

## Etude “*in vitro*” des acides gras synthétisés dans les microsomes de cerveaux de souris normales et “quaking”.

J. M. BOURRE, S. POLLET, G. CHAIX, O. DAUDU et N. BAUMANN.

Laboratoire de Neurochimie, Hôpital de la Salpêtrière, 75013 Paris.  
(7-6-1973).

**Summary.** — Radiogas chromatographic studies of the products of fatty acid biosynthesis in mice brain microsomes confirm the existence of a « *de novo* » system from acetyl-CoA and malonyl-CoA and of at least two elongating systems for long chain fatty acids, involving malonyl-CoA. The possibility of an intermediary system leading from C<sub>18</sub> to C<sub>20</sub> fatty acids has been evoked.

Comparison between non mutant and quaking mice indicates that all the microsomal fatty acid biosynthetic systems are depressed. The biosynthetic system elongating fatty acids from C<sub>18</sub> is the one which is the most modified quantitatively and qualitatively in quaking. Microsomal and soluble « *de novo* » systems are qualitatively intact.

Les acides gras à longue chaîne jouent un rôle dans le maintien et la stabilité des membranes. Toute déficience dans leur métabolisme peut avoir de profondes conséquences fonctionnelles. C'est ainsi qu'il existe un mutant, la souris « quaking » (Qk), caractérisé par un défaut de myélinisation du système nerveux central. L'analyse des lipides cérébraux a montré, par rapport à la souche non mutante, une nette diminution de la teneur en sphingolipides, caractéristiques de la myéline, ainsi que de leurs acides gras à longues chaînes [1, 2].

Ayant montré que les microsomes cérébraux chez la souris jouent un rôle important dans l'élaboration des lipides myéliniques [3], l'étude de la biosynthèse des acides gras microsomaux a été entreprise [4]. Plusieurs systèmes enzymatiques sont mis en jeu. Il existe une synthèse de type « *de novo* » en présence d'acétyl-CoA et de malonyl-CoA. Ce processus peut faire intervenir une acétyl-CoA-carboxylase et une malonyl-CoA-décarboxylase, ces deux enzymes semblant distinctes. Ce système paraît être différent de celui observé dans la « fraction soluble » (surnageant de centrifuga-

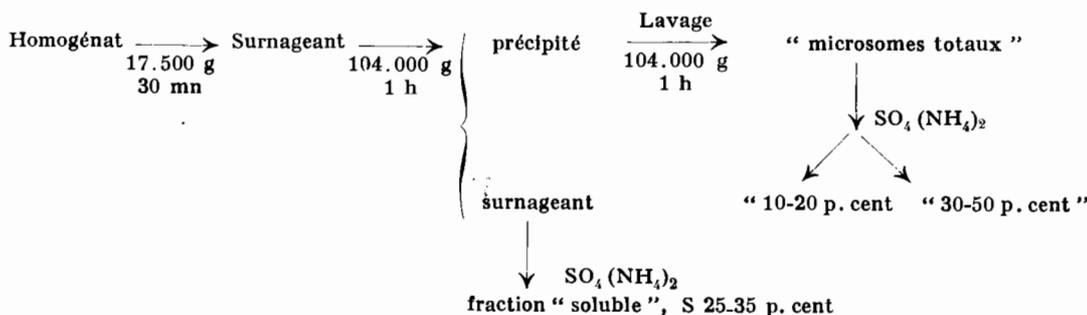
tion des microsomes). Les acides gras ainsi synthétisés peuvent être allongés dans les microsomes au moyen de deux processus enzymatiques selon, semble-t-il, la longueur de chaîne du substrat, l'un conduisant de l'acide à 16 atomes de carbone à celui à 18 atomes, l'autre de l'acide à 18 atomes de carbone aux acides à chaîne plus longue.

Des études similaires ont été entreprises sur les microsomes cérébraux de souris « Qk ». Les résultats obtenus [5] indiquent que seul le 2<sup>e</sup> système d'allongement est enzymatiquement perturbé.

L'analyse des produits des différentes réactions de biosynthèse des acides gras microsomaux, effectuée par chromatographie en phase gazeuse avec comptage de la radioactivité de l'éluat, permettra de confirmer les résultats obtenus par l'étude enzymatique des différents systèmes.

### MATERIELS ET METHODES.

La préparation des différentes fractions « microsomaux » est effectuée selon la méthode habituelle [4], résumée sur le schéma suivant :



Les concentrations en substrats et protéines sont de 5 à 10 fois celles utilisées pour l'étude enzymatique. CoA [1-3-<sup>14</sup>C] à 4  $\mu$ Ci/ $\mu$ M et d'acétyl-CoA [1-<sup>14</sup>C] à 2  $\mu$ Ci/ $\mu$ M.

TABLEAU I.  
Pourcentage d'acides gras synthétisés dans les fractions « microsomes totaux » et « 10-20 p. cent ».

Fractions enzymatiques	"Microsomes totaux" (1000 $\mu$ g)						"10-20 p. cent" (700 $\mu$ g)					
	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>
Palmityl-CoA + Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C] { N Qk		7	77	7	3	6		2 6	83 92	6 2	3	6
Stéaryl-CoA + Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C] { N Qk	1	38	18	26	8	9		7 25	29 32	25 43	9	30
Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C] { N Qk	2	74	15	3	5	1	2	46 54	30 49	3 7	13	6
Palmityl-CoA [1- <sup>14</sup> C] + Malonyl-CoA { N Qk			78	6	9	7			98 100	6	9	7
Stéaryl-CoA [1- <sup>14</sup> C] + Malonyl-CoA { N Qk				68	12	20				44 100	25	31

Comparaison entre les souris non mutantes (N) et les souris « quaking » (Qk).

TABLEAU II.  
Pourcentage d'acides gras synthétisés dans les différentes fractions enzymatiques.

Fractions enzymatiques	"Microsomes totaux" (100 $\mu$ g)						"10-20 p. cent" (700 $\mu$ g)						"30-50" p. cent (650 $\mu$ g)			"S 25-35" p. cent (1000 $\mu$ g)		
	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>
Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C] { N Qk	2	74	15	3	5	1	2	46 54	30 49	3 7	13	6	4 5	86 85	10 10	3 3	87 87	10 10
Acétyl-CoA + Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C] { N Qk	4	75	15	3	4	1	2	58	20	2	14	4	7 7	83 80	10 13	8 7	86 86	6 7
Acétyl-CoA [1- <sup>14</sup> C] + Malonyl-CoA { N Qk	6	85	9				8	75	17				7 6	84 83	9 11	9 8	85 86	6 6

Comparaison entre les souris non mutantes (N) et les souris « quaking » (Qk).

tique de la biosynthèse des acides gras [4]. La radioactivité spécifique des acyl-CoA est de 2  $\mu$ Ci/ $\mu$ M. Le malonyl-CoA [1-3-<sup>14</sup>C] et l'acétyl-CoA [1-<sup>14</sup>C] incubés en présence des fractions « microsomaux », sont à 6,7  $\mu$ Ci/ $\mu$ M. L'étude de la fraction « soluble » s'effectue à l'aide de malonyl-

Après extraction par l'éther de pétrole en milieu acide (2 fois 5 ml d'éther de pétrole — P.E. 40°C-60°C — par ml d'incubation), les acides gras sont méthylés selon la technique de Morrison et Smith [7]. Les esters méthyliques extraits par le pentane (3 fois 1 ml) sont chromatographiés en phase

gazeuse (appareil « Hewlett-Packard ») et les produits radioactifs sont détectés à l'aide d'un compteur « Panax » couplé au chromatographe.

— La colonne utilisée est une colonne de SE 52 à 10 p. cent sur Aéropak 30-100/120. La détection se fait par ionisation de flamme. La chromatographie s'effectue en programmation de température de 180°C à 300°C à une vitesse de 2°C à 4°C/min.

miques de 80-20. La révélation et le prélèvement des bandes se fait en U.V.

— saturés et insaturés par chromatographie sur couche mince de gel de silice imprégné d'AgNO<sub>3</sub> à 7 p. cent. Le solvant de migration est constitué par un mélange à volume égal de benzène et d'hexane. Il est également possible d'effectuer une hydrogénation catalytique en présence d'oxyde de

TABLEAU III.  
Rendement (r) de la biosynthèse des acides gras dans les différentes fractions enzymatiques.

Fractions enzymatiques	" Microsomes totaux " (1000 µg)		" 10-20 p. cent " (700 µg)		" 30-50 p. cent " (650 µg)		" S 25-30 p. cent " (1000 µg)		
	r p. cent	cpm	r p. cent	cpm					
Palmityl-CoA + Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C]	T Qk	4	23.400	4	22.300				
				1	5.200				
Stearyl-CoA + Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C]	T Qk	1	6.200	1	5.700				
				0,2	1.000				
Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C]	T Qk	0,5	2.300	0,2	1.000	r p. cent	cpm	r p. cent	cpm
				0,1	500	0,8	4.100	8	12.700
Acetyl-CoA + Malonyl-CoA [1-3- <sup>14</sup> C]	T Qk	2	13.800	0,2	1.200	0,2	1.200	7	11.100
						4	24.000	26	41.300
Acetyl-CoA [1- <sup>14</sup> C] + Malonyl-CoA	T Qk	0,8	4.300	0,1	600	0,5	3.000	14	22.500
						1,5	7.000	10	33.400
						0,5	2.300	4	13.100

Auparavant, le profil en acides gras des différentes fractions a été déterminé. L'identification de ces acides est effectuée :

— par l'emploi de 2 types de colonnes : non polaire (SE 52) et polaire (DEGS à 10 p. cent sur chromosorb WAW 80/100),

— par « cochromatographie » en présence d'esters méthyliques « étalons »,

— par l'utilisation de la méthode des longueurs équivalentes de chaîne.

D'autre part, les acides gras peuvent être séparés en :

— hydroxylés et non hydroxylés par chromatographie sur couche mince de gel de silice H en utilisant comme solvant de migration, un mélange éther de pétrole-éther, dans les proportions volu-

platine à raison de 0,1 mg pour 2 mg de protéines (appareil « Hössli »).

Par ailleurs, le cholestérol peut être éliminé par chromatographie sur colonne d'Unisil (100-200 mesh). L'élution s'effectue par du chloroforme. Les lipides autres que le cholestérol, retenus sur la colonne, sont extraits par un mélange de chloroforme et de méthanol dans le rapport volumique 2/1 puis dans le rapport volumique 1/2 [1].

Enfin, les diméthylacétals, obtenus par méthanolyse des plasmalogènes sont isolés selon la méthode de Fahrquhar [8].

RESULTATS.

Ils sont résumés dans les tableaux I et II. Les pourcentages sont calculés par rapport à l'activité

totale retrouvée après chromatographie et exprimés sur l'imprimante « Kienzle ».

Les rendements des différentes réactions (tableau III) sont calculés par rapport à la radioactivité totale se trouvant dans l'incubateur. Ils sont exprimés en pourcentage et en nombre de coups par minute (cpm). Les réactions ayant les rendements les plus faibles mettent en jeu l'incorporation du

phase gazeuse est telle que les résultats exprimés sur l'imprimante représentent 30 p. cent de la radioactivité injectée. Pour 50 cpm on notera donc 15, ce qui correspond à la sensibilité minimum de l'appareil comprise entre 10 et 20.

La précision des résultats est fonction de la radioactivité inhérente à chaque pic. Lorsque les pourcentages indiqués dans les tableaux I et II

TABLEAU IV.

Quantité absolue d'acides gras synthétisés dans la fraction « 10-20 p. cent ».

Réactions (" 10-20 p. cent " - 700 µg)	Rendement de la réaction (nombre de cpm)	Nombre de cpm selon la longueur de chaîne des acides gras synthétisés					
		C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>
Palmitoyl - CoA + Malonyl - CoA [1 - 3 <sup>14</sup> C]	T	—	446	18.509	1.338	669	1.338
	Qk	—	312	4.784	104	—	—
Stéaryl - CoA + Malonyl - CoA [1 - 3 <sup>14</sup> C]	T	—	399	1.653	1.425	513	1.710
	Qk	—	250	320	430	—	—
Malonyl - CoA [1 - 3 <sup>14</sup> C]	T	20	460	300	30	130	60
	Qk	—	270	245	35	—	—

TABLEAU V.

Pourcentage d'acides gras synthétisés en présence d'acetyl-CoA 1-<sup>14</sup>C et de malonyl-CoA dans la fraction « 10-20 p. cent ».

Réactions (" 10-20 p. cent " - 700 µ)	Longueur de chaîne des acides gras					Taux de transformation (p. cent)
	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>20</sub>	C <sub>22</sub>	C <sub>24</sub>	
Palmitoyl - CoA [1- <sup>14</sup> C] + Malonyl - CoA	T	79	15	2	2	21
	Qk	90	10	—	—	10
Stéaryl - CoA [1- <sup>14</sup> C] + Malonyl - CoA	T	—	93	3	1	7
	Qk	—	97	3	—	3

malonyl-CoA seul ou en présence d'acetyl-CoA dans la fraction « 10-20 p. cent ». Rappelons que les incubations sont effectuées en présence de 10 fois plus de protéines et de substrats que les concentrations unitaires indiquées. Dans ces conditions le nombre minimum de cpm utilisables pour la chromatographie en phase gazeuse est de l'ordre de 5 000 cpm. En regardant la répartition de la radioactivité dans les différents pics (tableaux I et II), on constate que le pourcentage est de 1 p. cent ce qui correspond donc à 50 cpm. La conception de l'appareil de chromatographie en

sont inférieurs à 5 p. cent, il faut admettre une précision de l'ordre de 50 p. cent. Lorsque les pourcentages sont compris entre 10 et 50 p. cent, elle atteint 10 p. cent. Au-delà, elle est supérieure à 5 p. cent.

## DISCUSSION.

I — ACTIVITÉ D'ALLONGEMENT (fraction « 10 - 20 p. cent »).

1) — Etude sur les souris non mutantes.

a) — Il se trouve confirmé que la fraction « 10 - 20 p. cent » est bien responsable de l'activité d'al-

longement dans les microsomes, la fraction « 30-50 p. cent » ne conduisant à aucun acide gras de longueur de chaîne supérieure à 18 atomes de carbone.

Il a été montré [4] que la malonyl-CoA-décarboxylase n'est pas présente dans la fraction « 10-20 p. cent », l'incorporation du malonyl-CoA seul est donc due uniquement à l'allongement des acides gras endogènes. L'étude des produits de la réaction dans cette fraction confirme ces résultats, le malonyl-CoA seul conduit à des acides gras à 24 atomes de carbone.

— La présence d'acyl-CoA modifie considérablement le profil d'incorporation du malonyl-CoA. Le palmitoyl-CoA inhibe fortement l'incorporation du malonyl-CoA au niveau du  $C_{16}$  au profit presque exclusivement du  $C_{18}$ . Le stéaryl-CoA lui, favorise très nettement la synthèse des longues chaînes au-delà du  $C_{20}$ .

— Il faut enfin noter le rôle particulier joué par les acides à 22 atomes de carbone. Dans la fraction « 10-20 p. cent » l'incorporation du malonyl-CoA en présence d'acyl-CoA au niveau du  $C_{22}$  est diminuée même en présence de stéaryl-CoA.

#### b) — Allongement des acyl-CoA.

Si les acyl-CoA sont radioactifs, le palmitoyl-CoA est presque exclusivement allongé en  $C_{18}$ , alors que le stéaryl-CoA conduit aux acides à 24 atomes de carbone. Ainsi se trouve bien confirmée l'existence d'au moins deux systèmes d'allongement microsomal des acides gras précédemment envisagée [4]. L'allongement au-delà du  $C_{18}$  observé en présence de palmitoyl-CoA [ $1-^{14}C$ ] peut s'expliquer par la mise en route du 2<sup>e</sup> système enzymatique par suite de la présence importante d'acides en  $C_{18}$ .

#### 2) — Comparaison entre les souris non mutantes et les souris « Qk ».

a) — L'incorporation du malonyl-CoA est considérablement modifiée chez les « quaking ». Les acides gras au-delà de  $C_{20}$  ne sont plus synthétisés (tableau I).

La comparaison peut être également effectuée en quantité absolue (tableau IV) en tenant compte des rendements de réaction différents chez les souris non mutantes et chez les souris « quaking » (tableau III). Pour une même concentration en protéines et une même radioactivité du substrat de départ, l'allongement des acides gras endogènes par le malonyl-CoA seul conduit à une accumulation relative (tableau I) au niveau du  $C_{20}$  par rapport aux souris non mutantes, alors que dans l'absolu, il n'y en a pas (tableau IV). En présence d'acyl-CoA on note une diminution de la teneur

absolue en  $C_{20}$  (tableau IV) chez le mutant malgré une accumulation relative en présence de stéaryl-CoA (tableau I).

#### b) — Allongement des acyl-CoA.

Chez le mutant, l'allongement du palmitoyl-CoA [ $1-^{14}C$ ] conduit exclusivement au  $C_{18}$ , celui du stéaryl-CoA [ $1-^{14}C$ ] au  $C_{20}$ . Si l'on compare le taux de transformation de ces acyl-CoA (tableau V), il est environ 2 fois plus faible chez les souris « quaking ». Ces taux sont calculés par rapport à l'activité totale retrouvée après chromatographie et exprimée sur l'imprimante « Kienze ». Les pourcentages relatifs de  $C_{20}$  synthétisé à partir de stéaryl-CoA chez les souris non mutantes et « quaking » sont identiques (3 p. cent).

c) — De ces résultats on peut en déduire que le 1<sup>er</sup> système d'allongement des acides gras, conduisant du  $C_{16}$  au  $C_{18}$ , est qualitativement normal chez les souris « quaking ». Le deuxième système par contre ne conduit exclusivement qu'au  $C_{20}$ . La teneur en  $C_{20}$  est diminuée chez les « quaking » : l'incorporation du malonyl- [ $1-3-^{14}C$ ] - CoA pour une même concentration en protéines, ne fournit que 10 p. cent du  $C_{20}$  observé chez les « normales » en présence de palmitoyl-CoA et 30 p. cent en présence de stéaryl-CoA. Il faut alors admettre que le deuxième système est perturbé chez les « quaking » mais pas totalement inhibé, l'inhibition serait cependant suffisante pour que les acides en  $C_{22}$  et  $C_{24}$  ne soient synthétisés qu'à l'état de traces, non détectables. Cependant l'accumulation relative de  $C_{20}$  reste difficilement explicable. Il faudrait éventuellement admettre l'existence d'une étape intermédiaire conduisant du  $C_{18}$  au  $C_{20}$ , précédant la synthèse des acides gras à très longue chaîne. Cette hypothèse devrait être confirmée par l'étude de l'allongement de l'arachidyl-CoA par le malonyl-CoA. Si ceci s'avère exact, l'allongement conduisant des acides en  $C_{20}$  aux acides en  $C_{24}$  serait sélectivement perturbé chez les « quaking ».

## II — ACTIVITÉ SYNTHÉTASIQUE DE TYPE « de novo ».

### 1) — Etude sur les souris non mutantes.

Elle se situe essentiellement dans la fraction « 30-50 p. cent » et fournit les acides en  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  (tableau II).

a) — L'incorporation du malonyl-CoA dans « 30-50 p. cent », ainsi que dans la fraction soluble « S 25-35 p. cent », est due essentiellement à l'action de la malonyl-CoA-décarboxylase qui le transforme en acétyl-CoA [4].

Il faut noter que la présence d'acétyl-CoA aussi bien dans « 10-20 p. cent » que dans « 30-50 p.

cent » et « S 25-35 p. cent », favorise l'incorporation du malonyl-CoA au niveau des acides gras à courte chaîne (le pourcentage du  $C_{16}$  augmente). Ce problème de la régulation de la biosynthèse des acides gras par l'acétyl-CoA a déjà été envisagé [9], à propos de la levure [10], à partir des glandes mammaires de lapin [11] et du foie de rat [12]. Les concentrations respectives en malonyl-CoA et en acétyl-CoA semblent jouer un grand rôle.

b) — La réaction de *synthèse de type « de novo »* en présence d'acétyl-CoA [ $1-^{14}C$ ] et de malonyl-CoA existe bien dans les microsomes et particulièrement dans « 30-50 p. cent ».

On observe une réaction analogue dans « 10-20 p. cent ». Qualitativement les produits  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ , sont les mêmes que dans « 30-50 p. cent », cependant dans « 10-20 p. cent » la teneur en  $C_{18}$  est plus importante aux dépens, semble-t-il, du  $C_{16}$ . Cette activité peut être expliquée de deux façons différentes :

— on peut penser que l'activité synthétasique de type « *de novo* » des microsomes se trouve dans cette fraction « 10-20 p. cent ». Les procédés de préparation dissocient le complexe enzymatique responsable qui se retrouve alors dans « 30-50 p. cent ».

— on peut également faire intervenir l'acétyl-CoA-carboxylase mise en évidence dans « 10-20 p. cent » [4]. Cette enzyme, en l'absence d'ATP et de  $Mn^{++}$  y a une activité très faible. Il pourrait alors y avoir une incorporation de malonyl-CoA radioactif en présence d'un excès d'acétyl-CoA. Or l'acétyl-CoA favorise l'incorporation du malonyl-CoA dans les courtes chaînes. Ainsi pourrait-on expliquer l'absence d'activité au-delà du  $C_{20}$  et les fortes proportions en  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ . On peut penser, vu la faible activité de la réaction « acétyl-CoA [ $1-^{14}C$ ] + malonyl-CoA » dans « 10-20 p. cent » que les acides gras en  $C_{22}$  et  $C_{24}$  synthétisés se trouvent à l'état de traces non détectables.

La première hypothèse peut également rester valable, les proportions des divers acides gras pouvant varier avec la concentration en protéines. La synthétase « *de novo* » dans « 30-50 p. cent » est testée pour 650  $\mu g$  de protéines et celle de « 10-20 p. cent » pour 700  $\mu g$ . Il semble cependant peu probable que pour une si faible variation de la teneur en protéines (compte tenu de la précision du dosage qui est de l'ordre de 10 p. cent), les variations des proportions en  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  soient si importantes. Il semble donc plus plausible que l'activité « acétyl-CoA [ $1-^{14}C$ ] + malonyl-CoA » observée dans « 10-20 p. cent » soit due essentiellement à l'action de l'acétyl-CoA-carboxy-

lase et consiste donc uniquement en un allongement des acides gras endogènes par le malonyl-CoA.

c) — Enfin qualitativement et quantitativement les deux fractions microsomales « 30-50 p. cent » et « soluble » « S 25-35 p. cent » diffèrent très peu. Seules les études enzymatiques ont permis de différencier ces deux fractions.

2) — *Comparaison entre les souris non mutantes et les souris « quaking ».*

L'activité synthétasique de type « *de novo* » dans les microsomes « 30-50 p. cent » n'est qualitativement pas perturbée, de même que celle de la fraction soluble « S 25-35 p. cent » (tableau II). Quantitativement, les rendements sont plus faibles chez les « quaking » (tableau III).

### III — ACTIVITÉ DE LA FRACTION « MICROSOMES TOTAUX ».

Dans cette fraction, l'incorporation du malonyl-CoA [ $1-3-^{14}C$ ] est due à l'allongement des acides gras endogènes et à la réaction de synthèse « *de novo* » par l'intermédiaire de la malonyl-CoA-décarboxylase [4]. L'action de cette dernière est visible par le fait que l'on observe par rapport à « 10-20 p. cent » une plus forte teneur en  $C_{16}$  et une diminution du pourcentage des acides gras en  $C_{20}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{24}$ . Ces remarques sont également valables pour l'incorporation du malonyl-CoA- $[1-^{14}C]$  en présence d'acyl-CoA (tableau I).

— L'allongement du palmitoyl-CoA [ $1-^{14}C$ ] est peu modifié par rapport à « 10-20 p. cent », par contre celui du stéaryl-CoA [ $1-^{14}C$ ] conduit à davantage de  $C_{20}$  (tableau I). Si l'on admet l'hypothèse du système de synthèse intermédiaire «  $C_{18}-C_{20}$  », on peut alors penser que le 3<sup>e</sup> système «  $C_{20}-C_{24}$  » serait inhibé dans les « microsomes totaux » et non dans la fraction purifiée (« 10-20 p. cent »).

— Enfin, la synthétase « *de novo* » dans les microsomes totaux conduit à des équivalents à ceux de la fraction « 30-50 p. cent » (tableau II). L'acétyl-CoA-carboxylase semble donc être totalement inhibée dans les « microsomes totaux », ce qui explique la non incorporation, dans cette fraction, de l'acétyl-CoA seul [4].

### IV — RENDEMENT DES RÉACTIONS.

1) — *Souris non mutantes.*

D'après le tableau III on constate que les rendements des réactions sont très faibles, aussi bien dans la fraction « microsomes totaux » que dans

les fractions « 10-20 p. cent » et « 30-50 p. cent ». Ceci peut s'expliquer par le fait que ces fractions sont insuffisamment purifiées, mais également par l'intervention d'une thiolase [13] hydrolysant les acyl-CoA en acides gras libres, composés inactifs pour la biosynthèse des acides gras [4].

Les réactions présentant les plus faibles rendements dans « 10-20 p. cent » sont celles faisant intervenir l'incorporation du malonyl-CoA seul ou en présence d'acétyl-CoA, et la réaction en présence d'acétyl-CoA [ $1-^{14}\text{C}$ ]. Cette dernière réaction étant due à la très faible activité de l'acétyl-CoA-carboxylase, le rendement ne peut être que très bas. Dans les « microsomes totaux » ces systèmes sont plus actifs par suite de l'intervention de la synthétase de type « *de novo* ».

La fraction « S 25-35 p. cent » est nettement plus active que la fraction microsomale. Les enzymes « solubles » sont plus facilement purifiables que les enzymes membranaires.

2) — *Comparaison entre les souris non mutantes et les souris « quaking ».*

Dans tous les cas, les rendements sont plus faibles chez les souris « quaking ».

— Des études précédentes [6] ont montré que les enzymes de synthèse « *de novo* » des fractions solubles « normales » et « quaking » avaient la même affinité pour leur substrat. Les rendements réactionnels étant diminués chez le mutant il faut admettre que, chez ce dernier, pour une même concentration en protéines, la quantité d'enzyme est plus faible.

— On peut d'autre part affirmer que tous les systèmes de biosynthèse des acides gras dans les microsomes et dans la fraction soluble sont moins actifs chez la souris « quaking ». Cette différence est encore plus marquée au niveau des microsomes et principalement au niveau des systèmes synthétisant les longues chaînes.

Par ailleurs, pour un même poids de cerveaux, la teneur en protéines microsomales est plus faible chez les « quaking ». Enfin, pour une même quan-

tité de protéines, la teneur en enzyme y est moins importante. Des études sont en cours pour comparer qualitativement, par électrophorèse, la composition des protéines microsomales « normales » et « quaking ».

Ce travail a bénéficié de l'aide financière de l'I.N.S.E.R.M., de la D.G.R.S.T. et de la Société Astra-Calvé.

#### RÉSUMÉ.

L'étude par chromatographie en phase gazeuse des produits de la biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveaux de souris confirme l'existence d'un système de synthèse de type « *de novo* » à partir d'acétyl-CoA et de malonyl-CoA et d'au moins deux systèmes d'allongement des acides gras à longue chaîne par le malonyl-CoA. La possibilité d'un système intermédiaire conduisant des acides en  $\text{C}_{18}$  aux acides en  $\text{C}_{20}$  est envisagée.

La comparaison entre les souris non mutantes et les souris « quaking » indique que chez ces dernières l'activité de tous les systèmes microsomaux de synthèse des acides gras est diminuée. Le système de biosynthèse des acides gras au-delà du  $\text{C}_{18}$  est qualitativement et quantitativement le plus perturbé chez les « quaking ». Le système de type « *de novo* » microsomal et « soluble » n'est qualitativement pas atteint.

#### BIBLIOGRAPHIE.

1. Baumann, N. A., Jacque, C., Pollet, N., & Harpin, M. L. (1968) *European J. Biochem.*, **4**, 340-344.
2. Jacque, C., Harpin, M. L. & Baumann, N. A. (1969) *European J. Biochem.*, **11**, 218-224.
3. Bourre, J. M., Pollet, S., Daudu, O. & Baumann, N. A. (1973) *Brain Res.*, **51**, 225-239.
4. Pollet, S., Bourre, J. M., Chaix, G., Daudu, O. & Baumann, N. A. (1973) *Biochimie*, **55**, 333-341.
5. Bourre, J. M., Pollet, S., Daudu, O. & Baumann, N. A. (1971) *C. R. Acad. Sci.*, **273**, série D, 1534-1537.
6. Pollet, S., Bourre, J. M., Baumann, N. A. (1969) *C. R. Acad. Sci.*, **268**, série D, 2146-2149.
7. Morrisson, W. R. & Smith, L. M. (1964) *J. Lipid. Res.*, **5**, 600-608.
8. Fahrquhar, J. W. (1962) *J. Lipid. Res.*, **3-1**, 21-30.
9. Zakim, D. & Herman, R. H. (1969) *Amer. J. Clin. Nutr.*, **22-2**, 200-213.
10. Sumper, M., Oesterhelt, D., Riepertinger, C. & Lynen, F. (1969) *Eur. J. Biochem.*, **10**, 377-387.
11. Hansen, H. J. M., Carey, E. M. & Dils, R. (1970) *Biochem. Biophys. Acta*, **210**, 400-410.
12. Carey, E. M. & Dils, R. (1970) *Biochem. J.*, **117**, 633-635.
13. Pollet, S., Bourre, J. M., Daudu, O. & Baumann, N. (1971) *C. R. Acad. Sci.*, **273**, série D, 1632-1635.