

# LES EFFETS DU THIOSORBITOL ET DU THIOGLYCÉROL SUR LA STRUCTURE DE L'APPAREIL MITOTIQUE DE L'OEUF DE L'OURSIN *PARACENTROTUS LIVIDUS*

R. LALLIER. Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer, France

Dès 1931 Rapkine (1) attira l'attention sur le rôle des groupes —SH dans la division cellulaire. Selon Mazia (2) les groupes —SH des molécules protéiques interviendraient dans la formation du fuseau et des asters constituant l'appareil mitotique. Les groupes —SH participeraient à l'établissement de liaisons disulfures. Des liaisons entre des groupes —SH et des groupes de nature différente peuvent également être envisagées. On conçoit donc que l'addition d'un agent réducteur, en empêchant la formation de ponts disulfures entre deux groupes —SH, interfère avec la formation des fuseaux et des asters, et perturbe ainsi la mitose. Mazia (3) a effectivement observé chez les oeufs d'oursin qu'un agent sulfhydrilé, le mercaptoéthanol, arrête la mitose lorsque les oeufs sont traités avant que le stade métaphase soit achevé. En outre Mazia et Zimmerman (4) ont montré que le mercaptoéthanol désorganise la structure de l'appareil mitotique de l'oeuf d'oursin.

Au cours de recherches sur les effets des dérivés sulfhydrilés sur la différenciation de l'oeuf d'oursin nous avons observé que deux de ces dérivés, le 1-thiosorbitol et le  $\alpha$ -thioglycérol (3-mercaptopropanediol), exercent des effets antimitotiques (5). Le 1-thiosorbitol ( $\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_4-\text{CH}_2\text{SH}$ ) et le  $\alpha$ -thioglycérol ( $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{SH}$ ) sont deux corps fortement réducteurs, relativement peu autooxydables, et sensiblement neutres. La présence de groupes hydroxyles leur confère une grande aptitude à pénétrer dans les cellules. Le 1-thiosorbitol exerce sur la mitose de l'oeuf de l'oursin *Paracentrotus lividus* des effets comparables à ceux du mercaptoéthanol. Avec ces deux agents, la phase sensible de la division cellulaire s'étend jusqu'à la métaphase. En outre, les effets du 1-thiosorbitol comme ceux du mercaptoéthanol sont réversibles. Dans ces conditions il était intéressant de rechercher si le 1-thiosorbitol et le  $\alpha$ -thioglycérol exercent sur l'appareil mitotique un effet de désorganisation comparable à celui observé par Mazia et Zimmerman avec le mercaptoéthanol.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les oeufs de l'oursin *Paracentrotus lividus* sont utilisés dans ces expériences. Après plusieurs lavages à l'eau de mer filtrée, les oeufs vierges sont débarrassés de leur membrane vitelline en les traitant pendant 9 minutes à la température de 19°C par une solution de protéase à 0,01 pour cent dans l'eau de mer. Les oeufs sont ensuite lavés pour enlever la protéase, puis fécondés et déposés en une seule couche au fond d'un cristalliseur à fond plat. L'oeuf de *Paracentrotus lividus* est suffisamment transparent pour qu'il soit possible d'observer au microscope l'apparition du stade métaphase. Dès que ce stade est atteint, une partie des oeufs est traitée pendant 5 ou 10 minutes par une solution de  $\alpha$ -thioglycérol (0,1 M) ou de 1-thiosorbitol (0,05 M) avant l'isolement de l'appareil mitotique. Celui-ci est isolé par la méthode décrite par Kane (6). Les oeufs concentrés par centrifugation sont traités par une solution 1 M de 1,6-hexanediol à pH 6,1, tamponnée avec du phosphate de potassium à la concentration 0,01 M. Après 1 minute environ, la dispersion des oeufs est complète. La suspension obtenue est ensuite centrifugée avec un centrifugeur à main, et les appareils mitotiques se concentrent dans le culot de centrifugation. Les appareils mitotiques sont observables par examen en contraste de phase ou par éclairage sur fond noir. L'interposition de deux filtres vert-jaune entre la source de lumière et la préparation permet également une excellente observation de la structure fibreuse du fuseau et des asters avec l'optique normale du microscope. Cette technique a été utilisée pour photographier les préparations.

## OBSERVATIONS ET DISCUSSION

La Fig. 1 montre un appareil mitotique isolé d'un oeuf normal de *Paracentrotus lividus*. La structure fibreuse des asters et du fuseau est bien visible.

La Fig. 2 représente un appareil mitotique isolé d'un oeuf traité au stade métaphase pendant 5 minutes par une solution de  $\alpha$ -thioglycérol à la concentration 0,1 M. La structure fibreuse du fuseau est encore bien conservée mais les asters ne sont plus visibles.

Dans la Fig. 3 l'appareil mitotique isolé provient d'un oeuf traité au stade métaphase pendant

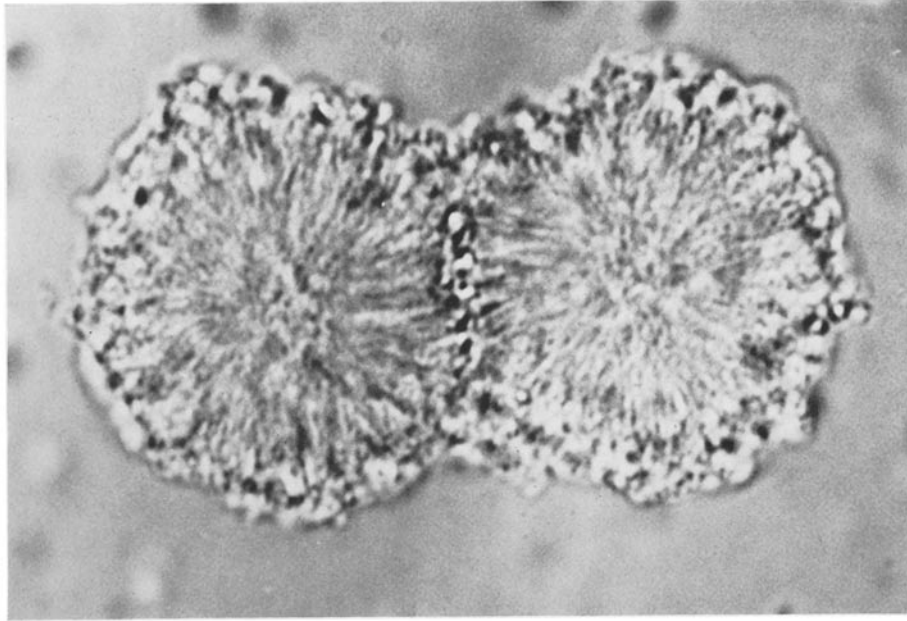


FIGURE 1  
Appareil mitotique isolé de l'oeuf de *Paracentrotus lividus* au stade métaphase.  $\times 1350$ .

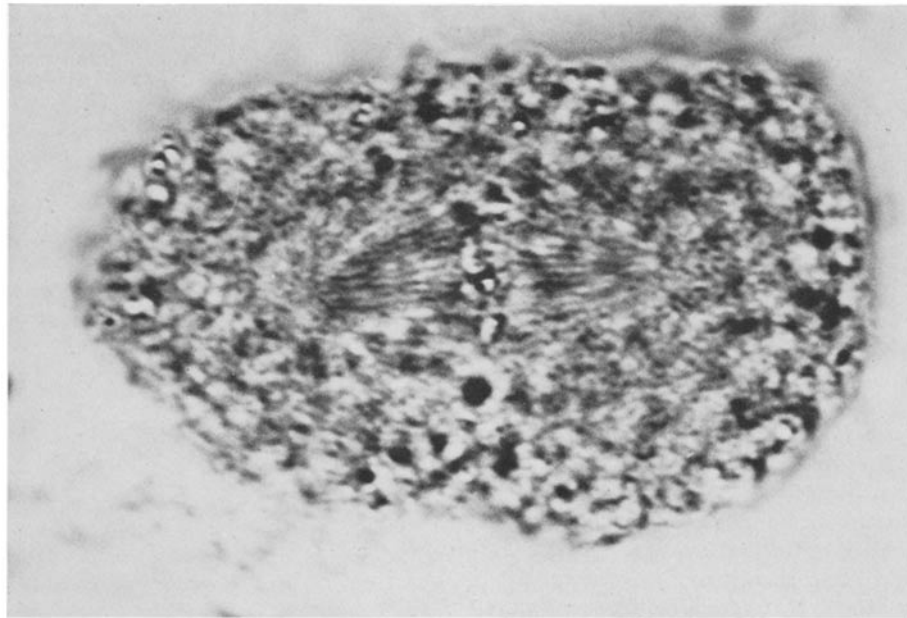


FIGURE 2  
Appareil mitotique isolé de l'oeuf traité au stade métaphase, pendant 5 minutes, par une solution 0,1 M de  $\alpha$ -thioglycérol.  $\times 1260$ .

10 minutes par une solution de 1-thiosorbitol (0,05 M). La structure fibreuse du fuseau et des asters n'est plus observée. La désorganisation de l'appareil mitotique est complète. Les concentrations et les durées de traitement indiquées permettent d'obtenir avec une même série d'oeufs différents degrés de désorganisation de l'appareil mitotique. En augmentant les concentrations ou en prolongeant les temps d'action on obtient la désorganisation complète des appareils mitotiques, comparable à celle représentée par la Fig. 3.

par Mazia selon laquelle les groupes —SH interviennent dans la formation du fuseau et des asters.

#### RÉSUMÉ

Deux dérivés sulfhydrilés, le 1-thiosorbitol et le  $\alpha$ -thioglycérol, inhibent la mitose de l'oeuf de l'oursin *Paracentrotus lividus* et désorganisent la structure de l'appareil mitotique. Ces agents, comme le mercaptoéthanol, agiraient sur la structure de l'appareil mitotique en interférant avec les liaisons impliquant des groupes —SH.

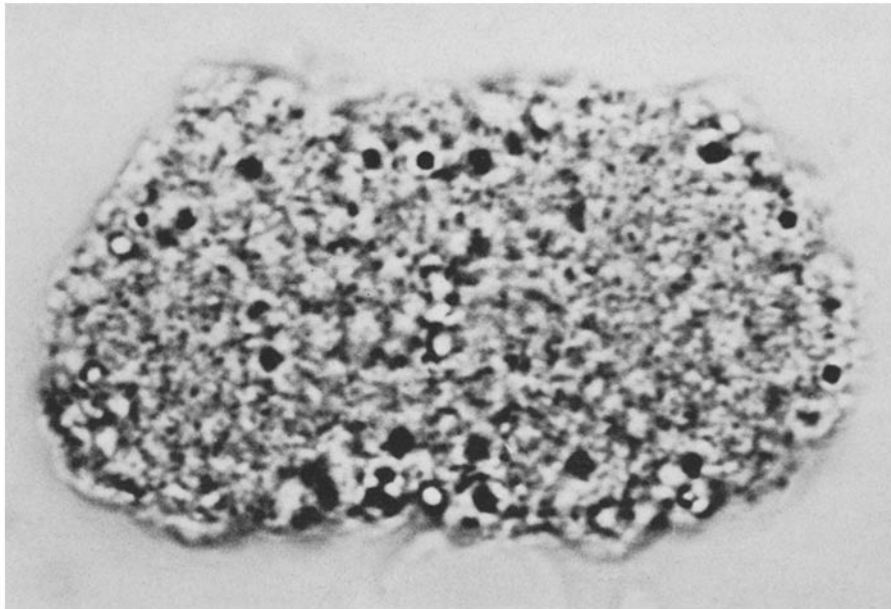


FIGURE 3

Appareil mitotique isolé de l'oeuf traité au stade métaphase, pendant 10 minutes, par une solution 0,05 M de 1-thiosorbitol.  $\times 1440$ .

Les effets de ces deux dérivés sulfhydrilés sur la structure fibreuse du fuseau et des asters suggèrent que, comme dans le cas du mercaptoéthanol, le 1-thiosorbitol et le  $\alpha$ -thioglycérol agissent en scindant les ponts disulfures et en interférant avec les liaisons impliquant des groupes —SH.

En conclusion, deux agents sulfhydrilés, le 1-thiosorbitol et le  $\alpha$ -thioglycérol, inhibent la mitose de l'oeuf de l'oursin *Paracentrotus lividus* et désorganisent la structure de l'appareil mitotique. Ces effets sont comparables à ceux obtenus avec le mercaptoéthanol. Ces résultats apportent ainsi une confirmation de la suggestion développée

Je remercie Mr. R. Fenaux pour l'exécution des photographies d'appareil mitotique.

Reçu le 4 juin, 1962.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. RAPKINE, L., *Ann. physiol.*, 1931, 7, 382.
2. MAZIA, D., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 1955, 9, 335.
3. MAZIA, D., *Exp. Cell Research*, 1958, 14, 486.
4. MAZIA, D., et ZIMMERMAN, A. M., *Exp. Cell Research*, 1958, 15, 138.
5. LALLIER, R., *Compt. rend. Acad. sc.*, 1962, 254, 738.
6. KANE, R. E., *J. Cell Biol.*, 1962, 12, 47.