

Recherches cytophysiologiques sur la vitamine de croissance B2 (lactoflavine), et ses dérivés, lumiflavine et lumichrome

Autor(en): **Schopfer, William-H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences physiques et naturelles**

Band (Jahr): **23 (1941)**

PDF erstellt am: **10.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-741181>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

William-H. Schopfer. — *Recherches cytophysiologiques sur la vitamine de croissance B₂ (lactoflavine), et ses dérivés, lumiflavine et lumichrome.*

La lactoflavine, vitamine de croissance B₂ (6, 7-diméthyl-9-(*d*-1'-ribityl)-iso-alloxazine) présente en lumière UV une belle fluorescence jaune-vert. Il en est de même pour la lumiflavine (6, 7, 9-triméthyl-iso-alloxazine), obtenue par photolyse de la lactoflavine en milieu alcalin. Le lumichrome (6, 7-diméthyl-alloxazine), produit par la photolyse en milieu acide, présente une fluorescence bleu ciel en solution alcoolique, bleu-vert en solution aqueuse. La cytophysiologie de ces substances peut donc être étudiée à l'aide du microscope à fluorescence, au même titre que celle du thiochrome¹.

Nous avons utilisé les épidermes supérieurs des écailles du bulbe d'*Allium*. La solution de lactoflavine utilisée est à 20 mg%. Les solutions de lumiflavine et de lumichrome, obtenues par irradiation de la solution de lactoflavine sont beaucoup plus diluées.

Lactoflavine (expérience faite à l'obscurité). Après un contact de quelques minutes avec la solution vitaminique, nous observons une forte fluorescence de la membrane cellulosique (coloration d'imbibition). En prolongeant la durée d'action (2 et 4 jours), nous relevons chez les cellules vivantes une fluorescence jaune-vert très intense du contenu cellulaire. Lorsque la contraction vacuolaire n'a pas eu lieu, il est difficile de localiser exactement la coloration, tant la fluorescence est intense. Lorsque la contraction se produit, on constate que les pôles cytoplasmiques ne sont pas ou que très peu fluorescents, tandis que la vacuole l'est très fortement. Le noyau, adossé à la membrane, n'est pas fluorescent et se détache en noir (avec la masse cytoplasmique qui l'entoure) sur le fond lumineux.

¹ W. H. SCHOPFER, C. R. séances Soc. Phys. et Hist. nat. Genève, 57, 100, 1940.

Une plasmolyse au nitrate de potassium rend la fluorescence plus intense encore. La plasmolyse au KCNS (formation de « cappes » cytoplasmiques) montre nettement que le cytoplasme n'est pour ainsi dire pas fluorescent. Une seule fois, l'épiderme plasmolysé étant resté 1 jour dans la chambre humide et les cellules étant mortes ou en nécrobiose, nous avons constaté une inversion: cytoplasme fortement fluorescent et vacuole beaucoup moins. Il s'agit certainement d'un phénomène *post mortem*.

La photolyse *in vitro* de la lactoflavine, qui conduit à la formation du lumichrome, peut être produite *in vivo*; si les épidermes ayant accumulé la lactoflavine à l'obscurité sont placés dans de l'eau courante et fortement illuminés (lampe électrique ou lumière du jour), on constate dans la vacuole l'apparition d'une fluorescence bleue, qui s'accroît encore par la plasmolyse. Dans le milieu vacuolaire neutre ou faiblement acide, le lumichrome, ou une autre substance à fluorescence bleue, a été produit à partir de la lactoflavine.

Une seule fois, nous avons constaté la formation de cristaux jaunes en forme de paillettes à l'intérieur de la cellule, après un contact prolongé de l'épiderme avec la solution de lactoflavine à 20 mg%. Une plasmolyse nous permet de les localiser exactement à l'intérieur de la vacuole. Ces cristaux jaunes représentent très probablement de la lactoflavine, pure ou combinée avec l'un des constituants cellulaires.

Il pourrait s'agir là d'une reproduction expérimentale de l'intéressante observation de Guillermond¹, décelant une cristallisation intravacuolaire naturelle de lactoflavine dans les cellules d'*Eremothecium Ashbyii*.

En prolongeant l'action des rayons UV sur l'épiderme non plasmolysé, la fluorescence s'atténue rapidement, parallèlement aux troubles cytologiques déterminés par l'irradiation prolongée. Si l'on intervient à temps, avant que la cellule soit

¹ A. GUILLERMOND, *Revue de Mycologie*, 1, (N.S.), 115, 1936.

trop fortement lésée, la fluorescence reprend en intensité. Il n'est pas impossible que la disparition de la fluorescence soit déterminée par une réduction de la lactoflavine introduite. Nous ne pouvons l'affirmer.

Lorsque l'irradiation se produit sur les cellules préalablement plasmolysées (KNO_3 ou KCNS), les mêmes cristallisations intravacuolaires apparaissent très rapidement. Si l'irradiation se prolonge pendant 5-10 minutes, la zone centrale, fortement irradiée présente de petites cristallisations dans des cellules fortement nécrosées et désorganisées. La zone voisine, moins fortement irradiée, montre un cytoplasme moins détérioré avec des vacuoles contenant de plus gros cristaux. La zone la plus éloignée du centre indique des plasmolysats normaux. Ce phénomène est complexe quant à son déterminisme. On peut admettre qu'à la suite de la désorganisation produite par l'irradiation, une concentration par perte d'eau se produit qui facilite l'apparition des cristaux.

Les épidermes témoins, non traités par la lactoflavine, mais plasmolysés ne montrent aucune formation cristalline après irradiation par la lumière UV. Fait singulier, ces épidermes supportent l'irradiation beaucoup plus longtemps que ceux traités par la lactoflavine, sans montrer de troubles apparents. Tout se passe comme si la lactoflavine agissait comme sensibilisateur et manifestait des propriétés « photodynamiques ».

On peut donc conclure de ces expériences que la lactoflavine passe au travers de la couche ectoplasmique (perméabilité) du mésoplasme et du tonoplasme (intrabilité) pour s'accumuler dans la vacuole. La possibilité d'une réduction de la lactoflavine dans le cytoplasme en son leucodérivé non fluorescent a été examinée, mais non démontrée.

Les expériences faites avec la leucoflavine en anaérobiose attestent que sous sa forme réduite, la lactoflavine pénètre également, quoique plus lentement. A l'air, une réoxydation rapide se produit.

Lumiflavine. Les mêmes phénomènes qu'avec la lactoflavine se manifestent, mais moins marqués. Un dérivé possédant une

chaîne latérale intermédiaire entre celles de la lactoflavine et de la lumiflavine, la 9-(2', 3'-dioxy-1'-propyl)-iso-alloxazine, pénètre également dans la vacuole.

Lumichrome. Ici les phénomènes sont différents. Avec une solution de lumichrome préparée par nous-même (irradiation de la lactoflavine), nous constatons à plusieurs reprises, mais pas constamment, une forte fluorescence bleue des pôles cytoplasmiques des cellules vivantes. Elle est rendue plus intense par la plasmolyse au KNO_3 . Cette observation n'a pas pu être répétée régulièrement. Avec d'autres épidermes, nous observons tout d'abord une fluorescence des membranes, puis celle de la vacuole; elle est cependant faible. Les mêmes expériences répétées avec du lumichrome synthétique conduisent à des résultats identiques, mais avec une fluorescence beaucoup plus faible du cytoplasme. Nous ne sommes pas certain qu'au cours de l'irradiation de la lactoflavine, seul le lumichrome se soit formé. Nous connaissons d'autres dérivés de l'alloxazine présentant en lumière UV une fluorescence bleue¹. Nos conclusions sont donc exprimées ici avec quelques réserves.

De toute façon, le comportement du lumichrome se révèle différent de celui de la lactoflavine. Dans des circonstances déterminées le lumichrome présente pour le cytoplasme une affinité que ne possède pas la lactoflavine: l'intrabilité n'est pas toujours suivie d'une perméabilité.

La perméation de nos substances est étudiée à l'aide des modèles habituels. Lactoflavine, lumiflavine, lumichrome ne sont pas solubles dans les lipoides (extrait benzolé de graines de lupin), ni dans l'huile d'olive pure ou additionnée d'acide oléique. Ce n'est donc pas la théorie lipoidique de la perméation qui explique l'intrabilité et la perméabilité de ces substances.

La diffusion dans la gélatine à 10% est assez forte pour la lactoflavine, se rapprochant de celle de l'acide picrique déterminée par Ruge.

Ces expériences permettent de tirer quelques conclusions en ce qui concerne le métabolisme de la lactoflavine. Il est

¹ P. KARRER, E. SCHLITTLER, K. PFAEHLER und E. BENZ, Helv. Chem. Acta, 17, 1516, 1934.

hors de doute que la synthèse de cette vitamine, ainsi que la formation du ferment jaune dont elle représente le groupe actif doit se faire dans le cytoplasme et probablement dans le chondriome. Cependant la forme libre et diffusible du ferment, représentée par la vitamine seule peut s'accumuler dans la vacuole. On peut prévoir l'établissement d'un équilibre entre la forme libre et la forme combinée et une utilisation de la forme libre, vacuolaire, par passage dans le cytoplasme, lorsque le besoin s'en fait sentir. Il faut cependant relever que la lactoflavine, constituant répandu de la matière vivante, ne doit se trouver naturellement dans le cytoplasme et la vacuole qu'à des doses infiniment plus faibles que celles utilisées dans nos expériences; seuls des cas exceptionnels comme celui d'*Eremothecium* permettent de localiser la vitamine sans traitement préalable.

Nous pouvons considérer la lactoflavine comme un colorant vital fluorescent. Cependant, nos expériences ne présentent qu'une valeur d'orientation en ce qui concerne le rôle éventuel de pigment de ces substances dans la nature. On ne sait pour ainsi dire rien sur la cytologie de la lactoflavine. Le rôle du lumichrome, comme pigment éventuel, est inconnu. Nous avons fréquemment observé que les cellules des épidermes foliaires manifestent une forte fluorescence bleu ciel, disparaissant par un traitement à l'hydrosulfite de sodium (caractère du lumichrome). Cependant, la présence de ce dernier pigment dans la nature sous forme libre reste encore à établir. Le rôle éventuel du lumichrome comme précurseur biologique de la lactoflavine peut être envisagé, mais demeure pour l'instant problématique.

Ces recherches ont été effectuées avec l'aide de la Fondation pour l'avancement des sciences de l'Université de Berne que nous remercions. Nous exprimons notre reconnaissance au Professeur Karrer, qui nous a fourni le lumichrome synthétique ainsi que la 9-(dioxo-propyl)-iso-alloxazine, et aux Etablissements Hoffmann-La Roche qui ont mis la lactoflavine à notre disposition.

*Institut et Jardin botaniques
de l'Université, Berne.*