

Reçu le 24 mars 1964.

CONTRIBUTIONS A LA BIOCHIMIE DU VER A SOIE

XXIX. — COMPOSITION DU COCON,
COMPOSITION DE SA SÉRICINE ET TENEUR DE
L'HÉMOLYMPHE EN ACIDES AMINÉS LIBRES, CHEZ UNE
RACE DE *BOMBYX MORI* A COCON DE SÉRICINE (RACE Nd)

PAR

S. BRICTEUX-GRÉGOIRE, Gh. DUCHÂTEAU-BOSSON, Ch. JEUNIAUX
et M. FLORKIN

(Institut Léon Fredericq, Biochimie; Université de Liège)

(1 figure)

Introduction

La génétique du ver à soie n'a pas, jusqu'à présent, révélé l'existence de mutants présentant une composition anormale de la fibroïne. On connaît un mutant (race Nd) qui ne produit pratiquement pas de fibroïne (0.6 p. 100 du poids du cocon selon WATANABE, 1959), mais qui synthétise une séricine normale quant à sa composition et à sa quantité. Les cocons filés par les vers à soie de race Nd sont, par conséquent, plus légers et plus transparents que ceux des vers à soie normaux (fig. 1).

On sait que la fibroïne est sécrétée par la portion postérieure de la glande séricigène, tandis que la séricine est produite par la paroi du réservoir. Il est difficile d'obtenir, à partir du cocon normal, une préparation pure de séricine. Les manipulations ne permettent pas d'éliminer complètement la fibroïne tandis qu'elles produisent une hydrolyse partielle de la séricine; celle-ci est alors contaminée par certains des produits de sa dégradation. C'est la raison pour laquelle notre connaissance de la composition de la séricine reste incomplète (Littérature : LUCAS *et al.*, 1958). Les analyses de WATANABE (1959), portant sur des cocons de vers à soie de la race Nd se rapprochent beau-

coup plus d'une analyse correcte de la sérine, et, selon elles, les principaux acides aminés de cette protéine sont, dans l'ordre décroissant des pourcentages de leur azote par rapport à l'azote protéique total, la sérine, l'acide aspartique, la glycine et l'arginine, tandis que dans le cas de la fibroïne l'ordre décroissant est le suivant : glycine, alanine, sérine, tyrosine. Comparant, au 6^e jour du 5^e âge larvaire, la composante aminoacide de l'hémolymphe de vers à soie de la race Nd et de vers à soie normaux séparés de l'élevage Nd, WATANABE observe que l'hémolymphe des vers à soie de cette souche, contient plus de glycine, de sérine et de tyrosine, mais pas plus d'alanine.

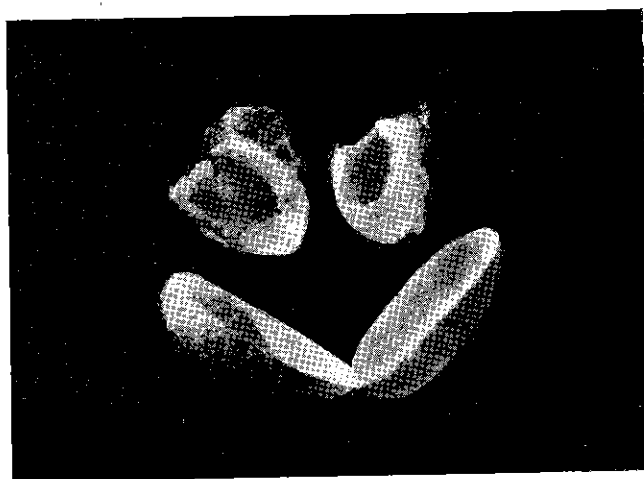


FIG. 1. — Cocons de sérine filés par des vers à soie de race Nd (en haut) comparés à des cocons normaux (en bas).

Nous avons isolé la sérine à partir du cocon de vers à soie de la race Nd dont elle constitue la presque totalité et nous avons déterminé sa composition. Nous avons d'autre part étudié la nature de la composante aminoacide de l'hémolymphe chez des vers à soie de la race Nd, et cela à trois étapes différentes du développement.

Méthodes

Les œufs de *Bombyx mori*, race Nd, nous ont été aimablement procurés par le prof. Tadao WATANABE, à qui vont tous nos remerciements. Leur élevage a été réalisé selon les méthodes en usage dans notre laboratoire (JEUNIAUX et FLORKIN, 1958).

Les acides aminés déterminés par la méthode de MOORE et S.

Quant aux acides aminés, par la méthode de MOORE (1954), sur les résidus d'hydrolyse.

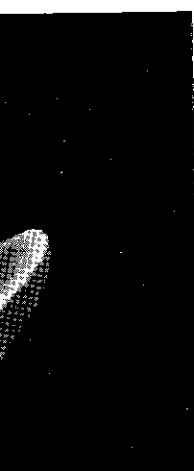
L'analyse de la protéine contient plus de sérine et moins de glycine. Les teneurs de la sérine sont bien le suivant.

Dans sa comparaison de l'hémolymphe de vers à soie normaux séparés de l'élevage Nd, WATANABE (1959) observe qu'il y a plus de glycine, de sérine et de tyrosine que les normales.

On peut d'autre part, 4 jours après la 4^e mue (tableau II) avec des extractions des vers à soie (AMANIEU, DUCHAUX, 1959, Tableau IV); nous observons que la souche Nd contient plus de tyrosine que les normales. Les résultats de l'analyse de la thréonine et de la conclusion.

Dans la souche Nd, la glande n'est pas constituée de l'acide aminé. D'autre part, les réserves sont continues à synthétiser la thréonine, qui est et qui n'est pas.

séricine, et, selon elles, sérine sont, dans l'ordre décroissant par rapport à l'azote, la glycine et l'arginine. Comparant, au aminoacide de l'hémolymph de vers à soie normaux, on observe que l'hémolymph de la souche Nd contient plus de glycine, de sérine et de tyrosine.



cocon de vers à soie de race Nd (en haut) com-

par rapport à l'azote, la glycine et l'arginine. Comparant, au aminoacide de l'hémolymph de vers à soie normaux, on observe que l'hémolymph de la souche Nd contient plus de glycine, de sérine et de tyrosine.

ont été aimablement, à qui vont tous nos, selon les méthodes en et FLORKIN, 1958).

Les acides aminés de la sérine ou de cocons totaux ont été déterminés par la méthode de chromatographie sur colonne selon MOORE et STEIN.

Quant aux acides de l'hémolymph, leur dosage a été effectué par la méthode microbiologique (voir DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1954), sur les dialysats de plasma d'hémolymph, après hydrolyse.

Résultats et discussion

L'analyse de la sérine purifiée (tableau I) confirme qu'elle contient plus de sérine et d'acide aspartique que la fibroïne et moins de glycine et d'alanine, et que l'ordre décroissant des teneurs de la sérine en ses acides aminés les plus abondants est bien le suivant : sérine, acide aspartique, glycine et arginine.

Dans sa comparaison des compositions en acides aminés libres de l'hémolymph de vers à soie de la race Nd et de vers à soie normaux séparés de la souche Nd, au 6^e jour du 5^e âge, WATANABE (1959) observe que l'hémolymph des larves Nd contient plus de glycine, de sérine et de tyrosine que celle des larves normales.

On peut d'autre part comparer les valeurs obtenues au 10^e jour après la 4^e mue pour des vers à soie de la souche Nd (tableau II) avec celles qu'ont fournies dans les mêmes conditions des vers à soie normaux et des individus glandectomisés (AMANIEU, DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1961. Tableau IV) ; nous constatons que, s'il est vrai que les vers à soie de la souche Nd présentent plus de glycine, de sérine et de tyrosine que les témoins, ils ne montrent pas la forte augmentation de thréonine et de proline observée chez les glandectomisés. Les résultats de WATANABE (1959) conduisent à la même conclusion.

Dans la souche Nd, il apparaît donc que la portion postérieure de la glande n'est pas fonctionnelle dans le sens de la prise de constituants de l'hémolymph pour la synthèse de la fibroïne. D'autre part, contrairement à ce qui se passe chez les glandectomisés, le réservoir de la glande des vers à soie de la souche Nd continue à synthétiser la sérine. Nous pouvons donc, quant à la thréonine, qui forme une proportion importante de la sérine et qui n'est pas une composante de la fibroïne, apporter une

TABLEAU I. — *Bombyx mori*, race Nd

	g. acide aminé p. 100 g de sérine ou de cocon				% de l'azote total			
	Sérine I	Sérine II	Cocon	Cocon*	Sérine I	Sérine II	Cocon	Cocon*
Acide aspartique ..	17.8	16.6	17.0	16.33	12.5	12.3	12.1	10.8
Thréonine	7.4	7.0	8.5	6.29	5.8	5.8	6.7	4.7
Sérine	30.7	28.7	29.0	32.00	27.4	27.0	26.1	26.8
Acide glutamique ..	7.3	6.8	5.2	6.02	4.6	4.6	3.3	3.6
Proline	0	0	0	0.63	0	0	0	0.5
Glycine	9.2	8.7	8.9	8.45	11.5	11.4	11.2	9.9
Alanine	4.0	4.1	3.3	3.94	4.3	4.5	3.5	3.9
Valine	3.6	3.6	3.7	2.99	2.8	3.1	3.0	2.3
Isoleucine	0.9	1.0	1.0	0.86	0.6	0.8	0.7	0.6
Leucine	1.7	1.9	1.7	1.45	1.2	1.4	1.2	1.0
Tyrosine	4.0	4.5	4.6	5.10	2.0	2.4	2.4	2.5
Phénylalanine	1.2	1.5	0.4	0.66	0.7	0.9	0.2	0.4
Lysine	4.7	4.3	3.7	3.67	6.0	5.7	4.8	4.4
Histidine	1.7	1.7	1.6	1.38	3.1	3.2	3.0	2.4
Arginine	5.1	5.1	4.9	3.97	10.9	11.6	10.5	8.1
NH ₃	1.7	2.0	1.9	2.11	9.3	11.6	10.6	10.9
Total	101.0	97.5	95.4	95.85	102.7	106.3	99.5	92.8

* WATANABE, 1959

précision à un travail an
GRÉGOIRE, FLORKIN et

TABLEAU II. — *Bombyx mori*
Acides aminés libres

Alanine	
Arginine	
Acide aspartique	
Acide glutamique	
Glycine	
Histidine	
Isoleucine	
Leucine	
Lysine	
Méthionine	
Phénylalanine	
Proline	
Sérine	
Thréonine	
Tyrosine	
Valine	

* Dernière défécation.

vrai que de la thréonine
c'est au niveau du ré
principalement. Ceci es
thréonine injectée n'est
la synthèse de la glyc
DEWANDRE et FLORKIN

L'aminocidémie des
de sérine (BRICTEUX-GRÉGOIRE)
de glycine (DUCHÂTEAU-BRICTEUX)
tyrosine (DUCHÂTEAU-BRICTEUX)
niveau de la portion p
normaux, et l'absence
niveau (DUCHÂTEAU, FLORKIN)

précision à un travail antérieur (DUCHÂTEAU-BOSSON, BRICTEUX-GRÉGOIRE, FLORKIN et JEUNIAUX, 1960) en disant que s'il est

TABLEAU II. — *Bombyx mori*, race Nd. Elevage nourri abondamment
Acides aminés libres de l'hémolymphe, en mg p. 100 ml

	10 jours après la 4 ^e mue	2-3 jours après la DD*	4-5 jours après la nymphose
Alanine	30.8	26.4	29.1
Arginine	15.8	16.1	26.7
Acide aspartique	92.1	25.9	19.4
Acide glutamique	318.7	208.0	382.2
Glycine	246.3	143.7	74.5
Histidine	137.9	92.0	81.0
Isoleucine	15.8	16.7	25.9
Leucine	14.8	17.2	24.3
Lysine	111.1	48.3	114.2
Méthionine	15.8	49.4	87.0
Phénylalanine	14.0	9.2	12.1
Proline	17.7	18.4	72.9
Sérine	153.7	132.2	105.3
Thréonine	76.8	9.2	47.0
Tyrosine	10.3	19.5	40.5
Valine	20.2	12.6	42.9

* Dernière défécation.

vrai que de la théonine, est enlevée au plasma par la glande c'est au niveau du réservoir que ce phénomène s'accomplit principalement. Ceci est encore confirmé par le fait que la thréonine injectée n'est utilisée qu'en très faible proportion pour la synthèse de la glycine de la fibroïne (BRICTEUX-GRÉGOIRE, DEWANDRE et FLORKIN, 1960).

L'aminoacidémie des vers à soie Nd confirme la forte prise de sérine (BRICTEUX-GRÉGOIRE, FLORKIN et JEUNIAUX, 1959), de glycine (DUCHÂTEAU, FLORKIN et JEUNIAUX, 1959) et de tyrosine (DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1962) au niveau de la portion postérieure de la glande des vers à soie normaux, et l'absence d'une prise appréciable d'alanine à ce niveau (DUCHÂTEAU, FLORKIN et JEUNIAUX, 1959).

* WATANABE, 1959

0.6
0.7
1.0
2.5
0.4
4.4
2.4
8.1
10.9
92.8

0.7
1.2
2.4
0.2
4.8
3.0
10.5
10.6
99.5

0.8
1.4
2.4
0.9
5.7
3.2
11.6
11.6
106.3

0.6
1.2
2.0
0.7
6.0
3.1
10.9
9.3
102.7

0.86
1.45
5.10
0.66
3.67
1.38
3.97
2.11
95.85

1.0
1.7
4.6
0.4
3.7
1.6
4.9
1.9
95.4

1.0
1.9
4.5
1.5
4.3
1.7
5.1
2.0
97.5

0.9
1.7
4.0
1.2
4.7
1.7
5.1
1.7
101.0

Isoleucine
Leucine
Tyrosine
Phénylalanine
Lysine
Histidine
Arginine
NH₃
Total

Un autre point qui mérite considération est le fait que les vers à soie Nd de l'élevage de WATANABE, comparés aux témoins, ne montrent pas de forte augmentation de l'acide glutamique, contrairement à ce qui s'observe chez les glandectomisés et chez les vers à soie Nd de notre élevage (tableau II). L'explication réside dans le fait que nos analyses concernent l'acide glutamique total (acide glutamique et glutamine), tandis que WATANABE ne dose que le glutamate libre. C'est donc principalement sous la forme de glutamine que l'acide glutamique est, chez les vers à soie normaux, pris par la portion postérieure de la glande séricigène.

Il apparaît donc que, chez les vers à soie de la race Nd, la portion postérieure de la glande ne prélève pas d'acides aminés au niveau de l'hémolymph. C'est la raison pour laquelle on trouve des valeurs plus élevées que chez les normaux pour les concentrations des acides aminés que prélève, lorsqu'elle est présente et active, la portion postérieure de la glande (glycine, sérine, tyrosine, acide glutamique principalement sous la forme de glutamine). La composition de l'hémolymph des vers à soie de la race Nd confirme la nature des acides aminés enlevés par la portion postérieure de la glande au niveau de l'hémolymph. Elle indique d'autre part que ce n'est pas à ce niveau, mais à celui du réservoir, que la thréonine et la proline sont prélevées.

Conclusions

L'analyse de la composition en acides aminés des cocons de la race Nd, mutant qui ne synthétise pratiquement que de la sérine, a permis de confirmer que cette protéine est surtout constituée des acides aminés suivants, dans l'ordre de leur importance quantitative décroissante : sérine, acide aspartique, glycine et arginine. Elle diffère donc nettement de la fibroïne.

La comparaison des acides aminés libres de l'hémolymph des vers à soie normaux, glandectomisés, et de race Nd, à la fin du filage, confirme que la portion postérieure des glandes séricigènes des races normales prélève, au niveau de l'hémolymph, de la glycine, de la tyrosine et de l'acide glutamique sous forme de glutamine. La portion postérieure des glandes séricigènes des vers à soie de race Nd ne prélève pas ces acides aminés. D'autre

part, c'est principalement chez les vers à soie le prélèvement de la

- AMANIEU, M., DUCHÂTEAU
Arch. internat. Physiol.
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., I
Physiol. Bioch., 68, 2
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., F
Physiol. Bioch., 67, 18
 DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh.,
 Ch. (1960). — *Arch. i*
 DUCHÂTEAU, Gh. et FLOR
 DUCHÂTEAU, Gh., FLOR
Bioch., 67, 173.
 DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh.,
nat. Physiol. Bioch., 7
 JEUNIAUX, Ch. et FLOR
 LUCAS, F., SHAW, J. T. B.
 WATANABE, T. (1959). —

on est le fait que les comparés aux témoins, de l'acide glutamique, les glandectomisés et tableau II). L'explication concerne l'acide glutamine), tandis que e. C'est donc principalement l'acide glutamique est, la portion postérieure de

soie de la race Nd, la ve pas d'acides aminés raison pour laquelle on les normaux pour les prélève, lorsqu'elle est de la glande (glycine, également sous la forme lymphatique des vers à soie des aminés enlevés par veau de l'hémolymphatique. pas à ce niveau, mais à proline sont prélevées.

aminés des cocons de rationnement que de la te protéine est surtout as l'ordre de leur importance, acide aspartique, ttement de la fibroïne. es de l'hémolymphatique des t de race Nd, à la fin eure des glandes séricigènes de l'hémolymphatique, glutamique sous forme glandes séricigènes des acides aminés. D'autre

part, c'est principalement au niveau du réservoir que s'opère, chez les vers à soie normaux comme chez ceux de race Nd, le prélèvement de la thréonine et de la proline.

BIBLIOGRAPHIE

- AMANIEU, M., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 628.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DEWANDRE, A. et FLORKIN, M. (1960). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **68**, 281.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1959). — *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 182.
- DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1960). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **68**, 275.
- DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. (1954). — *Arch. internat. Physiol.*, **62**, 293.
- DUCHÂTEAU, Gh., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 173.
- DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1962). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **70**, 287.
- JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 552.
- LUCAS, F., SHAW, J. T. B. et SMITH, J. G. (1958). — *Adv. in Prot. Chem.*, **13**, 107.
- WATANABE, T. (1959). — *J. Seric. Sc. of Japan*, **28**, 251.