



HAL
open science

Présence de quantités importantes de thiotaurine et d' hypotaurine dans les tissus de *Riftia pachyptila* (Pogonophore, Vestimentifère).

Patrick Albéric

► To cite this version:

Patrick Albéric. Présence de quantités importantes de thiotaurine et d' hypotaurine dans les tissus de *Riftia pachyptila* (Pogonophore, Vestimentifère).. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série III, Sciences de la vie*, 1986, 302 (13), pp.503-508. insu-00462251

HAL Id: insu-00462251

<https://hal-insu.archives-ouvertes.fr/insu-00462251>

Submitted on 9 Mar 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Océanographie Biologique. -Présence de quantités importantes de thiotaurine et d' hypotaurine dans les tissus de *Riftia pachyptila* (Pogonophore, Vestimentifère). Note de Patrick Albéric, présentée par Lucien Laubier.

Les tissus (trophosome, branchie) de *Riftia pachyptila* sont particulièrement riches en thiotaurine et en hypotaurine (200 à 500 µmoles/g de tissu lyophilisé) qui représentent 50 à 75% de la totalité des composés aminés libres détectés.

Il est inhabituel que les liquides physiologiques des organismes vivants contiennent ces composés en quantité importante. Leur présence est peut-être liée au transport, à l'intérieur du corps de l'animal, d'une importante quantité d'ions sulfure nécessaire à l'activité chimolithoautotrophe des bactéries symbiotes localisées dans le trophosome.

BIOLOGICAL OCEANOGRAPHY. -Occurrence of thiotaurine and hypotaurine in the tissues of *Riftia pachyptila* (Pogonophora, Vestimentifera).

The blood of Riftia pachyptila Jones [1] -one of the most distinctive and abundant animals of the deep-sea hydrothermal vents-contains a sulfide-binding protein that appears to concentrate sulfide from ambient water [2]. The hemoglobine which occurs in both the vascular blood and the coelomic fluid [3] has been the proposed binding molecule ([2], [4]). The bounded form of sulfide in the blood would enable the simultaneous transport of both O₂ and H₂S to the internal chemolithoautotrophic bacterial symbionts within the trophosome organ.

This study concerns the transfer of sulfur from the binding protein to the trophosome cells.

The tube worm was collected at a depth of approximately 2,630 m on the East Pacific Rise from the 130 N site (Biocyarise, 1984). Portions of frozen trophosome and plume tissues were lyophilised and samples of powdery tissues were extracted with bidistilled water and then centrifuged. Free aminoacids contents of subsequent solutions were directly obtained by the use of an automatic analyzer.

Standard procedure shows an important peak -75% of the total free amino acids (Table) -having the retention time of taurine (NH₂C₂H₄ SO₃H).

However, the positive reaction obtained when spraying iodoplatinate reagent [5] following paper chromatography, which is significative of the presence of reduced sulfur ([6], [7]), does not fit with taurine.

The use of a method combining cyanolysis reaction and column chromatography [8] enabled us to discern that hypotaurine is the abundant sulfur-containing compound present in the plume tissues and that on the contrary thiotaurine is abundant in the trophosome (Fig.). In both cases, taurine accounts for only 20% of the total amount.

In the trophosome, the thiosulfonic form (R-SO₂SH) may result from the sulfide transfer inside the coelomic fluid from the hemoglobine to the cells.

As the sulfur-containing compounds are present in both regions of the worm, they are probably dissolved in the blood.

At the site of gas exchange with the environment (obturacular plume) the sulfinate form (R-SO₂H) would remain inactive.

The unloading of sulfide from the blood-protein might be achieved in the trophosome by an enzymatic process like transsulfuration of di- and tri-cysteine derivatives into thiosulfonic compounds [9] and by spontaneous transsulfuration between thiosulfonic compounds and thiosulfate [6].

INTRODUCTION. -*Riftia pachyptila* Jones [1], est l'un des principaux composants des communautés animales découvertes autour des événements hydrothermaux du système de dorsales du Pacifique oriental.

Ces communautés bénéficient de l'activité chimolithoautotrophe de bactéries sulfoxydantes et semblent indépendantes des apports trophiques provenant de la surface des océans.

Les fluides hydrothermaux chauds et riches en H₂S sont très rapidement dilués par l'eau de mer. La température des eaux qui baignent les colonies de *Riftia* est en moyenne de 10°C. Leur teneur en H₂S est de l'ordre de 100 à 500 µM [10] en raison de la dilution du fluide et de l'oxydation des sulfures par l'oxygène dissous dans l'eau de mer.

Arp et Childress [2] ont montré l'existence, dans le sang de *Riftia*, d'une protéine en solution capable de concentrer les sulfures (par rapport à l'eau environnante) au niveau du panache branchial et de les transporter jusqu'au trophosome, organe très vascularisé contenant les bactéries symbiotes. Il est vraisemblable que l'hémoglobine soit la protéine

concernée par ce transport puisqu'elle constitue l'essentiel de la fraction protéique du sang [2] et que les quantités d'H₂S fixées expérimentalement sont proportionnelles aux teneurs en hème [4].

Le site exact de fixation des sulfures par la protéine n'est pas encore établi, mais dans l'hypothèse d'un transport simultané de O₂ et H₂S par la même molécule d'hémoglobine, seules les chaînes peptidiques seraient en mesure d'assurer la fixation du soufre (Toulmond, comm. pers.).

Au niveau du trophosome, le transport du soufre jusqu'aux bactéries intracellulaires nécessite certainement la mise en oeuvre d'un mécanisme capable de relayer la liaison protéine-sulfures. Des réactions métaboliques permettant le transfert du soufre en évitant l'apparition des ions sulfure toxiques sont connues ([9], [11], [12]), notamment l'action enzymatique de la rhodanèse dont la présence a été signalée chez *Riftia* [13]. Ces mécanismes peuvent conduire à la formation de composés thiosulfonés (R-SO₂SH) capables de réactions de transsulfuration, spontanées et non enzymatiques, avec des composés sulfiniques (R-SO₂H) ou des anions thiophiles (SO₃²⁻, CN⁻) ([6], [7]).

Les composés de ce type dotés d'une fonction métabolique sont le plus souvent aminés en plus d'être soufrés. Cette étude met en évidence leur présence dans les tissus de *R. pachyptila*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. -Les portions d'organisme proviennent d'un spécimen prélevé et congelé en mars 1984 lors de la campagne Biocyarise (plongée 37, Parigo, 2630 m, dorsale du Pacifique oriental vers 13°N). Les prélèvements de lamelles branchiales et de trophosome ont été lyophilisés.

Les acides aminés libres ont été extraits par l'eau ou l'éthanol à 80% (1 ml pour 5mg de tissus) pendant quelques minutes dans une cuve à ultra-sons. Après centrifugation ou filtration, 50µL de solution suffisent à l'analyse des acides aminés au moyen d'un analyseur automatique (dans le cas de l'extraction alcoolique, l'alcool est évaporé et remplacé par de l'eau).

Plusieurs tests colorés permettent de caractériser les différentes familles de composés soufrés [7]. Parmi eux, la réaction «iodoplatinique» [5] a été appliquée aux extraits chromatographiés sur papier (phase supérieure butanol, acide acétique, eau, 5/1/4). Ce test permet, en particulier, de distinguer les composés sulfiniques et les composés thiosulfonés des composés sulfonés (R-SO₃H).

Les composés soufrés acides, mal séparés dans les conditions de l'analyse standard des acides aminés au moyen d'un analyseur automatique (pH du premier tampon égal à 3,6), ont été étudiés en utilisant la méthode préconisée par De Marco et coll. [8]. Cette méthode permet de séparer convenablement un certain nombre de composés oxydés dérivés de la cystéine et de caractériser par des réactions spécifiques ceux qui seraient confondus.

EXPLICATIONS DE LA PLANCHE

Chromatographie des composés aminés soufrés extraits des tissus sous forme libre. Éluant: acide citrique 0,1M NaCl 0,2M, 30°C, 60ml/mn. Réactif à la ninhydrine: 30ml/mn. Résine Beckman W2, 37 cm. Indice de coloration des composés par rapport à l'acide cystéique (mesuré à 570nm) : taurine (TAU), 0,18; hypotaurine (HYP), 0,25; thiotaurine (THIOT), 0,5. A. Branchie (partie rose). La réaction avec CN⁻ est sans effet sur l'importance du premier pic, ce qui prouve l'absence de composé thiosulfoné. B. Trophosome. L'hypotaurine est absente. C. Trophosome après réaction avec CN⁻. La quantité d'hypotaurine formée correspond à la disparition d'une quantité égale de thiotaurine.

Chromatography of sulfur-containing amino compounds from tissue extracts (free form). Eluant: citric acid 0.1 M-NaCl 0.2 M, 30°C, 60 ml/mn. Ninhydrine reagent: 30 ml/mn. Beckman W2 resin, 37 cm. Color constant at 570 nm (taking 1 as the value for cysteic acid): taurine (TAU), 0.18; hypotaurine (HYP), 0.25; thiotaurine (THIOT), 0.5. A. Plume tentacular lamellae. The first peak is unaffected by cyanolysis in accordance with the absence of thiosulfonic compounds. B. Trophosome. Hypotaurine is absent. C. after cyanolysis. The quantity of created hypotaurine is in good accordance with an equal quantity of missing thiotaurine.

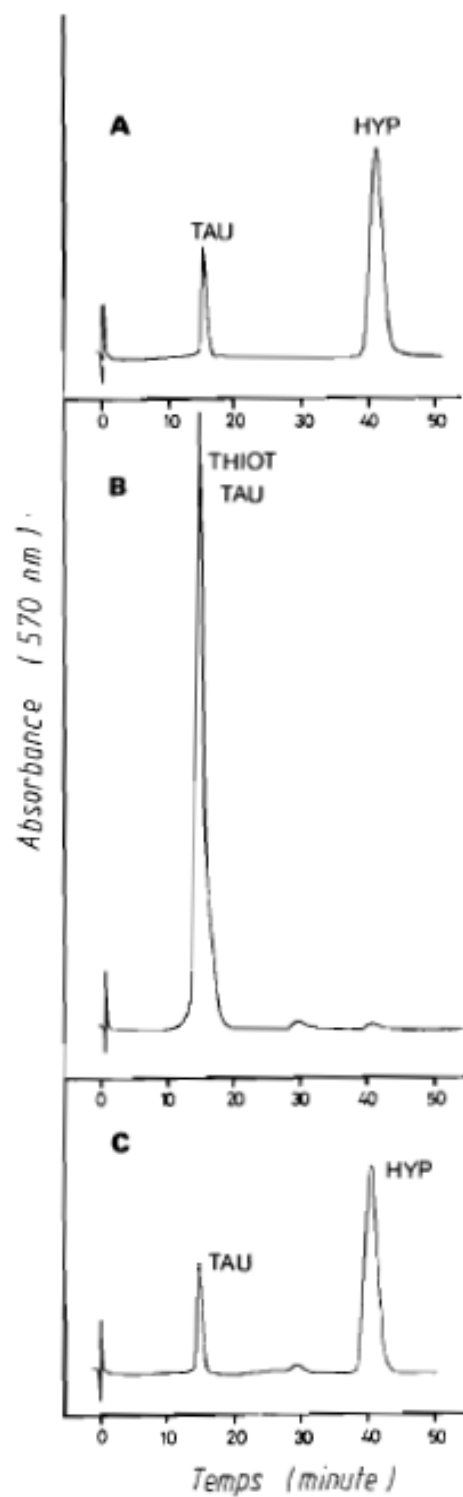


TABLEAU
Teneur en composés aminés des tissus de *Riftia pachyptila*.
Amino compound concentrations of Riftia pachyptila tissues.

Tissus	Composés aminés libres		Total des acides aminés hydrolysés (%) (a)
	Total (mmole/g) (a)	Thiot-Hyp-Tau (b) (mmole/g) (a)	
Branchie:			
Partie rose (lamelles)	0,7	0,5	40
Partie blanche (matrice obturaculaire?)			46
Trophosome	0,4-0,5	0,2-0,3	36

(a) Par rapport au poids de tissu lyophilisé. (b) Thiot : thiotaurine, Hyp : hypotaurine, Tau: taurine.

Dans ces conditions l'hypotaurine (NH₂C₂H₄-S₀2H) est facilement séparée de la taurine (R-S₀3H), mais par contre la thiotaurine (R-S₀2SH), l'homothiotaurine, l'homotaurine et la S-sulfocystéamine forment un pic confondu avec celui de la taurine.

En transformant quantitativement les composés thiosulfonés en leurs homologues sulfoniques (par réaction avec les ions cyanure), il est possible de déduire la part que chacun représentait dans le pic confondu. Le rapport des absorbances à 440 et 570nm révélerait la présence éventuelle de S-sulfocystéamine dans le pic restant après réaction avec CN⁻.

Par ailleurs, l'analyse de la fraction protéique des tissus a été effectuée après hydrolyse acide des échantillons.

RÉSULTATS. - L'analyse de la fraction libre montre la présence d'un composé 5 à 15 fois plus concentré que l'acide aminé le plus abondant (acide glutamique) et dont le volume de rétention correspond, dans les conditions d'analyse standard, à celui de la taurine. Ce composé représente 50 à 75 % de la totalité des acides aminés libres détectés (tableau).

Dans ces conditions d'analyse, la thiotaurine et la taurine sont confondues en un pic précédé de 1mn par celui de l'hypotaurine. Le temps de rétention de l'hypotaurine variant considérablement en fonction du pH leur séparation n'est pas toujours assurée.

La présence de ce composé, remarquable par son abondance, a également été observée par Felbeck (comm. pers.).

La réaction iodoplatinique appliquée aux fractions libres extraites des tissus est positive et montre qu'il ne s'agit pas de taurine mais vraisemblablement de thiotaurine et/ou d'hypotaurine pour l'essentiel.

L'observation (fig.) des chromatogrammes obtenus suivant la méthode de De Marco et coll. montre clairement que le composé aminé soufré précédemment détecté apparaît sous la forme d'hypotaurine au niveau de la branchie et sous la forme de thiotaurine dans le trophosome.

Moins d'un quart existe sous la forme de taurine. Une partie de la taurine peut provenir d'une légère oxydation des échantillons pendant leur conservation et leur préparation.

DISCUSSION. - Selon Arp et Childress [3], le liquide coelomique présent au niveau du trophosome contient de l'hémoglobine. La forme thiosulfonée qui prédomine de manière quasi totale dans le trophosome peut être interprétée comme la forme résultant du transfert du soufre réduit entre la protéine (hémoglobine) et les cellules contenant les bactéries.

Au niveau de la branchie, lieu de fixation des sulfures par la protéine du sang, la forme sulfonique serait inactive. Son action n'entrerait en jeu qu'au débouché du sang dans le trophosome. Là l'hypotaurine, en se chargeant du soufre libéré de sa liaison avec la protéine, se transformerait en thiotaurine.

Un processus de transsulfuration enzymatique, comparable à celui décrit par Szczepkowski et Wood [9], faisant intervenir la cystéine et des intermédiaires di- et tri-sulfurés, est envisageable.

Dans cette hypothèse, les composés aminés soufrés sont véhiculés dans les vaisseaux par le sang. Leur teneur supérieure dans les tissus branchiaux (tableau) peut simplement résulter d'une plus grande irrigation de ces tissus.

Si la thiotaurine ne quitte pas le système vasculaire, le passage du soufre du liquide coelomique à l'intérieur des cellules du trophosome pourrait être assuré par les ions thiosulfate.

Parmi les nombreuses réactions métaboliques qui intéressent la cystéine, l'hypotaurine est souvent mentionnée comme un intermédiaire possible qui conduit à la taurine ([12], [14], [15]). La taurine elle-même a depuis longtemps été reconnue comme un des principaux constituants du « pool » d'acides aminés libres des invertébrés marins [16].

Dans le cas de *Riftia*, les teneurs des tissus en hypotaurine ou en thiotaurine sont 4 à 5 fois supérieures à celle de la taurine et il est permis de leur attribuer une fonction propre, indépendamment de leur rôle d'intermédiaire dans le métabolisme des acides aminés soufrés.

Remise le 27 janvier 1986, acceptée le 24 février 1986.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] M. L. JONES, *Science*, 213, 1981, p. 333-336.
- [2] A. J. ARP et J. J. CHILDRESS, *Science*, 219, 1983, p. 295-297.
- [3] A. J. ARP et J. J. CHILDRESS, *Science*, 213, 1981, p. 342-344.
- [4] J. J. CHILDRESS, A. J. ARP et C. R. FISHER, *Mar. Biol.*, 83, 1984, p. 109-124.
- [5] J. P. GREENSTEIN et M. WINITZ, *Chemistry of the amino acids*, 3, Wiley, New York, 1961, p. 1892.
- [6] C. DE MARCO et P. LUCHI, *Anal. Biochem.*, 48, 1972, p. 346-352.
- [7] D. CAVALLINI, C. DE MARCO et B. MONDOVI, *J. Biol. Chem.*, 234, 1959, p. 854-857.
- [8] C. DE MARCO, R. MOSTI et D. CAVALLINI, *J. Chromatog.*, 18, 1965, p. 492-497.
- [9] T. W. SZCZEPKOWSKI et J. I. WOOD, *Biochim. Biophys. Acta*, 139, 1967, p. 469-478.
- [10] H. W. JANNASCH et M. J. MOTTI, *Science*, 229, 1985, p. 717-725.
- [11] B. H. SORBO, *Biochim. Biophys. Acta*, 24, 1957, p. 324-329.
- [12] A. I. COOPER, *Ann. Rev. Biochem.*, 52, 1983, p. 187-222.
- [13] H. FELBECK, *Science*, 213, 1981, p. 336-338.
- [14] J. G. JACOBSEN et I. H. SMITH Jr, *Physiol. Rev.*, 48, 1968, p. 424-511.
- [15] A. B. ROY et P. A. TRUNDINGER, *The biochemistry of inorganic compounds of sulphur*, Cambridge University Press, 1970.
- [16] J. AWAPARA, in *Amino acid pools*, J. T. HOLDEN éd., Elsevier, Londres, 1962, p. 158-175.

Laboratoire de Géologie appliquée, C.N.R.S., U.A. n° 724, Université d'Orléans, 45067 Orléans Cedex.