

C. JEUNIAUX. — **Action consécutive de deux enzymes différents au cours de l'hydrolyse complète de la chitine** (*Laboratoires de Biochimie, Université de Liège*).

L'hydrolyse enzymatique complète de la chitine consiste en une succession de dépolymérisations jusqu'au stade acétylglucosamine. L'activité de l'enzyme catalysant les premières dépolymérisations peut être dosée par la méthode néphélométrique (JEUNIAUX, 1951 et 1958), consistant à mesurer la proportion de substrat non solubilisé (processus initial de la chitinolyse). Une deuxième méthode permet de mesurer la quantité de monomères libérés (processus final), par dosage de l'acétylglucosamine (REISSIG, STROMINGER et LELOIR, 1955).

Mesurée par l'une ou l'autre de ces méthodes, l'hydrolyse enzymatique de la chitine par des filtrats de culture de streptomycètes (JEUNIAUX, 1958) progresse comme une réaction

d'ordre 1, pour des concentrations en substrat inférieures à 0.4 mg./ml. Un système d'unités arbitraires a été défini, de telle sorte que, pour un même filtrat de culture, 10 unités d'« activité initiale » correspondent à 10 unités d'« activité finale ».

La distribution de ces deux types d'activité a été suivie au cours de la purification de la chitinase microbienne effectuée par le procédé décrit antérieurement (JEUNIAUX, 1956). Au terme de chacune des étapes de fractionnement, le rapport « activité initiale/activité finale » (au départ = 1) devient successivement 3.37, 4.08 et 4.87. Par contre, dans les fractions écartées, l'activité finale est plus élevée que l'activité initiale : au cours de deux adsorptions successives sur chitine pulvérisée, le rapport « activité initiale/activité finale » des liquides surnageants passe de 1.04 à 0.53 et 0.41.

La méthode utilisée pour la purification de la chitinase permet donc de séparer deux enzymes à action consécutive : une polysaccharidase (= chitinase) transformant la chitine insoluble en petits polymères solubles, et une oligosaccharidase responsable de la libération de l'acétylglucosamine. Ces résultats confirment l'hypothèse de ZECHMEISTER et TOTH (1939) qui proposaient le nom de « chitobiase » pour ce second enzyme.

On trouve cette oligosaccharidase en abondance dans les extraits aqueux de muscles et d'épidermes de larves d'*Ergates faber* (coléoptère) en intermue. Ces extraits ne manifestent aucune activité chitinolytique mesurable par la méthode néphélométrique. Leur addition à la solution de chitinase purifiée restitue complètement l'« activité chitinolytique finale » éliminée au cours de la purification.

## BIBLIOGRAPHIE

- JEUNIAUX, C. (1951). — *Arch. internat. Physiol.*, **59**, 242.  
 JEUNIAUX, C. (1956). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **64**, 522.  
 JEUNIAUX, C. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 408.  
 REISSIG, J. L., STROMINGER, J. L. et LELOIR, L. F. (1955). — *J. biol. Chem.*, **217**, 959.  
 ZECHMEISTER, L. et TOTH, G. (1939). — *Enzymologia*, **7**, 165.

C. JEUNIAUX. — Sur  
 neuse de la carap  
 toires de Biochimie.

La couche mem  
 la carapace des crus  
 et 12 à 15 % de prof  
 gonfle considérablem  
 bue cette gélification  
 de chitinasés épiderm

Chez *Maia squina*  
 constaté une élabor  
 n'est pas limitée à  
 comme chez *Bombyx*  
 aussi pendant tout l

L'action des chitin  
 la transformation de  
 traitée par des chitin  
 braneuse se dissout  
 change pas de consis

En comparant de  
 stades de mue, on c

a) la couche mem  
 en eau distillée, ta  
 absorbe de l'eau ; u  
 solution.

b) une libération  
 accompagne la tran

(1) Travail réalisé à la S  
 ANDRÉ MAYER.

substrat inférieures à  
res a été défini, de telle  
re, 10 unités d' « acti-  
l' « activité finale ».

activité a été suivie au  
microbienne effectuée  
JEUNIAUX, 1956). Au  
ionnement, le rapport  
art = 1) devient suces-  
dans les fractions écar-  
l'activité initiale : au  
r chitine pulvérisée, le  
» des liquides surna-

de la chitinase permet  
consécutives : une poly-  
la chitine insoluble en  
cccharidase responsable  
es résultats confirment  
939) qui proposaient le  
yme.

abondance dans les  
es de larves d'*Ergates*  
s ne manifestent aucune  
méthode néphélomé-  
itine purifiée restitue  
e finale » éliminée au

L., 59, 242.  
l. Bioch., 64, 522.  
l. Bioch., 66, 408.  
R, L. F. (1955). — J. biol.  
mologia, 7, 165.

C. JEUNIAUX. — Sur la gélification de la couche membra-  
neuse de la carapace chez les crabes en mue (*Labora-  
toires de Biochimie, Université de Liège*) (1).

La couche membraneuse, strate interne non calcifiée de la carapace des crustacés, contient environ 73 % de chitine et 12 à 15 % de protéines. Au moment de la mue, cette strate gonfle considérablement (« gélification »). RENAUD (1949) attribue cette gélification à une dégradation de la chitine sous l'action de chitinases épidermiques.

Chez *Maia squinado* et *Cancer pagurus*, nous avons en effet constaté une élaboration de chitinase par l'épiderme ; celle-ci n'est pas limitée à un stade de mue proche de l'exuviation, comme chez *Bombyx mori* (JEUNIAUX, 1957), mais se manifeste aussi pendant tout le cycle d'intermue.

L'action des chitinases sur la chitine ne suffit pas à expliquer la transformation de la couche membraneuse en un gel. En effet, traitée par des chitinases, la chitine purifiée d'une couche membraneuse se dissout en livrant de l'acétylglucosamine, mais ne change pas de consistance.

En comparant des couches membraneuses isolées à divers stades de mue, on constate que :

a) la couche membraneuse des stades d'intermue est stable en eau distillée, tandis que la couche membraneuse gélifiée absorbe de l'eau ; une fraction importante finit par passer en solution.

b) une libération d'acétylglucosamine et d'acides aminés accompagne la transformation de la couche membraneuse nor-

(1) Travail réalisé à la Station biologique de Roscoff, grâce à la Bourse de Voyage ANDRÉ MAYER.

male en une couche membraneuse gélifiée, et cesse lorsque s'achève la gélification (stade D2 de la nomenclature de DRACH, 1939).

c) la fraction soluble des couches membraneuses gélifiées (stades D3, D4) contient des chitinases et des chitobiasés actifs ; elle ne contient ni chitine libre (susceptible d'être hydrolysée par les chitinases purifiées) ni produits de dégradation intermédiaires (hydrolysables par les chitobiasés).

d) une légère modification de la force ionique (NaCl 0.25 M) altère instantanément les solutions des couches membraneuses gélifiées, et provoque la précipitation réversible d'un matériel organique constitué de protéines ou d'acides aminés (réaction de FOLIN-CIOCALTEU) et de chitine, celle-ci n'étant facilement hydrolysable par les chitinases purifiées qu'après traitement par NaOH N à 100°C.

Notre conclusion est que la couche membraneuse est constituée d'une « matrice » de chitine libre et de protéines libres, emprisonnant un complexe chitine-protéine, à propriétés hygroscopiques, résistant à l'hydrolyse par les chitinases et les peptidases. Au cours des stades préparatoires à la mue, la lyse enzymatique de la « matrice » libère progressivement ce complexe glycoprotéique qui, par absorption d'eau, se transforme en un gel.

## BIBLIOGRAPHIE

- DRACH, P. (1939). — *Ann. Inst. océanogr.*, **19**, 103.  
 JEUNIAUX, C. (1957). — dans *Colloque sur les métamorphoses*, Périgueux  
*Act. Soc. linn. Bordeaux*, **97**, 77.  
 RENAUD, L. (1949). — *Ann. Inst. océanogr.*, **24**, 259.

# ARCHIVES PHYSIQUES BIOL

ARCHIVES I  
fondées en 1904

Z. M. BA

RECHERCHES  
II. — PURIFICATION  
D'UNE  
ET SÉPARATION  
DE PRINCIPES

(Institut Léon  
Centre National de Production

IMPRIMERIE H  
4, PLACE

Titre abrégé pour les  
Publication

84591