

BIOCHIMIE. — *Constitution électrophorétique des histones de germes de différents types de blés*. Note (\*) de MM. **Jean-Claude Autran** et **Albert Bourdet** <sup>(1)</sup>, présentée par M. Jean Roche.

Alors que les nucléohistones isolées du germe de blé et du thymus de veau présentent une composition nucléique et protéique pratiquement identique, les histones isolées de ces mêmes tissus, soumises à des conditions d'électrophorèse en gel de polyacrylamide nouvellement mises au point, se révèlent totalement différentes quant à leur constitution.

Fractionnées dans les mêmes conditions, les histones isolées du germe et de l'albumen d'une même variété ainsi que celles provenant de types de blés de caractéristiques génétiques culturales et technologiques très dissemblables, conduisent au contraire à des diagrammes ne présentant que des différences qualitativement et quantitativement mineures, témoignant ainsi de la grande similarité de constitution entre différentes espèces et variétés du genre *Triticum*.

Les quelques travaux récents relatifs aux histones de germe de blé relèvent surtout de préoccupations physiologiques de sorte qu'on ne possède actuellement aucune information sur l'aspect génétique de leur constitution. En outre les techniques d'électrophorèse en gel d'amidon [(2), (3)], ou de polyacrylamide [(4) à (8)], mises à profit pour le fractionnement de ces histones semblent avoir conduit à des résolutions insuffisantes.

La présente Note fait état de nouvelles conditions d'électrophorèse en gel de polyacrylamide, améliorant la qualité des fractionnements réalisés antérieurement, et de leur application à l'étude comparée des histones isolées de germes de différentes espèces et variétés de blés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — 5 variétés de *Triticum durum*, 1 variété de *T. compactum* et 24 variétés de *T. aestivum* (représentatives des principaux types de blés d'hiver et de printemps d'origine française et américaine) ont été examinées.

Les germes ont été séparés des grains par une série d'opérations sur moulin expérimental, inspirées du procédé industriel, et obtenus à l'état de préparations très purifiées.

Les nucléohistones, puis les histones, ont été isolées selon l'adaptation de la technique de Mirsky et Pollister <sup>(9)</sup> précédemment décrite <sup>(3)</sup>. Les préparations protéiques du type globulines et gluténines dont il est fait état ont été obtenues dans les conditions décrites par Bourdet et Feillet <sup>(10)</sup>.

Histones et autres protéines ont été examinées en électrophorèse sur gel de polyacrylamide, selon une modification de la technique de Panyim et Chalkley <sup>(11)</sup> portant sur la teneur de méthylène bis-acrylamide et les conditions de préparation du gel, permettant l'électrophorèse en plaques et non en tubes. Les gels utilisés sont à 15 % d'acrylamide, 6,25 M urée, en tampon acétate, pH 3,2. La distance de migration des histones est voisine de 10 cm en 4 h 30 à 6 V/cm.

RÉSULTATS ET DISCUSSION. — Les nucléohistones du germe, isolées et purifiées, contiennent en moyenne 40 % d'ADN, 1,5 % d'ARN et 58,5 % de protéines, composition très proche de celle de la nucléohistone de thymus de veau (40 % ADN, 1,9 % ARN et 58,1 % protéines), prise habituellement comme référence <sup>(12)</sup>.

Les protéines acido-solubles du type histone constituent 75 % des protéines totales de la nucléohistone et présentent une teneur élevée en lysine et arginine (28 % des acides aminés totaux); 25 % des protéines totales demeurent dans le résidu ADN, après extraction acide de l'histone.

L'histone du germe représente donc environ 45 % de la nucléohistone, ce qui conduit à un rapport histone/ADN voisin de 1,1. Le même rapport, chez la nucléohistone de thymus est de l'ordre de 1,1 à 1,2<sup>(13)</sup>.

La méthode décrite permet d'obtenir environ 900 mg d'histone pure à partir de 100 g de germes frais (teneurs respectives en ADN et en histone : 925 et 1 015 mg/100 g), soit un rendement en histone de 85 à 90 %, nettement supérieur à celui qui ressort des travaux de Johns et Butler<sup>(2)</sup> : 35 % environ.

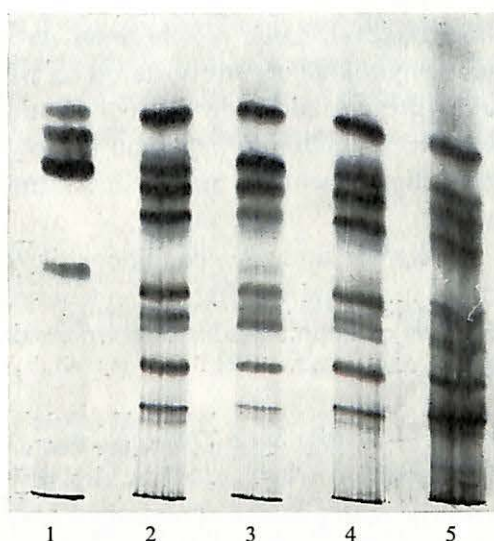


Fig. 1. — Electrophorèse à pH 3,2 : 1. Histone de thymus ; 2. Histone de germes ; 3. Histone de farine ; 4. Gluténine purifiée de germes ; 5. Globuline de farine

Pour vérifier le bien-fondé des analogies de constitution observées antérieurement en gel d'amidon<sup>(3)</sup> entre les histones isolées du germe ou de l'albumen de blé et les préparations classiques du type globulines et gluténines, on a appliqué à ces différentes protéines les nouvelles conditions d'électrophorèse en gel de polyacrylamide.

La figure 1 montre les diagrammes fournis par les préparations isolées d'une même variété de blé (Cappelle), comparativement à une histone de thymus.

Les différences relativement faibles constatées entre histones de blé et de thymus, en gel d'amidon<sup>(3)</sup>, apparaissent ici de façon très nette : l'histone de thymus est fractionnée en 5-6 bandes, celle de germes en 9-10 bandes, dont la plupart, à l'exception de la bande frontale, présentent des mobilités différentes.

Un autre critère d'identification est obtenu par les colorations bleu foncé, bleu-vert ou turquoise de l'amido-black selon les fractions considérées.

Le fractionnement en gel d'acrylamide atténue sensiblement les différences

quantitatives observées antérieurement entre histone de germe et d'albumen, en gel d'amidon (3) ; au plus, note-t-on une légère prédominance des fractions rapides dans l'histone de germe. L'amélioration des conditions de résolution par l'emploi d'un nouveau support et l'étude d'un matériel génétiquement défini, permet donc de conclure à l'identité de constitution des histones isolées de deux régions histologiques du grain d'une même variété.

La similarité de constitution, par rapport aux histones, des protéines basiques acido-solubles contenues dans les fractions gluténines de germe et globulines d'albumen confirme pleinement nos précédentes observations. Nous avons vérifié par ailleurs que, dans les mêmes conditions de fractionnement, la fraction gliadine isolée de la même variété, manifeste une mobilité très faible qui ne permet en aucune façon de la confondre avec les protéines du type histone.

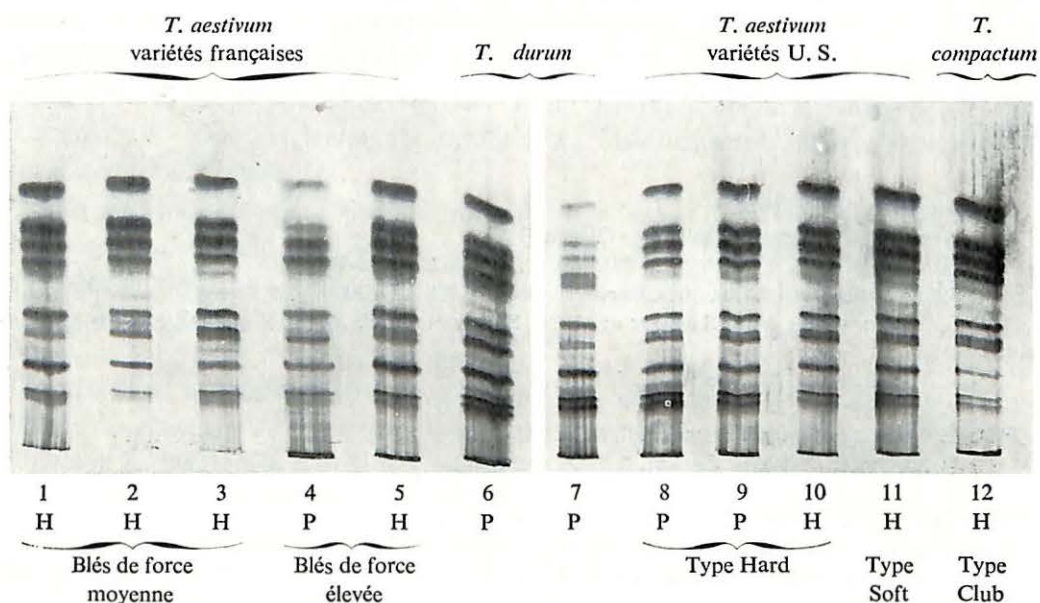


Fig. 2. — Diagrammes électrophorétiques à pH 3,2 d'histones de germes de différents types de blés ; P, blé de printemps ; H, blé d'hiver. Variétés : 1. Joss ; 2. Cappelle ; 3. Capitole ; 4. Atys ; 5. Magdalena ; 6. Montferrier ; 7. Lakota ; 8. Conley ; 9. Selkirk ; 10. Triumph ; 11. Trumbull ; 12. Omar.

La figure 2 reproduit les diagrammes caractéristiques obtenus en comparant, parmi les trente échantillons analysés, les histones de germes de douze espèces et variétés de blés.

Une grande similarité de constitution entre les histones d'origines génétiques différentes ressort de cette comparaison. On peut noter cependant que chez les variétés de l'espèce *Triticum aestivum*, d'origine française, la fraction la plus lente est formée d'une seule bande alors qu'elle est dédoublée chez les blés de la même espèce, d'origine américaine, de même que chez les variétés de *T. durum*, dont les fractions rapides semblent, en outre, de moindre intensité.

Pour l'espèce *T. aestivum*, on ne peut mettre en évidence aucune différence

vraiment significative entre blés de printemps et blés d'hiver, pas plus qu'entre blés de force moyenne et élevée. Par ailleurs, les variétés de la même espèce d'origine américaine semblent se rapprocher à la fois des *T. aestivum* d'origine française et des *T. durum*.

La constitution des histones isolées de blés de caractéristiques génétiques, culturales et technologiques très différentes apparaît donc pratiquement constante. Ces observations sur le plan végétal rejoignent celles déjà rassemblées pour des tissus animaux, montrant la similarité de constitution des histones isolées d'organismes très divers<sup>(13)</sup>.

Il apparaît, en conclusion, que l'étude de la constitution des histones ne permet pas de différencier significativement les variétés et les espèces, chez le blé. Il est possible que l'étude électrophorétique et immunologique de certains composants histones plus spécifiques (fractions riches en lysine) apporte une solution au problème posé. En tout état de cause, cette solution semble pouvoir être fournie plus simplement et sans doute plus rapidement par l'étude de la constitution des protéines de réserve du type gliadines, dont on a déjà rapporté la spécificité sur le plan génétique<sup>(14)</sup>.

(\*) Séance du 10 mai 1971.

(1) Avec la collaboration technique de Ginette Gobin.

(2) E. W. JOHNS et J. A. V. BUTLER, *Biochem. J.*, 84, 1962, p. 436-439.

(3) J.-C. AUTRAN et A. BOURDET, *Comptes rendus*, 271, Série D, 1970, p. 2050-2053.

(4) L. V. GOFSHTEIN, V. I. SAFONOV et N. M. SISAKYAN, *Dokl. Akad. Nauk. URSS*, 167, 5, 1966, p. 1168-1170.

(5) L. V. GOFSHTEIN, *Biokhimiya*, 32, 5, 1967, p. 959-963.

(6) L. V. GOFSHTEIN, *Biokhimiya*, 33, 4, 1968, p. 823-830.

(7) H. TERAOKA, *Plant Cell Physiol.*, 8, 1967, p. 87-95.

(8) H. TERAOKA, *Plant Cell Physiol.*, 9, 1968, p. 819-823.

(9) A. E. MIRSKY et A. W. POLLISTER, *J. of Gen. Physiol.*, 30, 1946, p. 101-116.

(10) A. BOURDET et P. FEILLET, *Cereal Chem.*, 44, 5, 1967, p. 457-482.

(11) S. PANYIM et R. CHALKLEY, *Arch. Biochem. Biophys.*, 130, 1-2, 1969, p. 337-346.

(12) S. N. BORKHSENIUS, L. V. TUROVEROVA, T. I. VINOKUROVA, I. D. IL'INA et V. I. VOROB'EV, *Mol. Biol.*, 3, 4, 1969, p. 507-517.

(13) R. VENDRELY, *Protoplasmatologia*, 5, 3 c, 1966, p. 1-88.

(14) P. FEILLET et A. BOURDET, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 49, 10, 1967, p. 1273-1283.

Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés,  
I. N. R. A., 16, rue Nicolas-Fortin, 75-Paris, 13<sup>e</sup>.