. cent) et la phosphatidyléthanolamine (25 p. cent) sont les phospholipides majeurs. Ont également été identifiés, la phosphatidylsérine (12 p. cent), le phosphatidylglycérol (7, 50 p. cent), le phosphatidylinositol (14, 6 p. cent) et le diphosphatidylglycérol (0, 12 p. cent). L'acide linoléique représente 50 à 60 p. cent des acides gras microsomaux totaux ; les autres acides gras trouvés sont : l'acide oléique (3-5 p. cent), l'acide linoléique (3-4 p. cent), l'acide palmitique (24-27 p. cent), l'acide stéarique (1-3 p. cent) ainsi que des traces d'acide gras à chaîne courte (C_{16}). En comparant ces résultats avec ceux obtenus pour le parenchyme de pomme de terre (BEN ABDELKADER, 1969) et les inflorescences de chou-fleur (MAZLIAK, 1969), on peut conclure que les principaux types de phospholipides se retrouvent à peu près identiques et dans les mêmes proportions dans les microsomes des différents tissus. En revanche, la partie hydrocarbonée des molécules varie d'un tissu à un autre ; la nature, la proportion des différents acides gras y sont différents.

MARQUAGE DES ACIDES GRAS MICROSOMAU X

Pour réaliser ce marquage, on a fourni à des fragments de tissu non désorganisé ou à des microsomes isolés de l' $1-^{14}C$ -acétate, précurseur usuel des acides gras. Cet isotope radioactif était en solution dans du tampon phosphate 0,2 M à pH = 7,2. Les acides gras et les lipides totaux ont ensuite été préparés, analysés, et la radioactivité incorporée appréciée au moyen d'un spectromètre tri-carb ; on peut ainsi suivre l'évolution au cours de la maturation des fruits, des biosynthèses et du renouvellement des lipides dans les microsomes en place au sein des cellules ou isolés du contexte cellulaire. Les résultats d'expérience d'incubations "in vitro" ont été assez fluctuants. En règle générale, le marquage des acides gras saturés et surtout monoinsaturés est préférentiel ; cependant, dans certaines conditions, en présence d'oxygène pur notamment, on peut observer une incorporation correcte du précurseur dans les acides gras polyinsaturés.

L'incorporation de l' $1-^{14}C$ -acétate "in vivo" se présente différemment. Après 3 h d'incubation, toutes les catégories d'acides gras sont intensément marquées ; les biosynthèses sont donc très actives mais il est impossible de savoir, d'après ces expériences, si les enzymes nécessaires (synthétases, désaturases, etc.) sont présentes dans la fraction microsomale.

MARQUAGE DES PHOSPHOLIPIDES MICROSOMAU X

Le renouvellement des phospholipides constitutifs des membranes microsomales a également été suivi grâce à l' $1-^{14}C$ -acétate. Lors d'incubations "in vivo", la phosphatidylcholine incorpore 60 à 75 p. cent de la radio-activité des lipides totaux, le marquage étant toujours très faible dans les autres phospholipides. Pour de faibles temps d'incubation de microsomes isolés (1-4 h), l'acide phosphatidique présente un marquage préférentiel ; ce phospholipide pourrait être transformé, par adjonction de têtes phosphorylées, en d'autres phospholipides, puisque des temps d'expérience plus longs voient la formation de la phosphatidyléthanolamine (50 à 60 p. cent) après 7 h d'incubation et de la phosphatidylcholine (10-40 p. cent).

De façon générale, on situe dans les microsomes, les enzymes de la synthèse des lipides neutres permettant le passage du L- α glycérophosphate aux mono, di et triglycérides par la voie de l'acide phosphatidique (TZUR et SHAPIRO, 1964 ; BRINDLEY et HUBSCHER, 1965 ; CHENIAE, 1965). De l'étude présente, il ressort que les triglycérides se marquent lentement dans les microsomes et incorporent toujours moins de radioactivité que les phospholipides.

- Evolution au cours de la maturation

L'état physiologique des fruits influence-t-il l'incorporation du précurseur dans les lipides des microsomes ? Pour répondre à cette question, des pommes ont été mises à mûrir à deux températures différentes, +6°C et +18°C. Leur évolution a été suivie au moyen de tests physiologiques ; la crise climactérique et la période de sénescence des fruits ont pu ainsi être situées. Les résultats d'incubations menées "in vivo" permettent de constater une chute assez nette de l'intensité des synthèses après la crise climactérique, en particulier pour les fruits placés en survie à 18°C. Par contre, la répartition de la radio-activité entre les différents acides gras et les lipides constitutifs des microsomes varie très peu au cours de l'évolution des fruits. Pour des fruits maintenus à basse température (6°C) on a pu constater que le marquage des acides diinsaturés est important mais cela est également vrai pour les mitochondries et sans doute pour tous les compartiments cellulaires. Pour les incubations menées avec des microsomes isolés, l'incorporation est toujours très faible et ne varie guère pendant l'évolution des fruits.

CONCLUSIONS

Le métabolisme lipidique est important dans le "compartiment cellulaire" des microsomes ; ces membranes paraissent être capables de former des phospholipides, des acides gras saturés, monoinsaturés et diinsaturés. De manière générale, les activités de synthèse observées avec les membranes isolées se sont révélées très faibles ; les microsomes semblent participer bien plus activement au métabolisme lipidique lorsqu'ils sont plongés dans leur contexte cellulaire normal. Si les conditions expérimentales ne sont pas en cause, une explication possible résiderait dans la nécessité d'une coopération nécessaire entre les microsomes et le reste de la cellule pour permettre un renouvellement total des lipides des membranes microsomales.

BIBLIOGRAPHIE

- CLAUDE (A.) - Fractionisation of mammalian liver cells by differential centrifugation.
J. exp. med., 84, p. 51-59 (1946).
- MOULE (Y.), ROUILLER (Ch.), CHAUVEAU (M.D.) et CHAUVEAU (J.) - A biochemical and morphological study of rat liver microsomes.
J. Biophys. Biochem. cytol., 7, p. 547-558 (1960).
- GETZ (G.S.), BARTLEY (W.), STIRPE (F.), NOTTON (B.M.) et RENSHAW (A.) - The lipid composition of Rat liver mitochondria, fluffy layer and microsomes.
Biochem. J., 83, p. 181-191 (1962).
- SPIRO (M.J.) et Mc KIBBIN (J.M.) - The lipids of Rat liver cell fractions.
J. Biol. chem., 219, p. 643-651 (1956).
- PASCAUD (M.) - Métabolisme du cholestérol et de ses esters dans la cellule hépatique et le plasma du Rat. Thèse, Sc. Paris (1962).
- KLENK (E.) - Über die biogenese der C20- und C22 - polyenfettsäuren in der Säugetierleber.
Z. Physiol. Chem., 302, p. 268 (1955).
- MARGOLIS (S.A.) et BAUM (H.) - The association of acetyl - coenzyme A carboxylase with the microsomal fraction of Pigeon liver.
Arch. biochem. Biophys., 114, p. 445-451 (1966).
- NUGTEREN (D.H.) - The enzymic chain elongation of fatty acids by Rat liver microsomes.
Biochim. Biophys. Acta, 106, p. 280-290 (1965).
- BLOCH (K.) - The biological synthesis of unsaturated fatty acids in GRANT (J.K.) : *The control of lipid metabolism*, (1963), Academic Press, Londres, p. 1-16.
- MARTIN (E.M.) et MORTON (P.K.) - Enzymic properties of microsomes and mitochondria from silver beet.
Biochem. J., 62, p. 696-704 (1956).
- DALLNER (G.), SIEKEVITZ (P.) et PALADE (G.) - Synthesis of microsomal membranes and their enzymic constituents in developing Rat liver.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 20, p. 135-142 (1965).
- Mac LENNAN (D.H.M.), TZAGOLOFF (H.) et Mc CONNELL (D.G.) - The preparation of microsomal electron transfert complexes.
Biochim. Biophys. Acta, 131, p. 59-80 (1967).

- BEN ABDELKADER (A.) - Influence de la "survie" (ageing) sur la biosynthèse des phospholipides dans les microsomes de tubercule de pomme de terre (*Solenum tuberosum*).
C.R. Acad. Sc. Paris, 268, p. 2406-2409 (1969).
- BEN ABDELKADER (A.) - Communication personnelle (1969).
- MAZLIAK (P.) - Communication personnelle (1969).
- TZUR (R.) et SHAPIRO (B.) - Dependence of microsomal lipid synthesis on added protein.
J. Lipid. Res., 5, p. 542-547.
- BRINDLEY (D.N.) et HUBSCHER (G.) - The intracellular distribution of the enzymes catalysing the biosynthesis of glycerides in the intestinal mucosa.
Biochim. Biophys. Acta, 206, p. 495-509 (1965).
- CHENIAE (G.M.) - Phosphatidic acid and glyceride synthesis by particles from spinach leaves.
Plant. Physiol., 40, p. 235-243 (1965).



ÉTABLISSEMENTS
E. AZOULAY et C^{ie}

Siège social :
2, rue des Tropiques
M.I.N. de PARIS-RUNGIS (94)
Tél. : 726-96-10 - Téléx : 27.079
Télégr. : COLPRODUI-RUNGIS

Magasins à Rungis :
Pavillon A 3
103, Av. de Bourgogne
Tél. : 677-37-06

MURISSERIE INDUSTRIELLE
DE BANANES

Importation de fruits tropicaux
toutes origines