

**Zeitschrift:** Archives des sciences [1948-1980]  
**Band:** 13 (1960)  
**Heft:** 4

**Artikel:** Recherches sur les fonctions et le métabolisme du méso-inositol. I.  
L'effet morphogénétique de ce facteur sur une levure,  
Schizosaccharomyces pombe

**Autor:** Schopfer, W.H. / Posternak, Th. / Wüstenfeld, D.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-738520>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 19.11.2024

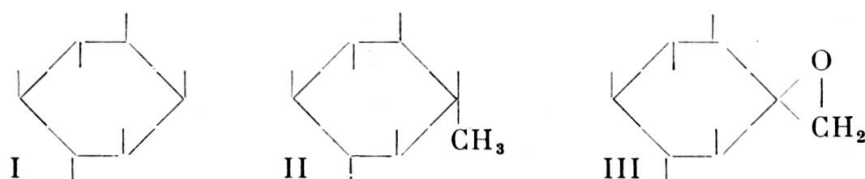
**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

6. TEREININ, A. N., V. N. FILIMONOV et D. S. BISTROV, *Izvestia Acad. Nauk. S.S.S.R.*, Ser. phys., 22, 1100 (1958).  
 7. SUSZ, B. P. et A. LACHAVANNE, *Helvetica Chimica Acta*, 41, 634 (1958).  
 8. BISTROV, D. S. et W. FILIMONOV, *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 131, 338 (1960).

*Université de Genève.  
 Laboratoire de Chimie physique.*

**W. H. Schopfer, Th. Posternak et Mlle D. Wüstenfeld. —**  
*Recherches sur les fonctions et le métabolisme du méso-inositol. I. L'effet morphogénétique de ce facteur sur une Levure, Schizosaccharomyces pombe.*

Nous savons que le ms-inositol (I) est facteur de croissance pour la Levure *Schizosaccharomyces pombe*. A la dose de 10  $\gamma$  pour 10 cc de milieu de Pennington il détermine le développement optimal de la culture.



Deux dérivés de cyclitols, l'isomytilitol (IM) (II) et l'oxyde de méthylène-pentahydroxycyclohexane-1, 3, 5/4, 6 (OM) (III) [1], agissent comme antagonistes particulièrement efficaces du ms-inositol et inhibent le développement de la culture. Avec notre milieu, 700  $\gamma$  d'OM déterminent une inhibition de  $\pm 50\%$ , à 29°. Jusqu'à l'inhibition maximum, le ralentissement de la multiplication cellulaire est fonction de la dose d'OM ou d'IM [2].

L'examen microscopique des cultures aux différents stades d'inhibition par OM atteste que la forme des cellules est profondément modifiée. Au lieu d'être courtes, cylindriques à bouts arrondis, elles sont fortement allongées, quelquefois fusiformes et présentent parfois des ramifications. Les caractères classiques de *S. pombe* ne sont plus reconnaissables. En présence de l'anti-inositol un début de forme mycélienne prend naissance. On sait d'ailleurs que cette espèce manifeste, selon les conditions de culture, une tendance naturelle à former un mycélium ou un pseudo-mycélium [3].

Après 48 h une culture de 10 cc + 700  $\gamma$  OM atteste les caractéristiques suivantes:

	Contrôle	Inhibée
Poids sec d'une culture . . . . .	31,89 mg	19,80 mg
Nombre de cellules . . . . .	$365 \cdot 10^6$	$29,7 \cdot 10^6$
Poids sec moyen d'une cellule .	0,087369 m $\gamma$	0,66667 m $\gamma$

Il est clair que sous l'influence de OM le nombre de cellules diminue fortement et qu'elles deviennent plus grosses et plus pesantes. Relativement au poids sec de la culture, nous relevons que l'augmentation de volume et de poids des cellules compense partiellement la diminution de leur nombre.

Ce phénomène a été l'objet d'une étude approfondie.

#### *Technique.*

*Milieu.* — Le milieu utilisé est celui de Pennington qui, à part les constituants de base et l'hydrolysate de caséine sans vitamines contient les facteurs de croissance suivants: ms-inositol, thiamine, biotine, acide pantothenique, pyridoxine, acide nicotinique. Son pH est de 5 [4].

Les expériences se font dans des Erlenmeyers en verre d'Jena, de 50 cc contenant 10 cc de milieu. La souche de *S. pombe* Lindner utilisée est fournie par le Centralbureau voor Schimmelcultures (Baarn). Indiquons en passant que toutes les souches de cette espèce ne réagissent pas de la même manière.

*Mesure du développement.* — Le développement déterminé par la multiplication cellulaire est mesuré par turbidimétrie. Dans une série d'inhibition les divers degrés de développement sont exprimés en pour cent par rapport au contrôle avec ms-inositol et sans antagoniste, comptant pour cent. L'inhibition est exprimée par le taux d'inhibition, soit la dose d'OM qui, dans des conditions données, diminue le développement de 50% par rapport au contrôle. L'indice d'inhibition est le rapport antivitamine: vitamine lorsque la culture est inhibée de 50%. Dans nos conditions de culture, le taux d'inhibition est de 600 à 700  $\gamma$ .

*Mesure des cellules.* — Un champ microscopique est photographié. Le film est projeté et les mesures exactes se font sur l'agrandissement qui est généralement de 2000 fois.

*Inhibition.*

	OM en $\gamma$								
	0	100	200	300	400	500	600	700	800
Développement .	100	93,5	87,5	81,75	75,1	66,4	50,4	40,9	29,2
Nombre de cellules (en millions) . . . .	356,2	288,8	189,6	165,8	97,6	60,6	43,2	33,6	20
Longueur des cellules, en $\mu$ . .	8,25	10,0	12,135	14,4	20,34	25,98	—	—	28,30
Largeur des cellules, en $\mu$ . .	5,25	5,26	5,215	5,22	5,28	5,43	—	—	5,57

Le taux d'inhibition est de 602,5, l'indice de 60,25.

En présence d'une dose constante et optimale de ms-inositol, le nombre de cellules diminue et leur longueur augmente en fonction du taux en OM. Fait singulier, la largeur des cellules reste constante. Les mesures sont effectuées après 48 h, sur des cellules très allongées, mais avant que des ramifications apparaissent.

*Désinhibition.*

Les cultures contiennent 2 mg d'OM, soit une dose fortement supraoptimale. Le ms-inositol est ajouté en doses croissantes.

	ms-inositol en $\gamma$							
	Contr.	0	10	20	50	100	200	500
Développement	100	3,57	7,85	17,1	81,5	92,9	97,1	100
Nombre de cellules en millions) . . . .	357,8	1,0	15,6	19,2	201,6	341,8	364,4	365
Longueur des cellules, en $\mu$	8,85	—	32,71	28,8	15,4	11,73	—	9,115
Largeur des cellules, en $\mu$ . .	5,23	—	5,54	5,46	5,46	5,165	—	5,01

Le contrôle contient uniquement 10  $\gamma$  de ms-inositol.

Le taux de désinhibition est de 35,25  $\gamma$  de ms-inositol, l'indice de 56,74.

En présence d'une dose supraoptimale d'OM, correspondant au triple du taux d'inhibition, l'adjonction de ms-inositol en doses croissantes empêche l'allongement des cellules.

Avec 200  $\gamma$  de ms-inositol et 2 mg d'OM, les cultures sont comparables aux contrôles.

Les résultats de l'expérience de désinhibition confirment ceux de l'expérience d'inhibition.

*Action d'OM fonction de l'âge de la culture.*

Le ms-inositol et l'OM sont ajoutés au milieu à l'inoculation. Nous recherchons si l'OM ajouté tardivement à une culture en voie de développement exerce encore une action. Les expériences se font au biophotomètre de Bonet-Maury-Jouan. Les cultures inoculées subissent un temps de latence, au repos, durant 14 h 30. La croissance amorcée, elles sont ensuite transportées dans l'appareil enregistreur et soumises à une agitation pendant 5 h 30. La durée totale de l'expérience est de 20 h. L'OM au taux de 700  $\gamma$  par culture est ajouté à l'inoculation, à la fin du temps de latence (14 h 30) et plus tard encore, à deux reprises au cours de la période d'enregistrement. Les longueurs des cellules sont les suivantes :

OM à l'inoculation	30,50 $\mu$
OM ajouté après 14 h 30	25,24 $\mu$
OM ajouté après 16 h	22,04 $\mu$
OM ajouté après 18 h	16,38 $\mu$
Contrôle sans OM	13,40 $\mu$

On constate qu'ajouté très tardivement, de 4 à 2 h avant la fin de la période de croissance, l'OM agit encore nettement sur la morphologie de la cellule. Plus l'adjonction est tardive, plus l'effet diminue.

*Action de OM sur une seule cellule.*

Des expériences ont été faites en chambre humide stérile et en goutte pendante, celle-ci étant constituée par du milieu de Pennington avec 10  $\gamma$  de ms-inositol et 700  $\gamma$  d'OM pour 10 cc. Une seule cellule

est placée dans le milieu et son comportement suivi au microscopie. Les résultats sont les suivants :

Contrôle sans OM	0 h	7,0 $\mu$	(1 cellule)
Avec OM après	16 h	17,18 $\mu$	(8 cellules)
après	24 h	17,45 $\mu$	(24 cellules)
après	40 h	12,84 $\mu$	(60 cellules)
après	87 h 30	10,31 $\mu$	(90 cellules)

L'interprétation des résultats de cette expérience est la suivante. Au cours des 16 premières heures, la cellule inoculée se divise et les cellules produites subissent l'action d'OM. Dans la suite, le nombre de cellules augmente rapidement. Elles ne peuvent plus être comptées exactement dans la goutte pendante. Les dernières cellules produites — les plus jeunes — ne subissent que plus faiblement l'action de l'inhibiteur. Il ne se produit donc pas de raccourcissement. D'ailleurs les conditions de culture dans une goutte pendante sont bien différentes de celles d'une culture de 10 cc en Erlenmeyer. De toute façon, il est démontré qu'après 16 h (et probablement avant), l'effet de l'OM se produit très nettement.

*Culture en avitaminose et en hypovitaminose.*

Une *antivitaminose* est produite lorsque l'effet d'une vitamine essentielle est annulé par son antagoniste spécifique. En première approximation, le résultat est identique à celui d'une *avitaminose* ou d'une *hypovitaminose*, l'organisme se multipliant en présence d'une dose très faible de vitamine.

Une expérience a été effectuée en hypovitaminose, avec des doses décroissantes de ms-inositol, le taux optimal étant toujours de 10  $\gamma$  pour 10 cc de milieu. Durée 48 h.

	ms-inositol en $\gamma$								
	10	5	4	2	1	0,5	0,1	0,001	0
Développement . .	100	79,3	65,5	32,4	12,72	5,92	2,83	1,65	1,58
Nombre des cellules (en millions) . .	365,75	224,5	112,5	66	16,75	7,25	2,25	1,25	1,25
Longueur des cel- lules, en $\mu$ . . .	8,34	—	10,115	—	14,19	—	—	12,675	—

Les résultats sont moins spectaculaires qu'en antivitaminose. Cependant, il est visible qu'une dose insuffisante de vitamine détermine un allongement des cellules.

Nous savons d'ailleurs qu'antivitaminose et hypovitaminose, malgré leurs apparentes similitudes, ne sont pas identiques quant à leurs répercussions sur le métabolisme [5].

On peut se demander si le phénomène cytologique observé est réellement dû à une antivitaminose inositique seule. Nous avons supprimé du milieu de Pennington l'une ou l'autre des vitamines qu'il contient, mais en laissant le ms-inositol. Il s'agit de la biotine, de l'acide pantothénique, de la pyridoxine, de la thiamine et de l'acide nicotinique. D'autre part, nous avons créé de fortes hypovitaminoses à l'égard de ces diverses vitamines. En l'absence d'acide pantothénique les cellules sont déformées, un peu allongées. En l'absence d'acide nicotinique, les cellules sont moins déformées, mais un peu plus allongées que les normales. En l'absence de thiamine, de biotine ou de pyridoxine, les cellules sont normales. Ni les avitaminoses, ni des hypovitaminoses à l'endroit de ces vitamines ne déterminent des résultats se rapprochant de ceux livrés par l'anti-inositol.

Nous avons cherché à modifier l'effet de l'OM par des adjonctions de très fortes doses des autres vitamines du milieu en allant jusqu'à 200  $\gamma$  pour la biotine et 100 mg pour les autres vitamines, soit 1000 fois les doses normales. Ces hypervitaminoses de compensation n'ont pas donné lieu à des phénomènes remarquables. La thiamine et l'acide nicotinique en très hautes doses, non physiologiques, semblent atténuer quelque peu l'inhibition de croissance due à OM.

Les hypervitaminoses seules, en l'absence d'OM, ne déterminent que peu de modifications visibles de la forme des cellules.

*Action d'antivitamines diverses.* — Nous avons fait agir sur la Levure un certain nombre d'antivitamines dans l'espoir de perturber le développement de la cellule.

Sulfamidés. Diméthyl-acroyl-sulfanilamide (Irgamide),

N<sup>1</sup>-3, 4- diméthylbenzol-sulfanilamide,

Antithiamine. Pyrithiamine,

Antifolique. Acide diamino-2,6-diméthyl-11,12-ptéroylglutamique.

A la dose de 1 mg pour 10 cc, ces substances n'exercent aucun effet.

*Action d'hormones de croissance végétales.* — Partant de l'hypothèse que la cytogenèse est perturbée, nous avons tenté d'annuler l'effet de l'OM par diverses hormones: acide indolacétique, furfuryl-6-aminopurine (kinétine), sel de K de l'acide cis-traumatique (traumatine), préparation de gibérelline. Jusqu'à 100  $\gamma$  d'hormone pour 10 cc, aucune désinhibition ne se produit.

*Stabilité des modifications cytologiques.* — L'effet d'OM a été répété de très nombreuses fois. Avec des conditions de culture toujours semblables, la transformation des cellules normales en cellules géantes se produit régulièrement. En contact continu avec le milieu contenant OM, les cellules géantes le restent et évoluent en présentant diverses manifestations cytopathologiques.

Les nombreuses expériences effectuées à l'aide du milieu de Pennington (P) et du milieu naturel (moût de bière), les deux gélosés, peuvent être résumées de la manière suivante:

- 1) des cellules inhibées par OM transportées sur milieu P sans ms-inositol ne fournissent que des formes anormales, des pseudomycéliums,
- 2) des cellules normales transportées sur milieu P sans ms-inositol fournissent également les mêmes cellules anormales, identiques à celles de l'expérience précédente (avitaminose),
- 3) des cellules inhibées et géantes transportées sur milieu P avec ms-inositol livrent des cellules normales,
- 4) il en est de même si nous utilisons un milieu naturel.

Il ne s'agit donc pas d'une modification de nature génétique.

*Evolution nucléaire.* — L'étude des noyaux est indispensable si l'on veut se rendre compte du mécanisme des phénomènes. Les colorations, effectuées sur frottis ou sur coupe sont faites à l'hématoxyline, au Giemsa, à l'Azur I ou au Feulgen.

Les résultats observés sont les suivants. La cellule normale est uninucléée. Les divisions nucléaires peuvent être observées. La cellule géante est également uninucléée. L'évolution de cette dernière se produit de diverses manières. La cellule géante en contact durable avec OM reste anormale, puis finit par dégénérer (cytolyse). Parfois, elle subit encore une division et l'on a une cellule fortement allongée composée de deux articles, chacun beaucoup plus long qu'une cellule



normale. Les deux cellules formées peuvent, mais pas toujours, se séparer. Enfin, une cellule géante peut former par une suite d'étranglements, une chaînette d'oïdies également uninucléées. Ce sont probablement ces oïdies qui permettent à la culture, transportée sur un milieu frais avec ms-inositol, de se multiplier normalement.

Jusqu'au stade où nous avons suivi l'évolution de ces cellules géantes, on ne peut constater l'apparition d'un apocytium ou d'un syncytium.

Tous les documents cytologiques seront publiés en détail ailleurs.

*Schizosaccharomyces* est une Levure qui se divise transversalement, à la manière des Bactéries. Elle se prête donc bien à une étude du genre de celle dont nous exposons les résultats. *Saccharomyces* est au contraire une Levure classique, bourgeonnante. Les cellules nouvellement produites se séparent ensuite. Smith [6] fait une brève remarque relative à l'action du ms-inositol sur *S. carlsbergensis*: en l'absence de ce facteur il se forme un amas cohérent de 50 cellules, ne se séparant pas. Le fait vient d'être confirmé par Gosh et coll. avec la même Levure [7].

Dans le même ordre d'idées, Eagle [8] montre que le ms-inositol à la concentration  $10^{-6}$  à  $10^{-7}$  est indispensable au développement de culture de tissus humains, normaux et malins. En l'absence de ms-inositol diverses manifestations cytopathologiques sont observées.

Il ressort de nos expériences qu'en l'absence de ms-inositol dans le milieu, une perturbation des divisions cellulaires se produit. En mettant ce facteur hors d'état d'agir à l'aide d'un anti-inositol, les phénomènes sont particulièrement nets. Le déterminisme de la division cellulaire est extrêmement complexe. Il est pour l'instant impossible de dire d'une manière précise dans quelle étape du métabolisme ce facteur agit. Très certainement un effet primaire est exercé sur le cytoplasme, mais le résultat final visible doit être recherché dans une *perturbation de la formation de la membrane*.

Nos expériences permettent d'attribuer au ms-inositol une fonction dans le métabolisme cellulaire qui n'a pas encore été précisée.

Ces recherches seront développées dans diverses directions, biochimique, cytologique et microbiologique.

Nous sommes reconnaissants au Fonds National suisse pour la Recherche scientifique de son appui.

*Résumé.*

L'oxyde de méthylène-pentahydroxycyclohexane, antagoniste du ms-inositol, agit profondément sur la morphologie cellulaire de *Schizosaccharomyces pombe*. Il provoque la formation de cellules géantes et de formes pseudo-mycéliennes dont l'évolution nucléaire est étudiée. Une hypovitaminose en ms-inositol a un effet semblable mais moins marqué. Ces modifications pathologiques de la cytogenèse sont de nature phénotypique. Elles peuvent être empêchées par un excès de ms-inositol. L'anti-inositol perturbe la division cellulaire en empêchant ou en retardant la formation de la membrane.

*Institut de Botanique de l'Université, Berne.  
Laboratoires de Chimie biologique  
et organique spéciale,  
Université, Genève.*

## BIBLIOGRAPHIE

1. POSTERNAK, Th., *Helv.*, 27, 457 (1944).
2. SCHOPFER, W. H. et Th. POSTERNAK, *Rev. suisse Pathologie et Bactériologie*, 19, 647 (1956); Th. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER et J. DESHUSSES, *Helv.*, 42, 1351 (1959).
3. LEPESCHKIN, W. W., *Centralblatt Bakt.*, II, 10, 145 (1903).
4. PENNINGTON, D., *J. Bact.*, 62, 677 (1951).
5. SCHOPFER, W. H. et Th. POSTERNAK, *Helv. Physiol. Acta*, 12, C 30 (1954).
6. SMITH, R. H., *J. gen. Microbiology*, 5, 772 (1951).
7. GHOSH, A., F. CHARALAMPOUS, Y. SISON and R. BORER, *J. biol. Chem.*, 235, 2522 (1960).
8. EAGLE, H., V. I. OYAMA, M. LEVY and A. E. FREEMAN, *J. biol. Chem.*, 226, 191 (1957).

**Th. Posternak, W. H. Schopfer et J. Deshusses.** — *Recherches sur les fonctions et le métabolisme du méso-inositol. II. Etude comparée de la composition des phospholipides de Schizosaccharomyces pombe, normal et inhibé par des anti-inositols.*

Nous avons montré qu'un anti-inositol très actif, l'oxyde de méthylène-2-pentahydroxy-cyclohexane-1,3,5/4,6 perturbe fortement la cytogenèse de *Schizosaccharomyces pombe*. Dans les cultures à demi inhibées, les cellules ne se divisent pas normalement et s'allongent fortement jusqu'à former un pseudo-mycélium [1]. Nous nous pro-