

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

**Artikel:** Recherches sur les fonctions et le métabolisme du méso-inositol. II. Étude comparée de la composition des phospholipides de Schizosaccharomyces pombe, normal et inhibé par des anti-inositols

**Autor:** Posternak, Th. / Schopfer, W.H. / Deshusses, J.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-738521>

### **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:** 15.10.2024

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

*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).

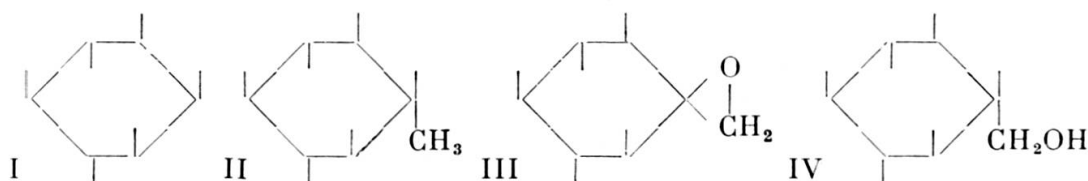
**Th. Posternak, W. H. Schopfer et J. Deshusses.** — *Recherches sur les fonctions et le métabolisme du méso-inositol. II. Etude comparée de la composition des phospholipides de Schizosaccharomyces pombe, normal et inhibé par des anti-inositols.*

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-

posons ici de comparer la composition des phospholipides des cultures normales et inhibées.

On sait que le mélange complexe représenté par les graisses phosphorées naturelles renferme toujours des phospholipides à inositol (phospho-inositides). On peut considérer ces derniers comme la principale forme fonctionnelle connue du méso-inositol, forme dont on ne comprend d'ailleurs pas encore la signification biologique précise. Il nous a paru intéressant d'étudier les variations de composition de phospho-inositides qui se produisent chez des microorganismes sous l'action d'anti-inositols. Les études effectuées à ce sujet ont porté jusqu'à présent sur *Neurospora crassa* inositolless (souche n° 9683, ATCC, Washington) et sur *Schizosaccharomyces pombe* Lindner (souche CBS, Baarn).

Parmi les nombreuses substances que nous avons essayées comme anti-inositols, il en est 17 qui agissent sur *N. crassa* inositolless [2]. Les plus actives représentent des produits de substitution en position 2 du ms-inositol (I) tels que l'isomytilitol (II) et l'oxyde de méthylène-2-pentahydroxy-cyclohexane-1,3,5/4,6 (III). *S. pombe* manifeste une spécificité beaucoup plus étroite et n'est inhibé d'une manière notable que par les substances II et III [3]. Il s'agit dans tout ces cas d'inhibitions très probablement du type compétitif, susceptibles d'être annulées par addition d'inositol au milieu.



Dans ces formules, les traits verticaux représentent les groupes OH; les atomes d'hydrogène fixés aux carbones du noyau cyclohexanique ont été supprimés.

Lors d'une étude antérieure, nous avons montré que, dans des cultures de *N. crassa* inhibées par l'isomytilitol, ce dernier est incorporé, sous forme d'esters phosphoriques, dans les phospholipides du microorganisme [4]. Ces recherches ont été étendues par la suite à *S. pombe* chez lequel on constate également une incorporation de l'isomytilitol dans les phospholipides des cultures effectuées en présence de cet inhibiteur [5]. La composition des phospho-inositides est plus simple chez *S. pombe* que chez *N. crassa* et se prête par conséquent

mieux à une analyse. C'est la raison pour laquelle, dans le présent travail, nous comparons la composition des phospholipides de *S. pombe* inhibé d'une part par l'isomytilitol, d'autre part par l'oxyde de méthylène-pentahydroxy-cyclohexane.

*Méthodes employées :*

Les lipides totaux sont extraits à partir des cellules fraîches au moyen d'un mélange alcool-éther 3:1 en vol. Après broyage en présence d'alumine Alcoa n° 301, on complète l'extraction au moyen du mélange chloroforme-alcool méthylique (1:1 en vol.). Après évaporation dans le vide et reprise par le chloroforme, on obtient par addition de 10 vol. d'acétone un précipité contenant entre autres les phospho-inositides. On le suspend dans HCl 1 n à 4° et soumet à une dialyse de 6-9 jours contre de l'eau bidistillée, en changeant toutes les 24 h le liquide extérieur. Les phospholipides ainsi purifiés sont soumis ensuite à une hydrolyse acide ménagée (20 min. au bain-marie bouillant avec 10 parties de HCl 6 n). Après évaporation à sec dans le vide, les produits phospho-organiques se laissent précipiter presque quantitativement par l'acétate neutre de plomb. On décompose le précipité plombique par H<sub>2</sub>S; les composés phospho-organiques sont séparés par chromatographie dans le système n-propanol-NH<sub>3</sub> conc.-H<sub>2</sub>O (6:3:1 en vol.) sur papier Whatman n° 4 (révélation d'après Hanes et Isherwood [6]). On obtient ainsi trois bandes: A, B et C par ordre de R<sub>f</sub> et aussi d'importance croissante; elles sont extraites à l'eau. La bande C consiste essentiellement en glycérophosphates; la bande A, peu importante, contient un composé qui fournit par hydrolyse, à côté d'acide phosphorique, du glycérol et un peu d'inositol. La bande B est la plus intéressante car ses substances consistent essentiellement en dérivés monophosphorylés de cyclitols (inositol ou cyclitols inhibiteurs); leur composition reflète celle des phospho-inositides primitifs.

Pour la détection des cyclitols, on déphosphoryle les composés phospho-organiques par la phosphatase prostatique à pH 5,5; après déionisation sur Dowex 50 et Dowex 2, on déce les cyclitols libres par chromatographie sur papier (Whatman n° 1); système acétone — H<sub>2</sub>O 78:22 en vol.; révélation au moyen du réactif de Tollens [7]. Lorsqu'il y a eu incorporation de l'époxyde, on déce ainsi sur papier son produit d'hydrolyse, le C-hydroxyméthyl-2-ms-inositol IV, formé à ses dépens au cours des opérations.

Nous reproduisons ci-après les analyses déjà publiées [5] de cultures de *S. pombe* normales (*a* et *b*) et inhibées par l'isomytilitol (*a* inh. et *b* inh.) (tableau I). D'autre part, nous indiquons dans le tableau II les résultats d'analyses de cultures plus récentes, normales (*a* et *b*) et inhibées (*a* inh. et *c* inh.) par l'époxyde III.

Abréviations: MI = ms-inositol; IM = isomytilitol; OM = oxyde de méthylène-pentahydroxy-cyclohexane.

D'autres analyses de cultures normales et inhibées par l'isomytilitol ont été effectuées plus récemment. Les caractères des cultures inhibées

TABLEAU I.

Cultures (48 h à 29°)	a	a inh.	b	b inh.
1. Vol. en l du milieu (Pennington) . . . . .	4	5,89	4	4
2. MI en mg par l . . . . .	1	1	1	1
3. IM en mg par l . . . . .	0	20	0	18
4. Poids sec * en g des cellules par l . . . . .	0,788	0,415	0,740	0,438
5. Inhibition en % . . . . .	0	47,3	0	40,8
Par g de cellules sèches:				
6. P lipidique dialysé en mg . . . . .	1,14	0,86	1,34	0,95
7. MI phospholipidique en mg . . . . .	0,302	—	0,421	0,324
P org. en % du P total récupéré après chromatogr.:				
8. Bande A . . . . .	2,5	3,3	2,4	2,3
9. Bande B . . . . .	3,8	16,2	5,4	16,7
10. Bande C . . . . .	93,7	80,5	92,2	81,0
Rapports mol P org./MI :				
11. Bande A . . . . .	—	—	61,4	9,67
12. Bande B . . . . .	1,07 **	3,62 **	1,11 **	3,24 **
13. Bande C . . . . .	77,3	95,8	60,5	110,1
Répartition du MI (en $\gamma$ ) pour 1 mg P org. total récupéré après chromatogr.:				
14. Bande A . . . . .	—	—	2	14
15. Bande B . . . . .	230	249	279	300
16. Bande C . . . . .	70	48	88	42

\* Poids des cellules traitées par le mélange alcool-éther (3:1).

\*\* Cette fraction avait été soumise à une double chromatographie sur papier.

TABLEAU II.

Cultures (48 h à 29°)	a	a inh.	b *	c inh.
1. Vol. en l du milieu (Pennington) . . . . .	4	4	4	4
2. MI en mg par l . . . . .	1	1	1	1
3. OM en mg par l . . . . .	0	70	0	70
4. Poids sec ** en g des cellules par l . . . . .	0,920	0,416	0,835	0,335
5. Inhibition en % . . . . .	0	54,8	0	55,25
Par g de cellules sèches:				
6. P lipidique dialysé en mg . . . . .	1,235	1,378	1,296	1,284
7. Mi phospholipidique en mg . . . . .	0,509	1,653	0,559	1,171
P org. en % du P total récupéré après chromatogr.:				
8. Bande A . . . . .	2,08	4,88	2,93	1,68
9. Bande B . . . . .	8,13	15,44	8,18	17,06
10. Bande C . . . . .	89,79	79,68	88,89	81,26
Rapports mol. P org./MI:				
11. Bande A . . . . .	9,90	8,93	47,5	6,5
12. Bande B . . . . .	0,84 ***	1,03 ***	1,03 ***	1,23 ***
13. Bande C . . . . .	88,3	35,80	99,7	30,1
Répartition du MI (en $\gamma$ ) pour 1 mg P org. total récupéré après chromatogr.:				
14. Bande A . . . . .	12	32	4	15
15. Bande B . . . . .	373	1135	413	791
16. Bande C . . . . .	59	131	52	162

\* Culture effectuée 4 ½ mois avant la culture inhibée c inh.

\*\* Poids des cellules traitées par le mélange alcool-éther (3:1).

\*\*\* Cette fraction avait été soumise à une double chromatographie sur papier.

étaient restés pratiquement les mêmes, alors que les cultures normales manifestaient une certaine augmentation de leurs teneurs en phospho-inositides par rapport à celles indiquées dans le tableau I: le P org. de la bande B représentait 7-8% du P org. total (cf. tableau: 9).

Pour ne pas allonger, nous ne mentionnons pas dans les tableaux le MI restant dans le liquide de culture à l'état libre ou combiné, le MI non extractible par les dissolvants de lipides restant dans les cellules, le MI phospholipidique non précipité par l'acétone, etc. Si l'on tient compte de ces chiffres et de ceux des tableaux, on obtient le MI total présent dans les cellules et dans le liquide de culture; il représente 90-100% du MI mis en œuvre. Il ne se produit donc pas dans les cultures, normales ou inhibées, de catabolisme notable de l'inositol.

L'examen des tableaux conduit aux constatations suivantes:

La fraction (bande) B des cultures normales consiste essentiellement en acide ms-inositol-monophosphorique de rapport mol. P org./MI voisin de 1 (tableaux: 12). Nous constatons d'autre part que dans les cultures inhibées par les deux anti-vitamines, la fraction B comporte 15-17% du phosphore organique total récupéré après chromatographie: elle est ainsi considérablement augmentée (de 2 à 4 fois) par rapport aux cultures normales (tableaux: 9).

Lorsqu'il y a inhibition par l'isomytilitol, cette augmentation de la fraction B résulte d'une incorporation considérable de l'inhibiteur; le rapport P org./MI de la fraction B s'élève alors à 3-4 (tableau I: 12, *a inh.* et *b inh.*); l'analyse par chromatographie sur papier montre, d'autre part, que cette fraction contient de 2 à 3 fois plus d'isomytilitol que de ms-inositol. Dans les cultures indiquées dans le tableau I, les teneurs en inositol phospholipidique des cellules sèches ne sont pas très différentes, que les cultures aient été inhibées ou non (tableau I: 7). Il en est de même des quantités d'inositol des fractions B rapportées à 1 mg de P org. total récupéré après chromatographie (tableau I: 15). Nous en avons conclu [5] que l'inhibition se traduit essentiellement par une *formation additionnelle de phospholipides à isomytilitol* qui sont sans doute incapables de remplir certaines fonctions biologiques.

Dans le cas de cultures inhibées par l'époxyde III, nous constatons d'abord par chromatographie sur papier que l'incorporation de l'inhibiteur est relativement très faible: dans la fraction B, on trouve environ dix fois moins d'inhibiteur que d'inositol. Dans cette fraction, le rapport P/MI reste voisin de 1 (tableau II: 12, *a inh.* et *c inh.*) ce qui indique qu'elle contient essentiellement des esters ms-inositol-

monosphoriques. L'augmentation de la fraction B résulte donc d'une *exaltation de la synthèse des phospholipides à inositol* sous l'action de l'inhibiteur. Il s'ensuit une augmentation considérable de la teneur en inositol phospholipidique des cellules desséchées (tableau II: 7, *a inh.* et *c inh.*); leur teneur en phospholipides totaux n'est par contre pas modifiée (tableau II: 6).

On constate ainsi que les deux inhibiteurs ont des actions biochimiques essentiellement différentes en ce qui concerne la composition des phospholipides. Nous avons suggéré autrefois [5] que les cultures inhibées par l'isomytilitol élaborent des enzymes d'adaptation synthétisant des phospholipides contenant l'inhibiteur. Ces enzymes seraient incapables d'effectuer l'incorporation du ms-inositol mais seraient inhibés d'une manière compétitive par ce dernier: c'est ainsi que s'expliquerait la réversibilité de l'effet de l'antagoniste par l'adjonction d'inositol. On peut encore invoquer le fait que l'isomytilitol n'exerce son action que s'il est présent au moment de l'inoculation, c'est-à-dire précisément dans des conditions favorables pour la production des enzymes d'adaptation supposés. L'inhibition par l'époxyde III se traduit essentiellement par une synthèse accrue de phospholipides à inositol et, par conséquent, par un besoin accru de ce cyclitol. La raison de cette consommation exagérée d'inositol est encore inexpiquée; toujours est-il que le liquide de culture s'appauvrit ainsi rapidement en vitamine: on peut se demander alors si ce n'est pas à la forte diminution d'inositol qui se produit ainsi dans les cultures inhibées que serait due, entre autres, l'inhibition de croissance.

Il faut mettre en parallèle les différences d'action biochimique ainsi constatées entre les deux inhibiteurs et les différences d'action physiologique exposées dans la communication suivante [8].

Les conclusions auxquelles nous arrivons sont fort différentes, comme on voit, de la conception classique et simpliste d'après laquelle l'inhibition compétitive serait due, rappelons-le, à une compétition entre le métabolite et l'anti-métabolite pour les mêmes emplacements d'un système enzymatique natif normal.

Ces recherches ont bénéficié de l'appui du *Fonds national suisse de la Recherche scientifique* auquel nous exprimons notre reconnaissance. Nos remerciements vont également à M<sup>lle</sup> D. Wüstenfeld pour sa collaboration dans l'exécution des expériences.



*Résumé.*

Les phospholipides de cultures de *Schizosaccharomyces pombe* inhibées par l'isomytilitol ou par l'oxyde de méthylène-2-pentahydroxy-cyclohexane-1, 3, 5/4, 6 présentent, par rapport aux cultures normales, une teneur accrue en esters phosphoriques de cyclitols. Lors de l'inhibition par l'isomytilitol, cet accroissement est dû essentiellement à une incorporation considérable de l'inhibiteur dans les phospholipides. Sous l'action de l'oxyde de méthylène-pentahydroxy-cyclohexane, il ne se produit qu'une faible incorporation de l'inhibiteur; la synthèse des phospholipides à inositol est, par contre, exaltée. Les mécanismes biochimiques de ces deux types d'inhibition ont été discutés.

## BIBLIOGRAPHIE

1. SCHOPFER, W. H., Th. POSTERNAK et D. WÜSTENFELD, *Arch. Sc. Genève*, **13**, 1 (1960).
2. — et Th. POSTERNAK, *Chimia*, **7**, 90 (1953); *Helv. physiol. pharmacol. Acta*, **12**, C 30-C 32 (1954); *Arch. Sc.*, **8**, 316 (1955).
3. — et Th. POSTERNAK, *Rev. suisse Pathol. Bactériol.*, **19**, 647 (1956).
4. POSTERNAK, Th. et W. H. SCHOPFER, *Bull. Soc. Chim. biol.*, **39**, 1037 (1957).
5. —, W. H. SCHOPFER et J. DESHUSSES, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 1351 (1959).
6. HANES, C. S. et F. A. ISHERWOOD, *Nature*, **164**, 1107 (1949).
7. POSTERNAK, Th., D. REYMOND et W. HAERDI, *Helv. Chim. Acta*, **38**, 191 (1955).
8. SCHOPFER, W. H. et Th. POSTERNAK, *Arch. Sc. Genève*, **13**, 16 (1960.)

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

**W. H. Schopfer et Th. Posternak.** — *Recherches sur les fonctions et le métabolisme du méso-inositol. III. Etude physiologique comparée de deux anti-inositols, l'isomytilitol et l'oxyde de méthylène-pentahydroxy-cyclohexane-1, 3, 5/4,6 agissant sur Schizosaccharomyces pombe.*

D'après la théorie classique, l'effet inhibiteur d'une antivitamine serait due à une compétition entre le métabolite (vitamine) et l'antimétabolite (antivitamine) pour les mêmes emplacements d'un système enzymatique.

La notion de compétition nous vient de l'enzymologie. Elle peut être aisément vérifiée à l'aide d'un système non vivant, un homogénat, par exemple, ne possédant pas de continuité génétique et dont