

BIOCHIMIE. — *Biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveau de souris*. Note (*) de MM. Serge Pollet, Jean-Marie Bourre, M^{lles} Odile Daudu et Nicole Baumann, présentée par M. Etienne Wolff.

La biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveau de souris fait intervenir trois systèmes : le premier de type *de novo*, le deuxième allonge le C₁₆ en C₁₈, le troisième donne à partir du C₁₈ des acides gras à chaînes plus longues.

La biosynthèse des acides gras dans les microsomes de cerveau de souris fait intervenir plusieurs systèmes : le premier de type *de novo*, le deuxième à partir du C₁₆ donne du C₁₈, le troisième transforme ce dernier en acides gras à longue chaîne (¹). La chromatographie en phase gazeuse, avec détection des pics radioactifs (⁴) et la cinétique d'incorporation des substrats confirment ces résultats.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les microsomes de cerveau de souris de 18 jours, période d'active myélinisation, sont préparés selon la technique habituelle (¹). Leur pureté est vérifiée par microscopie électronique et par dosage des enzymes « marqueurs » (absence d'enzymes mitochondriales et solubles). Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry (²). Une purification peut être effectuée par une coupe au sulfate d'ammonium à 25 % de saturation en sulfate.

Les milieux d'incubation sont constitués par : Acyl-CoA 50 nM, Malonyl-CoA 1-3 ¹⁴C (2 mC/mM) 50 nM, NADPH 500 nM, tampon phosphate de K 0,1 M pH 6,9, saccharose 0,32 M, NaCl 0,9 % : q. s. p. 1 ml. Acyl-CoA ou Malonyl-CoA peuvent être tour à tour radioactifs. L'incubation, faite à 37° pendant 30 mn, est arrêtée par 0,5 ml de potasse méthanolique à 15 %. L'incubat est hydrolysé à 100° pendant 30 mn. Après acidification, l'extraction des acides gras se fait par 2 fois 5 ml d'éther de pétrole. Les produits radioactifs sont détectés par un compteur à scintillation liquide.

Enfin, l'extrait est éventuellement méthylé selon la technique de Morrisson et Smith (³) et les esters d'acides gras obtenus sont chromatographiés sur colonne de silicone avec comptage automatique de la radioactivité de l'éluat (⁴).

RÉSULTATS. — 1. Les substrats de l'allongement sont bien les dérivés Acyl-CoA et non les acides gras libres, comme l'indique la courbe 1 ; l'addition d'acides palmitique ou stéarique ne change rien à l'incorporation du malonyl-CoA.

2. Le tableau ci-après montre qu'en présence d'acétyl-CoA 1 ¹⁴C et de malonyl-CoA, la synthétase fonctionne dans les microsomes, d'autant plus que l'acétyl-CoA, seul, n'est pas incorporé.

Avec du malonyl-CoA utilisé seul, il semble y avoir un allongement des acides gras endogènes en plus de la synthétase, ce qui a déjà été démontré par décarboxylation (¹).

Le palmityl-CoA 1 ¹⁴C est principalement allongé en acide stéarique. Il existe

(2)

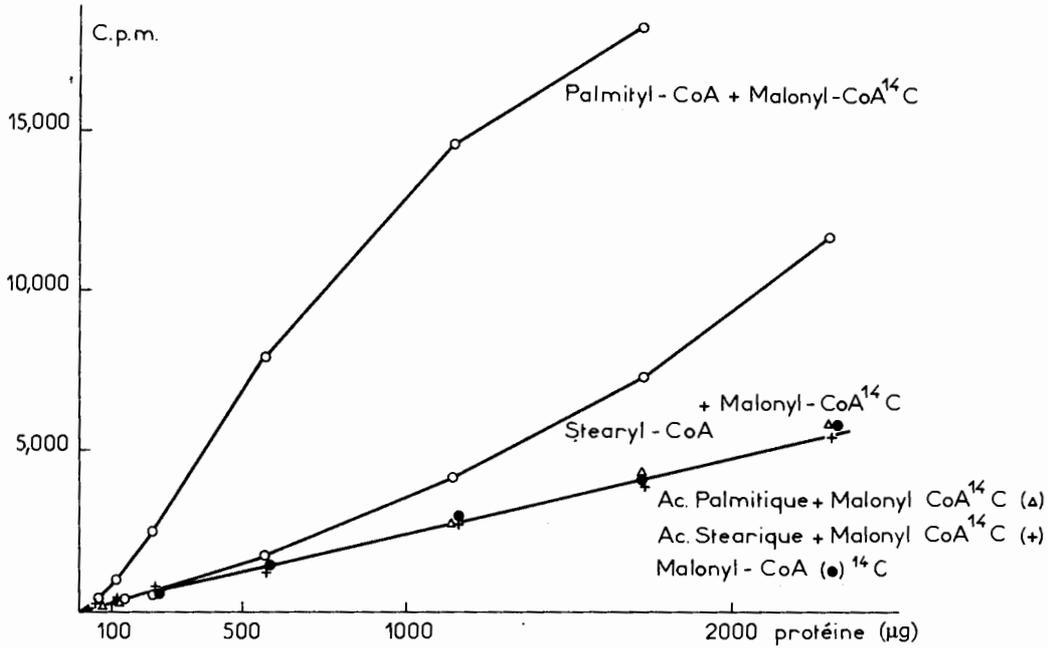


Fig. 1. — Variation de la biosynthèse des acides gras à longue chaîne dans les microsomes en fonction des différents substrats et de la concentration en protéine

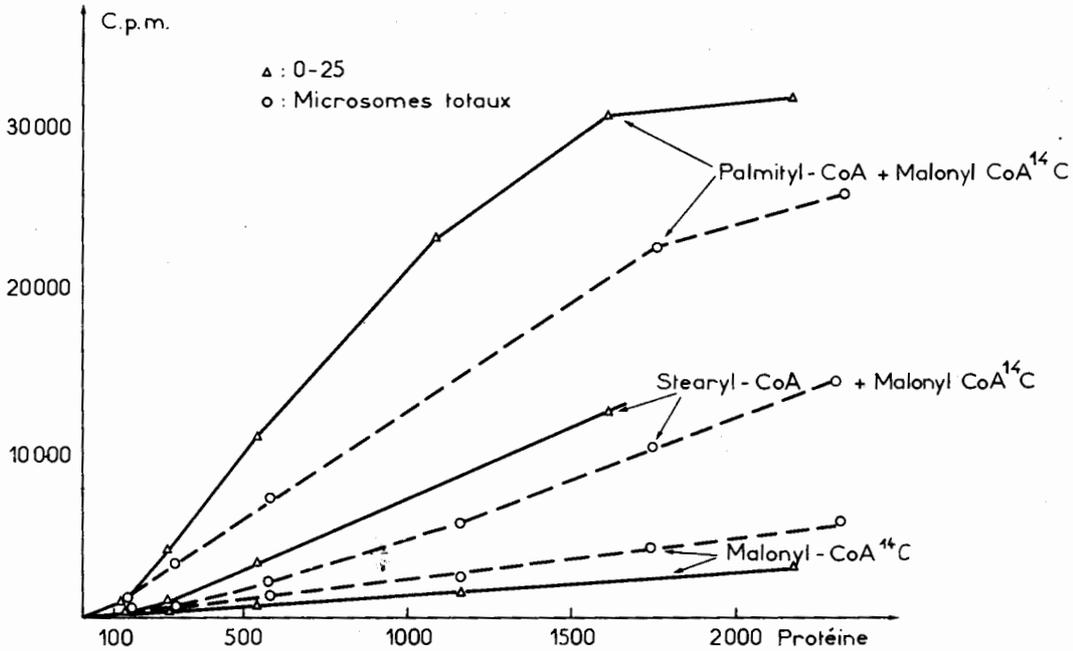


Fig. 2. — Purification des systèmes d'allongement par le sulfate d'ammonium

TABLEAU

Allongement dans les microsomes
Biosynthèse des acides gras à longue chaîne dans les microsomes de cerveau de souris

Longueur de chaîne.....	C _{18αOH} + C ₂₂ +				
	C ₁₆ %	C ₁₈ %	C ₂₀ %	C _{20αOH} %	C ₂₄ %
Substrats :					
Acétyl-CoA ¹⁴ C + Malonyl-CoA.....	97	3	—	—	—
Malonyl-CoA ¹⁴ C.....	69	21	10	—	—
Palmityl-CoA + Malonyl-CoA ¹⁴ C.....	6	77	5	7	5
Palmityl-CoA ¹⁴ C + Malonyl-CoA.....	—	95	3	0,5	1,5
Stéaryl-CoA + Malonyl-CoA ¹⁴ C.....	23	34	20	11	12
Stéaryl-CoA ¹⁴ C + Malonyl-CoA.....	—	—	78,5	10,5	11

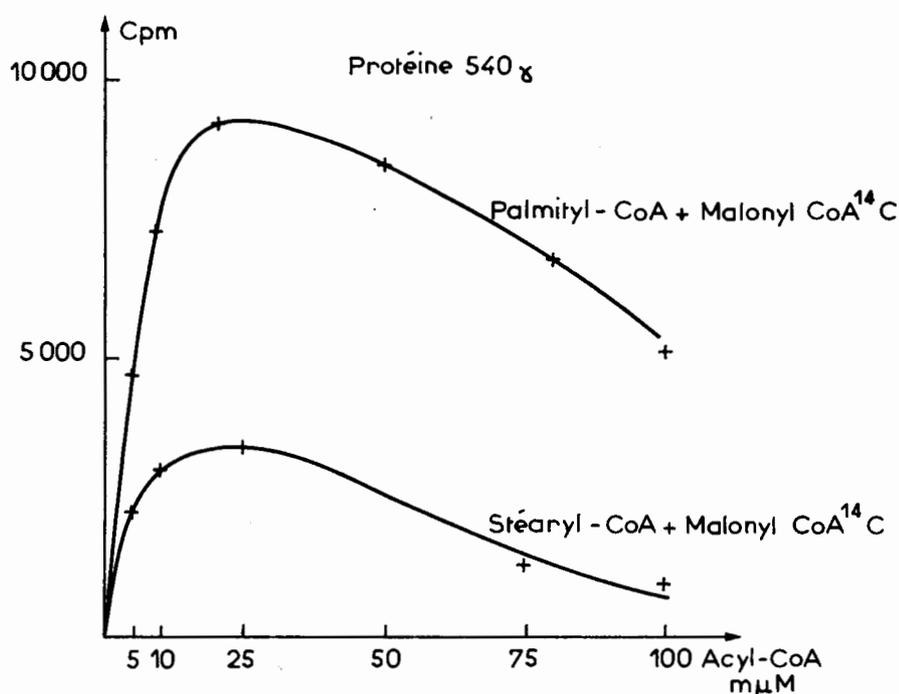


Fig. 3. — A quantité de protéine identique, variation de l'incorporation du malonyl CoA à différentes concentrations d'acyl-CoA

à côté une faible incorporation de malonyl-CoA dans les acides gras à chaîne plus longue.

Le stéaryl-CoA ¹⁴C est surtout allongé en acide à 20 atomes de carbone, les proportions de C₂₂ et C₂₄ sont plus importantes que pour le palmityl-CoA.

En utilisant des acyl-CoA non radioactifs, les proportions sont modifiées, montrant une augmentation de l'incorporation du malonyl-CoA 1-3 ¹⁴C dans les acides gras à longue chaîne.

3. Sur les microsomes une « coupe » au sulfate d'ammonium à 25 % de saturation entraîne une purification des systèmes d'allongement des acyl-CoA, comme l'indique la figure 2. L'incorporation du malonyl-CoA seul, dans cette fraction, est diminuée.

En faisant varier les concentrations en acyl-CoA, il est possible de confirmer l'existence de 2 systèmes (*fig. 3*).

DISCUSSION. — L'existence de deux systèmes d'allongement synthétisant des acides gras à longue chaîne se trouve donc confirmée par l'étude de la cinétique et des produits de la réaction. Le premier système allonge le palmityl-CoA de deux atomes de carbone. L'activité trouvée au-delà est due à un allongement ultérieur de l'acide stéarique ainsi formée, mettant en jeu le deuxième système. Celui-ci synthétise les acides gras à chaîne plus longue, comme le montre l'allongement du stéaryl-CoA.

Après incubation en présence de palmityl-CoA non radioactif et de malonyl CoA 1-3 ^{14}C , on note une proportion plus importante d'acides gras en C_{20} , C_{22} , C_{24} . Le palmityl-CoA favorise donc l'allongement endogène. Par contre le stéaryl-CoA ne présente pas cet effet.

Enfin comme le système *de novo* soluble, la synthétase des microsomes est inhibée par le palmityl-CoA et, en proportion moindre, par le stéaryl-CoA.

(*) Séance du 2 août 1971.

(1) J.-M. BOURRE, S. POLLET, G. DUBOIS et N. BAUMANN, *Comptes rendus*, 271, Série D, 1970, p. 1221-1223.

(2) O. LOWRY, *J. Biol. Chem.*, 193, 1951, p. 265.

(3) W. R. MORRISON et L. M. SMITH, *J. Lipid. Res.*, 5, 1964, p. 600.

(4) M. le Professeur Mazliak a bien voulu nous permettre d'utiliser son appareil.

Laboratoire de Neurochimie, INSERM,
Clinique des Maladies du Système Nerveux,
CHU, Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75-Paris.