Étude des protéines de l'axe germinatif

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **23 (1970)**

Heft 1

PDF erstellt am: **29.05.2024**

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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

CHAPITRE 5

ÉTUDE DES PROTÉINES DE L'AXE GERMINATIF

La nature même et la destinée si différentes des deux parties de la graine conduisent à supposer que les protéines présentes dans ces organes sont dissemblables par leur constitution et leur fonction. L'étude des protéines de l'axe, succédant à celle des cotylédons et conduite suivant des procédés analogues, permettra de mieux connaître les protéines de cet organe, contenant principalement, peut-on penser, des protéines de constitution, en les comparant à celles des cotylédons considérées comme protéines de réserve.

I. CARACTÉRISTIQUES DU GERME

TABLEAU 20

Teneurs de la farine d'axe en azote, phosphore, glucides et lipides exprimées en % du poids sec de la farine.

	Azote	Phosphore	glucides	Lipides
Axe	8,40	0,80	40,00	5,20
Cotylédons	4,40	0,22	69,00	0,50

L'axe (tableau 20) est près de 4 fois plus riche en phosphore que les cotylédons bien qu'il ne soit que 2 fois plus riche en azote. En outre, il contient une quantité non négligeable de lipides.

Ces caractéristiques rendent compte de la différence de nature de ces organes, l'axe étant riche en protéines de structure.

TABLEAU 21

Nature des glucides contenus dans la farine d'axe
Les teneurs sont exprimées en % du poids sec de la farine et comparées aux valeurs similaires des cotylédons.

	glucides totaux	glucides solubles	amidon	glucides non extraits
Axe	40	32	traces	7
Cotylédons	69	14	42	13

Les différentes formes sous lesquelles se trouvent les glucides montrent (tableau 21) que l'axe germinatif contient peu de glucides de réserve; cependant des zones à amidon ont été révelées cytochimiquement dans certains tissus.

II. Extraction des protéines

1. *Bilan d'une extraction totale*

Afin de connaître la nature des familles protéiques contenues dans l'axe et, en même temps, les proportions relatives de ces familles, des extractions totales, par l'intervention successive des trois solvants classiques appliqués aux cotylédons (eau, solutions salines, solutions alcalines diluées), ont été conduites suivant les mêmes modalités (dilution d = 15).

Deux extractions menées parallèlement, faisant intervenir l'une l'eau en premier solvant, l'autre les solutions salines, permettent de déterminer également quel est le meilleur mode d'extraction.

Les résultats sont exprimés figure 14 .

Le graphique révèle deux singularités: les points A et B.

A —Le taux du 5e extrait est supérieur à celui du 4e. Lorsque NaCl agit en premier solvant, ce minimum n'existe pas. Cela indiquerait la présence d'une fraction de prolamine soluble dans l'eau pure (et dans l'alcool à 70°). Cette fraction n'existait pas chez les cotylédons. De telles prolamines, légèrement solubles dans l'eau pure, ont été signalées par plusieurs auteurs et notamment par Baudet et Mossé (1962*b*).

B —Les taux cumulés d'extraction par épuisement à l'aide des deux premiers solvants ne sont pas égaux, contrairement à ce que l'on constatait chez les cotylédons. L'avantage, comme le révèle le tableau 22, est pour le système eau-NaCl.

Tableau 22

Comparaison des taux d'azote extrait à chaque étape, exprimés en pourcentage de l'azote total de la prise d'essai

étapes \ ordre des solvants	Eau-NaCl-NaOH	NaCl-eau-NaOH
N total extrait par le premier solvant.	73,0	75,1
N total extrait par le deuxième solvant.	8,8	3,6
N total extrait par les deux premiers solvants	81,8	78,7

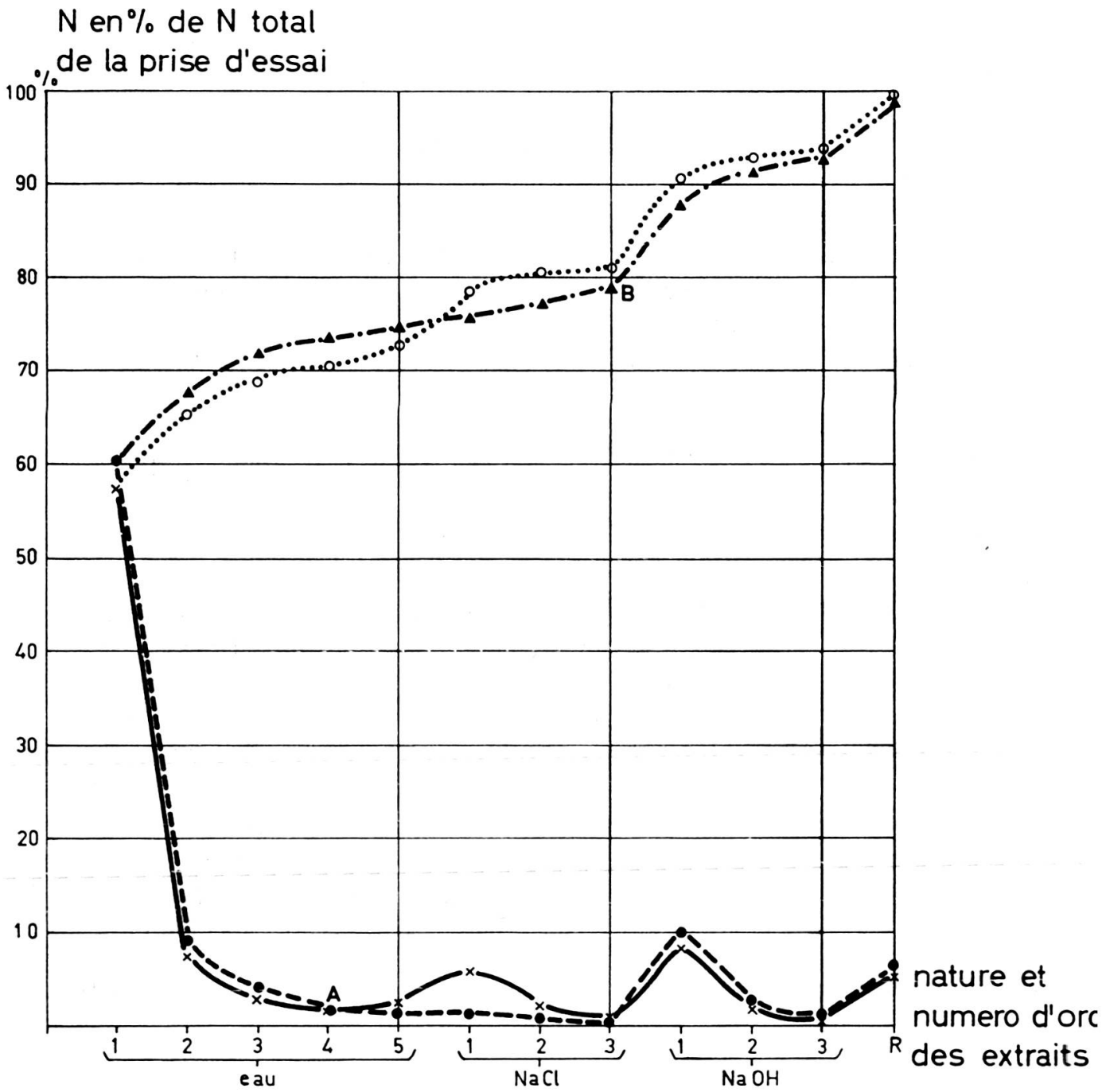


FIG. 14. — Comparaison de 2 extractions totales utilisant: l'une l'eau en premier solvant, l'autre le chlorure de sodium.

1) Variation des teneurs des extraits en azote total en fonction de la nature et du numéro d'ordre de chaque extrait.
2) Comparaison des valeurs cumulées.

x————x Azote total de chaque extrait lorsque l'eau agit en premier solvant.

o - - - - - o Valeurs cumulées de l'azote total extrait à chaque étape lorsque l'eau agit en premier solvant.

●- - - - -● Azote total de chaque extrait lorsque le chlorure de sodium agit en premier solvant.

▲—.—.▲ Valeurs cumulées de l'azote total extrait à chaque étape lorsque le chlorure de sodium agit en premier solvant.

Ainsi, le mode d'extraction faisant intervenir les solutions salines en premier accuse un léger avantage, à fin de la première étape, sur le mode d'extraction faisant agir d'abord l'eau. Mais à la fin de la deuxième étape, c'est ce dernier mode qui vient en tête pour le rendement et il y demeure jusqu'à la fin de l'extraction bien que le troisième solvant (NaOH) ait sensiblement rétabli l'équilibre.

Ces constatations confirment l'existence d'une fraction prolamine, soluble dans l'eau pure.

Si nous comparons ces résultats aux extractions cotylédonaires similaires, nous constatons l'existence, propre au germe, d'une prolamine quantitativement peu importante (3% environ de l'azote total de la farine), soluble dans l'eau pure. Par ailleurs, le taux d'azote résiduel, bien qu'encore relativement faible, est plus élevé que pour les cotylédons (6% contre 1,5%).

L'existence de cette fraction a été confirmée par extraction à l'aide de son solvant propre, l'alcool à 70°.

2. *Substances phosphorées et glucidiques accompagnant les protéines dans les extraits*

Le fractionnement conduisant à l'isolement, à partir des extraits, des 2 familles: albumines et globulines, a été appliqué aux extraits de farine d'axes suivant le même schema que celui appliqué aux extraits cotylédonaires (schema 1).

La teneur en glucides totaux et phosphore total des extraits a été déterminée. L'efficacité de l'élimination de ces substances à la suite des opérations de fractionnement peut être contrôlée par l'examen du tableau 23.

TABLEAU 23

Proportions relatives des constituants phosphorés et glucidiques à chaque étage du fractionnement du premier extrait aqueux. Les teneurs sont exprimées en pourcentage du poids sec de la prise d'essai et comparées aux valeurs analogues cotylédonaires.

		Extrait total	Précipitation par le sulfate d'ammonium à saturation		Electrodialyse du précipité redissous	Elimination par dialyse
			surnageant	précipité		
axe	Azote	5,00			3,30	
	Phosphore	0,60	0,40	0,20	0,18	0,02
	Glucides	29,00	23,70	5,30	2,63	2,67
cotylédons	Azote	2,60			2,04	
	Phosphore	0,18	0,14	0,04	0,025	0,015
	Glucides	11,00	9,00	2,00	1,16	0,84

On remarque tout d'abord que, proportionnellement à la quantité d'azote solubilisé, le taux de phosphore des extraits d'axes est près de deux fois supérieur à celui des extraits de cotylédons. La teneur en glucides accuse elle-même un léger avantage.

On constate ensuite que les glucides et les matières phosphorées accompagnant les protéines dans les extraits s'éliminent en grande majorité dès la première étape d'isolement des protéines, comme cela avait été constaté sur les extraits cotylédonaires, à un degré moindre toutefois ici en ce qui concerne les matières phosphorées, comme le précise le tableau 24.

TABLEAU 24

Taux de phosphore et de glucides totaux présents à chaque étape du fractionnement en pourcentages respectivement du phosphore total et des glucides totaux de l'extrait. Les valeurs analogues cotylédonaires sont rappelées à titre comparatif.

		Extrait total	Précipitation par le sulfate d'ammonium à saturation		Electrodialyse du précipité redissous (% après dalyse)	Elimination par dialyse
			surnageant	précipité		
axe	Phosphore	100	66,7	33,3	30,0	3,3
	Glucides	100	81,7	18,3	9,1	9,2
cotylédons	Phosphore	100	77,8	22,2	13,8	8,4
	Glucides	100	81,8	18,2	10,5	7,7

L'élimination des glucides est analogue sur extraits d'axes ou de cotylédons.

Précisons les formes sous lesquelles se trouve le phosphore des extraits. Le phosphore soluble dans l'acide trichloracétique englobe principalement le phosphore phytinique et minéral. Les surnageants trichloracétiques ont donc été fractionnés afin de déterminer la proportion de phosphore phytinique qu'ils contiennent. Plusieurs modes d'isolement de la phytine ont été essayés et confrontés. Tout d'abord la précipitation par les ions Ba^{++}, Ca^{++}, Fe^{+++} à pH 8; la précipitation par les ions baryum ou calcium entraîne des complications pour la détermination du phosphore total du précipité du fait de formation, lors de la minéralisation, de sulfates insolubles nécessitant des filtrations. Toutefois les résultats recueillis ne s'écartent pas de ceux obtenus par formation de phytate ferrique. Mais la méthode la plus simple consiste, comme nous l'avons déjà dit, à évaluer la phytine par différence entre le phosphore total et le phosphore minéral des surnageants trichloracétiques; Cette approximation tenant pour négligeable les infimes quantités de substances phosphorées solubles

dans l'acide trichloracétique et qui ne sont ni minérales ni phytiniques. Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau 25. L'analyse des extraits cotylédonaires a été reprise sur des lots de farine autres que ceux des déterminations antérieures afin d'être menée simultanément et parallèlement à celle des extraits de farine d'axes.

TABLEAU 25

Différentes formes de phosphore contenues dans les extraits protéiques. Les teneurs en phosphore sont exprimées en pourcentage du poids sec de la prise d'essai.

		P. total	soluble dans A.T.C.			insoluble dans ATC (protéique	soluble ds les solutions saturées de sulfate d'am.	insoluble ds les solutions saturées de sulfate d'am. (protéique)
			total	phytinique	minéral			
farine	axes	0,80						
	cotylédons	0,22						
1er extrait	axes	0,60	0,42	0,26	0,16	0,18	0,41	0,19
	cotylédons	0,19	0,16	0,13	0,03	0,03	0,15	0,04

Il n'y a pratiquement pas de différence dans la détermination du phosphore des protéines, que la précipitation de ces dernières ait lieu par l'acide trichloracétique ou par saturation avec le sulfate d'ammonium.

TABLEAU 26

Teneur des extraits protéiques en différentes formes de phosphore exprimées en pourcentage du phosphore extrait.

	P. total extrait	P soluble dans A.T.C.			P. protéique
		total	phytinique	minéral	
axes	100	70,0	43,3	26,7	30
cotylédons	100	84,2	68,4	15,8	15,8

Il n'est pas surprenant (tableau 26) de constater, chez l'axe, une proportion relativement plus forte de phosphore protéique (30% du phosphore extrait contre 15,8% chez les cotylédons).

Par contre, il est étonnant de constater que le taux de phytine présent dans le germe est loin d'être négligeable. Moins élevé que le taux cotylédonaire, il atteint cependant 43 % du phosphore extrait et 33 % du phosphore total de la farine.

Ainsi, la phytine, considérée comme substance de réserve, pourrait participer aux synthèses lors de la germination.

III. Etude des familles protéiques

1. *Analyse des familles*

A) *Constitution*

Les teneurs en azote, phosphore et glucides, exprimées en fonction du poids de protéines, ont été déterminées sur des prises d'essais des familles isolées, purifiées, cryodesséchées. Il a été tenu compte d'une teneur en humidité résiduelle éventuelle, établie par dessiccation à 110° de parties aliquotes. Les résultats figurent tableau 27.

Tableau 27

Teneur des albumines et globulines en azote, phosphore et glucides exprimée en pourcentage du poids sec de la protéine.

		Azote	Phosphore	Glucides
axe	G	15,2	0,9	7,5
	A	13,2	0,7	18,0
cotylédons	G	15,8	0,28	6,0
	A	15,3	0,07	8,5

D'une manière générale, les globulines, quelle que soit leur origine, sont plus riches en azote et en phosphore que les albumines. Par contre, elles sont moins riches en glucides.

La teneur en phosphore des protéines d'axe est singulièrement importante (0,7 à 0,9 % environ) alors que chez les cotylédons les albumines en sont pratiquement dépourvues et les globulines n'en renferment que 0,28 %.

Il est à noter qu'aucune famille protéique cotylédonaire ou embryonnaire n'est totalement dépourvue de sucres. La teneur minimum constatée atteint encore 6 %. (Il n'est question que des familles globales car nous avons vu que les pseudo-globulines de cotylédons ne renferment que 2,5 % de glucides).

Les albumines de l'axe sont particulièrement riches en glucides (18 %). En conséquence leur taux d'azote est le plus faible de tous (13,2 %). Cette forte teneur en glucides confère aux albumines de germe une remarquable stabilité que nous avons pu éprouver. Un extrait aqueux total cotylédonaire abandonné à 2° C devient rose, marron, presque noir en 8 à 10 jours, alors que l'extrait d'axes abandonné à côté dans les mêmes conditions reste clair. Toutefois, à température ambiante, les extraits aqueux de germe ou de cotylédons précipitent abondamment dès le deuxième jour, mais, au bout de 15 jours, leur couleur n'a pas changé. Les transformations dues au temps ne sont donc pas les mêmes à 2° et à 28°. La précipitation précoce empêcherait les transformations conduisant à des substances colorées.

B) *Analyse électrophorétique et immunoélectrophorétique.*

a) *Albumines.* Malgré les différences constatées précédemment dans la constitution des albumines d'axe et de cotylédons, les électrophorégrammes soulignent plutôt les similitudes (figure 15). Toutefois, les albumines de germe accusent une plus grande mobilité des fractions anodiques les plus mobiles et une proportion plus importante de fractions catodiques. De plus, la fraction, révélée chez les cotylédons, sous forme de spot arrondi rappelant l'apparence des albumines sériques, n'a pas son homologue chez les albumines d'axe.

De grandes analogies structurales doivent cependant exister entre albumines de chaque partie de la graine car la diffusion d'albumines d'axe contre l'immunserum antialbumines de cotylédons révèle un nombre élevé d'arcs de précipitation, inférieur cependant à celui provoqué par la diffusion des albumines de cotylédons (fig. 16).

b) *Globulines.* Si les albumines de l'axe germinatif semblent plus complexes encore que celle de cotylédons, les globulines paraissent, en revanche, plus simples (fig. 17); la fraction anodique majeure est moins importante, les fractions catodiques moins nombreuses (on n'en décèle que 2); cependant, dans cette famille, comme dans les albumines, les identités structurales se manifestent entre globulines de l'axe et de cotylédons.

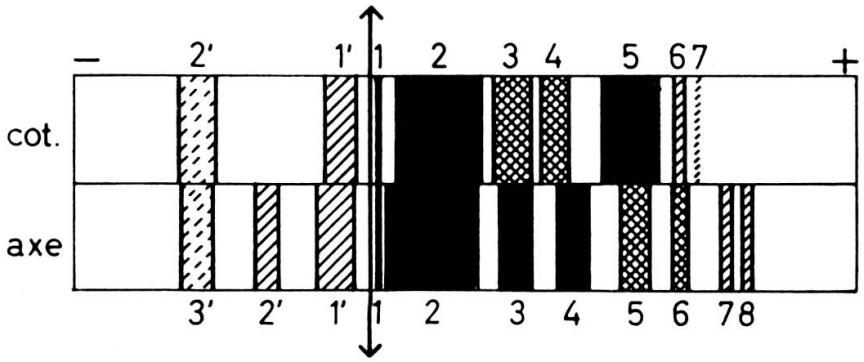
Tout d'abord, la fraction très mobile, révélée chez les globulines de cotylédons, existe également chez l'axe. En outre, des précipitations croisées montrent que la plupart des globulines de l'axe réagissent avec les anticorps provenant des mêmes globulines cotylédonaires.

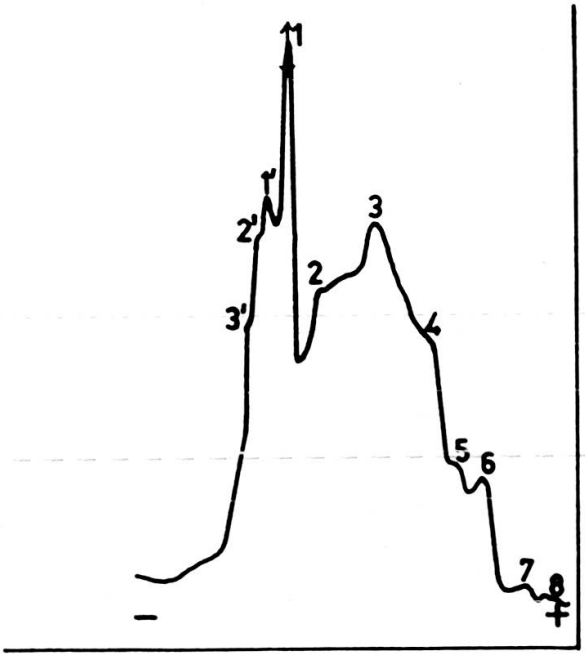
2. *Fractionnement des familles*

Un fractionnement par chromatographie sur DEAE cellulose a été appliqué aux deux familles protéiques de l'axe suivant les mêmes principes que ceux observés pour le fractionnement des proteines cotylédonaires.

A) *Albumines*

L'élution fut assurée par l'action combinée d'un gradient de force ionique et d'un gradient de pH. Ici la force ionique était celle du tampon phosphate





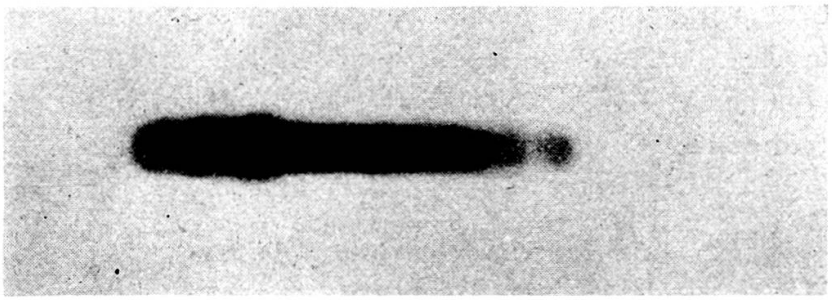


FIG. 15. *a)* — Electrophorégramme des albumines d'axe (photo) et courbe densitométrique.
b) Schéma du diagramme fourni par une electroplorèse simultanée des albumines d'axe et de cotylédons.

et variait suivant une courbe à allure exponentielle de 0,005 M à 0,5 M; le pH passait, suivant le même rythme, de 8,4 à 3. Le chromatogramme obtenu (figure 18), permet de constater que 3 fractions principales ont été isolées dont une domine quantitativement très nettement les autres. Comme chez les cotylédons le gradient de pH mesuré

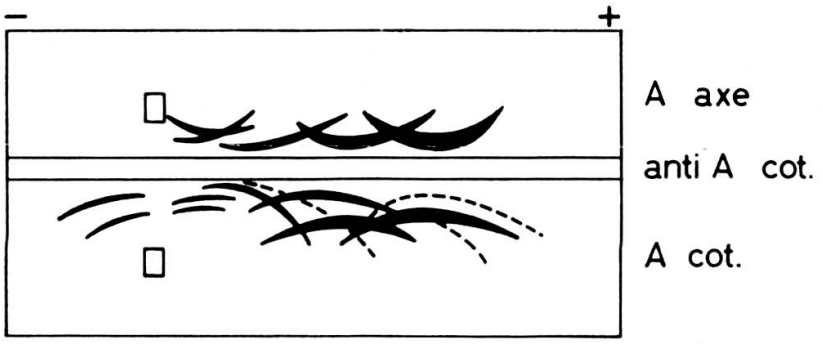


FIG. 16. — Electrophorèse d'albumines d'axe et de cotylédons diffusée contre l'immunsérum antialbumines de cotylédons.

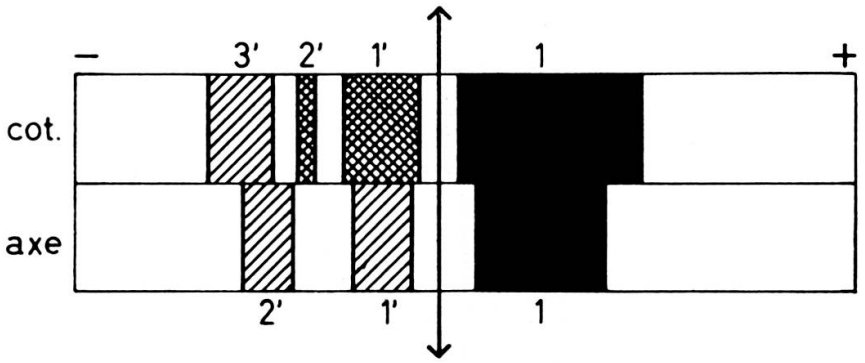


FIG. 17. — Electrophorégrammes comparés des globulines d'axe et de cotylédons.

à la sortie de la colonne s'éloigne de celui réalisé à l'entrée. Là encore il y a alcalinisation correspondant à la sortie des fractions les plus alcalines.

B) *Globulines*

L'allure du chromatogramme des globulines d'axe (figure 19) est différente de celle présentée par celui des globulines de cotylédons realisé dans les mêmes conditions (figure 12). La fraction majeure est éluée à force ionique supérieure comme chez les cotylédons, les fractions éluées à faible force ionique sont catodiques, les fractions majeures éluées à force ionique supérieure sont anodiques.

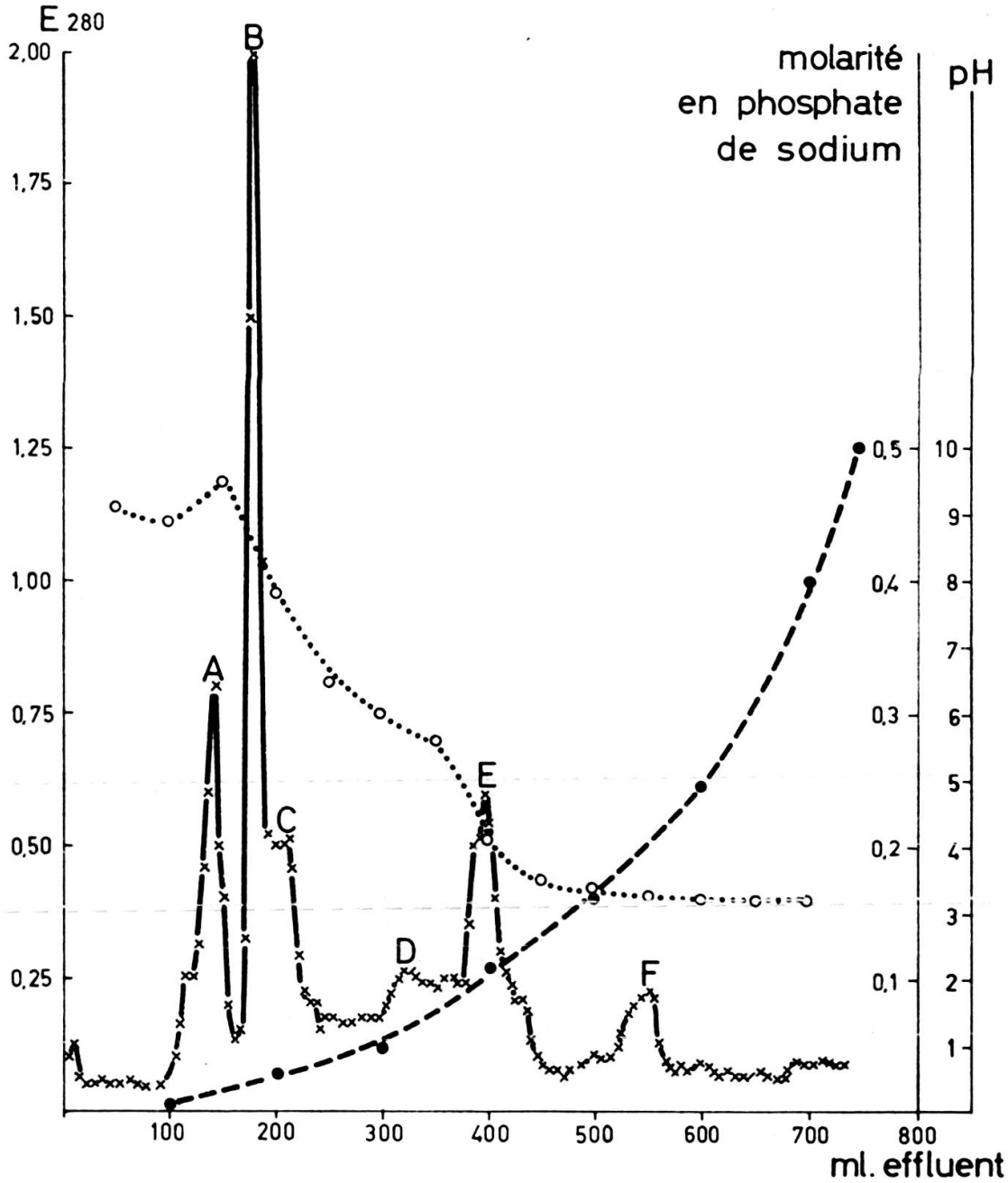


FIG. 18. — Chromatographie des albumines d'axe sur DEAE cellulose.
Colonne: 1,5 cm × 30 cm. Poids de protéines appliqué: 320 mg.
Taux de récupération: 79%. Effluent: 750 ml par fractions de 5 ml.
Elution par gradient mixte de force ionique et de pH
{ phosphate 0,005 M pH 8,6
{ à phosphate 0,5 M pH 3
x———x Chromatogramme.
●- - - - -● Gradient de force ionique.
o . . . . . o Gradient de pH.

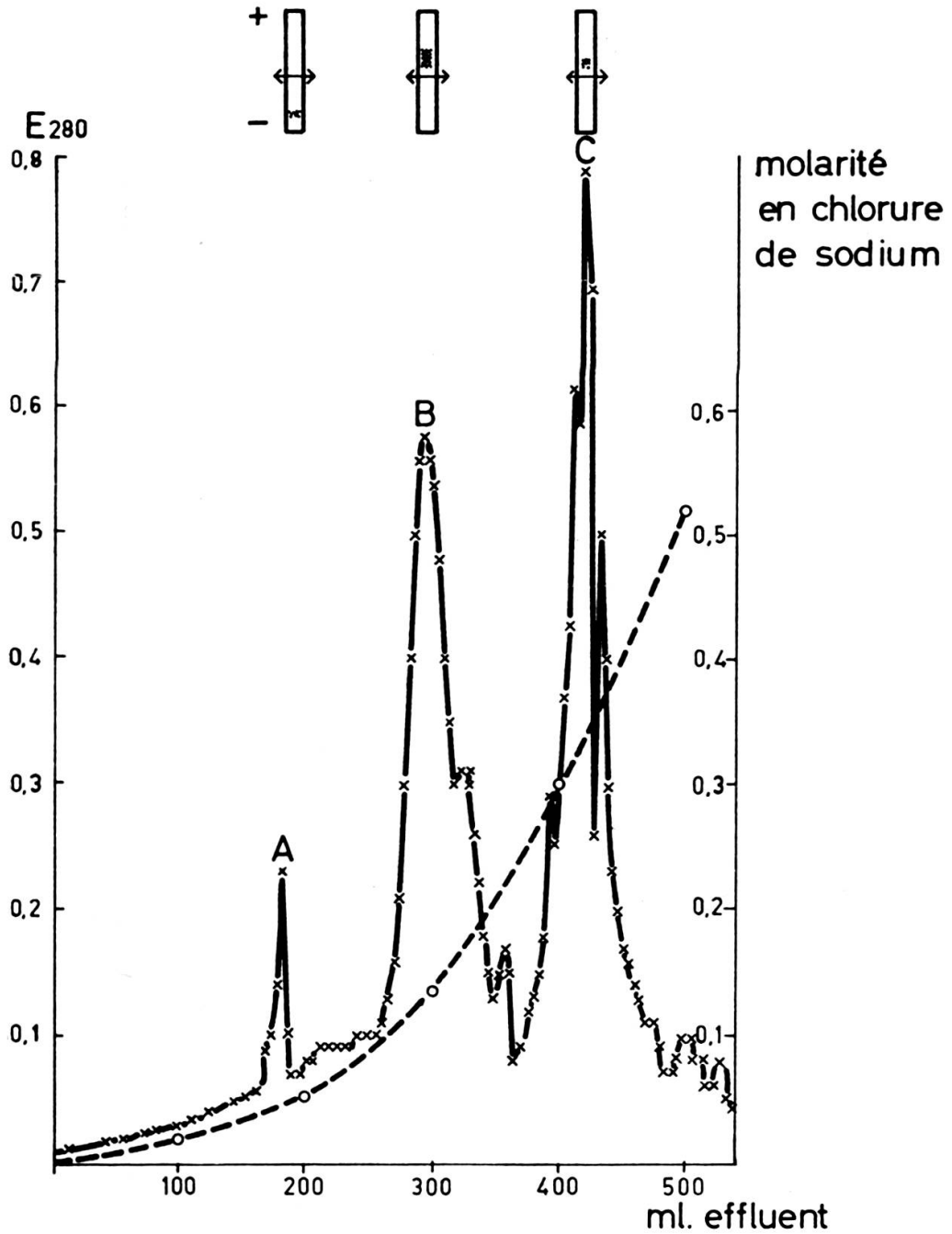


FIG. 19. — Chromatographie des globulines d'axe sur DEAE cellulose.
Colonne: 1,5 cm × 30 cm. Poids de globuline appliqué: 300 mg.
Taux de récupération: 75%. Effluent: 500 ml par fractions de 5 ml.
Elution par gradient de concentration saline (Nacl 0 à 0,6 M).
x———x Chromatogramme.
o - - - - - o Gradient de force ionique.