

Comparaison de l'incorporation de la méthionine-³⁵S et de la méthionine-méthyle-¹⁴C au cours de la formation du phragmoplaste

M. J. OLSZEWSKA *

INTRODUCTION

Des recherches autoradiographiques précédentes nous ont montré que la méthionine-³⁵S s'incorpore intensément dans le cytoplasme des cellules en télophase, particulièrement dans le phragmoplaste (Olszewska 1960 b, c). L'action du β -mercaptoéthanol nous a permis de conclure que les protéines qui constituent les fibrilles du phragmoplaste sont liées par des ponts S-S (Olszewska 1960 d). Il serait donc possible que la méthionine s'incorpore dans le phragmoplaste après déméthylation, c'est-à-dire après avoir été transformée en homocystéine.

On sait que la plaque cellulaire se forme à partir de lipides neutres (Olszewska 1960 a); comme les groupements CH_3 de la méthionine participent à la synthèse des acides gras (Wang et coll. 1951; O. Leary 1959), il nous a paru intéressant de comparer l'incorporation de la méthionine-méthyle-¹⁴C à celle de la méthionine marquée au soufre.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont porté sur le méristème radicaire d'*Allium cepa*, incubé, pendant 1 heure, dans une solution aqueuse contenant soit de la dl-méthionine-³⁵S (2,5 μC et 0,02 $\mu\text{M}/\text{ml}$) soit de la l-méthionine-méthyle-¹⁴C (2,5 μC et 0,4 $\mu\text{M}/\text{ml}$).

Une partie du matériel a été fixée de façon à conserver les lipides, notamment dans le liquide de McManus (Pearse 1953), le restant a été fixé dans un mélange d'alcool absolu et d'acide acétique glacial (95:5), à -8°C .

* Boursière de la Fondation Rockefeller; adresse permanente: Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie végétales, Université de Łódź, Łódź, Pologne.

Les coupes (à la paraffine, d'épaisseur de 8μ) après fixation dans la solution de McManus, ont été lavées, pendant plusieurs heures, dans de l'eau courante, en vue d'éliminer le cobalt que cette solution renferme. Les coupes fixées à l'alcool acétique ont été soumises, durant 24 heures, à une extraction dans un mélange alcool absolu-éther (1 : 1).

La technique autoradiographique décrite par Ficq (1955) a été employée (émulsion Ilford G5 "in gel form"). Pour le matériel traité à la méthionine- ^{35}S , les lames ont été développées après 1,5 jours d'exposition; le temps d'exposition pour le matériel incubé avec de la méthionine-méthyle- ^{14}C était de 4 jours.

Nous avons également fait des essais autoradiographiques avec des racines fixées par la méthode de Baker (Pearse, 1953), ainsi qu'avec des racines dont les lipides avaient été extraits par la pyridine (matériel traité au Bouin). Dans les deux cas, bien que le lavage dans l'eau courante ait été prolongé, l'émulsion a, malheureusement, été fortement désensibilisée.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

L'examen des autoradiogrammes montre que, à la télophase, un grand nombre des traces dues aux électrons du ^{14}C dans les groupements méthyles de la méthionine se retrouvent aux environs de la plaque cellulaire

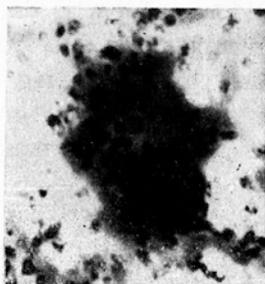


Fig. 1

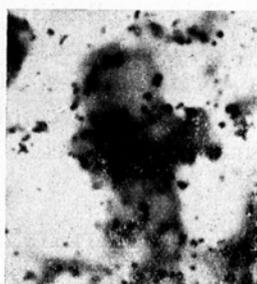


Fig. 2

Fig. 1. Télophase dans le méristème racinaire d'*Allium cepa*, fixé dans le mélange de McManus; incorporation de la l-méthionine méthyle- ^{14}C : la plupart des traces sont rassemblées aux environs de la plaque cellulaire

Fig. 2. Télophase dans le méristème racinaire d'*Allium cepa*, fixé dans le mélange de McManus; incorporation de la dl-méthionine- ^{35}S : les traces sont dispersées dans le phragmoplaste

(fig. 1) si le matériel a été fixé de manière à conserver les lipides. Dans le même matériel, traité à la méthionine- ^{35}S et fixé par la même méthode, les traces sont dispersées dans le phragmoplaste (fig. 2).

Nous avons effectué, dans les cellules en télophase, un comptage des traces émises par le ^{14}C et le ^{35}S , en envisageant séparément les traces localisées dans le phragmoplaste, dans la plaque cellulaire et dans le cytoplasme. Dans les coupes colorées par la méthode d'Unna, la plaque, qui ne contient pas d'ARN, est parfaitement reconnaissable du phragmoplaste riche en ARN.

Tableau 1

Incorporation de la 1-méthionine-méthyle- ^{14}C et de la dl-méthionine- ^{35}S dans les cellules en télophase

Précurseur	Fixateur	Nombre de cellules étudiées	Nombre de traces/cellule		
			plaque	phragmoplaste	cytoplasme
Méthionine méthyle- ^{14}C	McManus	115	1,56	1,58	1,90
	alc. acét. extr. alc. éther	115	0,78	1,54	2,11
Méthionine- ^{35}S	Mc. Manus	110	0,38	3,05	2,67
	alc. acét. extr. alc. éther	105	0,40	2,87	2,41

Les résultats du comptage des traces sont présentés dans le tableau 1.

Dans le matériel incubé avec de la méthionine-méthyle- ^{14}C et où les lipides sont conservés, on note le même nombre de traces dans la plaque cellulaire que dans le phragmoplaste. L'extraction des lipides enlève la moitié des traces localisées aux environs de la plaque, sans modifier la radioactivité du phragmoplaste et celle du cytoplasme environnant.

Dans le cas de la méthionine- ^{35}S , la plupart des traces se trouvent dans le phragmoplaste; mais, dans la plaque cellulaire, on ne retrouve que 15% des traces présentes dans le phragmoplaste. Le traitement par les solvants des lipides n'a pas d'influence sur la répartition de la radioactivité due à la présence du ^{35}S de la méthionine.

DISCUSSION

La limite de résolution, dans la technique autoradiographique employée, est de $1\ \mu$. La largeur de la plaque atteint, dans sa partie lipidique, env. $1,5\ \mu$. Bien qu'on se trouve à la limite des possibilités d'application

de la technique autoradiographique, il semble que nos résultats soient significatifs.

La présence du ^{35}S dans la plaque cellulaire pourrait être due soit aux erreurs inévitables de comptage, soit à une incorporation dans des protéines contenant des groupements-SH: la présence de telles protéines a été démontrée, dans la plaque cellulaire, par des réactions cytochimiques (Idelman 1958; Olszewska 1960a).

Les résultats obtenus à propos de l'incorporation de la méthionine-méthyle- ^{14}C semblent confirmer notre hypothèse de départ: la méthionine incorporée au cours de la formation du phragmoplaste subirait une déméthylation; le groupement-SH de l'homocystéine ainsi formée, après oxydation (ce processus étant empêché par l'action du β -mercaptoéthanol), formerait les ponts S-S des protéines fibrillaires du phragmoplaste; au contraire, le groupement CH_3 s'incorporerait dans les lipides de la plaque cellulaire.

Dans cette plaque, la moitié des substances contenant du ^{14}C n'est pas extraite par l'alcool et l'éther. Il est donc possible, conformément à une hypothèse que nous avons émise précédemment (Olszewska 1960a) que, à la suite de transformations chimiques au niveau de la plaque, le ^{14}C soit incorporé dans les polysaccharides.

RÉSUMÉ

Nous avons comparé, par autoradiographie, l'incorporation de la l-méthionine-méthyle- ^{14}C et de la dl-méthionine- ^{35}S au cours de la formation du phragmoplaste et de la plaque cellulaire dans le méristème radicaire d'*Allium cepa*.

Nous avons constaté que les traces des électrons du ^{14}C du groupe méthyle de la méthionine s'accumulent au niveau de la plaque cellulaire, tandis que celles dues au ^{35}S semblent être beaucoup plus dispersées. Le ^{14}C est vraisemblablement incorporé dans les lipides de la plaque cellulaire.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à M. le Professeur J. Brachet qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous aider de ses conseils. Nous adressons à Mme. Dr. A. Ficq nos vifs remerciements pour le temps qu'elle a consacré à discuter nos résultats.

Laboratoire de Morphologie animale
Université libre de Bruxelles

BIBLIOGRAPHIE

- Ficq A., 1955, Arch. Biol. 66: 509.
Idelman S., 1958 C. R. Ac. Sci. 246: 3499.
O'Leary W. M., 1959, J. Bacteriol. 78: 709.
Olszewska M. J., 1960a, Acta Soc. Bot. Pol. 29: 249.
Olszewska J. M., 1960b, Arch. intern. bioch. 68: 412.
Olszewska J. M., 1960c, Protoplasma, sous presse.
Olszewska J. M., 1960d, Protoplasma, sous presse.
Pearse A. G. E., 1953, Histochemistry, London, J. N. Churchill Ltd.
Wang C. H., Cheldelin V. R., King T. E., 1951, J. Biol. Chem. 188: 759.