

BIOCHIMIE. — *Isolement et caractérisation d'un RNA matriciel d'Alcaligenes fæcalis*. Note (*) de MM. Mirko Beljanski et Pierre Bourgarel, présentée par M. Jacques Tréfouël.

Isolement à partir d'*Alcaligenes fæcalis* d'une famille de RNA matriciels, accepteurs d'acides aminés. Un de ces RNA 5,5 S particulièrement étudié présente des caractéristiques nettement différentes de celles du RNA de transfert et du RNA ribosomal.

En 1962-1963 nous avons montré que des RNA (bactéries, levures, tissus animaux), distincts du RNA de transfert, attachent *in vitro* en présence de polypeptid-synthétases les L-acides aminés [(¹), (²)] et occupent après centrifugation sur gradient de saccharose une place particulière, spécifique de l'espèce. Dans un tel RNA purifié d'origine bactérienne et possédant certaines caractéristiques du RNA messenger (²) les sites (nucléotides) de fixation de certains acides aminés situés à l'intérieur de la chaîne ont été identifiés (³). Pour cette raison nous appelons RNA « matriciel » le RNA qui possède la propriété de fixer les acides aminés à l'intérieur de la chaîne, indépendamment de son origine et de sa masse moléculaire (³).

Les résultats présentés ici montrent les caractéristiques d'un RNA matriciel 5,5 S présent dans une fraction de RNA d'*Alcaligenes f.* qui contient des RNA dont les coefficients de sédimentation varient de 3,8 à 7,0 S. Nos données permettent d'affirmer que le RNA matriciel diffère indiscutablement du RNA de transfert et du RNA ribosomal.

Les RNA totaux isolés et purifiés à l'aide de phénol à partir de 3 kg (poids humide) d'*Alcaligenes f.* ont été séparés par $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en plusieurs fractions (²). Celle précipitant en présence de 50 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ contient presque exclusivement les RNA 24 S et 16 S (ribosomiques). Celle de 50-65 % contient une famille de RNA matriciels avec prédominance de RNA 5,5 S coïncidant avec le RNA à marquage rapide (messenger) et actif comme accepteur des L-acides aminés (²). Les fractions de 65-95 % renferment : le RNA de transfert, le RNA matriciel et des RNA légers non encore identifiés.

La figure 1 montre qu'en augmentant le pouvoir de résolution du fractionnement, on peut isoler, à partir de la fraction 50-65 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ des RNA matriciels ayant des coefficients de sédimentation nettement supérieurs à celui du RNA de transfert. Parmi ces RNA le RNA 5,5 S repurifié sur Séphadex G 100 (⁴) prédomine nettement (60-70 %) mais représente environ 2-3 % du RNA total. Son coefficient de sédimentation (5,5 S) a été déterminé à l'aide d'ultracentrifugeuse analytique et sur gradient de saccharose. Sa masse moléculaire est d'environ 50 000, ce qui correspondrait à 140 nucléotides.

Le tableau I montre la composition en nucléotides du RNA matriciel 5,5 S. Les nucléotides ont été séparés par chromatographie sur Dowex 1 \times 2, formiate (²) et leur pureté contrôlée par chromatographie sur papier. Le rapport $\frac{\text{G} + \text{C}}{\text{A} + \text{U}}$ égal à 2,0 diffère nettement de celui du RNA de transfert (1,38) et de celui du RNA ribosomal

TABLEAU I

Composition en nucléotides du RNA 5,5 S après hydrolyse par le KOH
Moles pour 100 moles de nucléotides

Nucléotides	RNA 5,5 S	RNA transfert	RNA ribosomal
C-2'(3')-P.....	32,0	28,0	24,0
A-2'(3')-P.....	16,0	22,5	23,2
G-2'(3')-P.....	34,5	29,5	27,3
U-2'(3')-P.....	17,0	20,0	26,0
Uridine.....	0,8	—	—
U-(2', 3')-5'-PP.....	0,75	—	—
Bases mineures.....	absentes	présentes	—
Substances absorbant les U. V. non identifiées.....	0,60	0,45	—

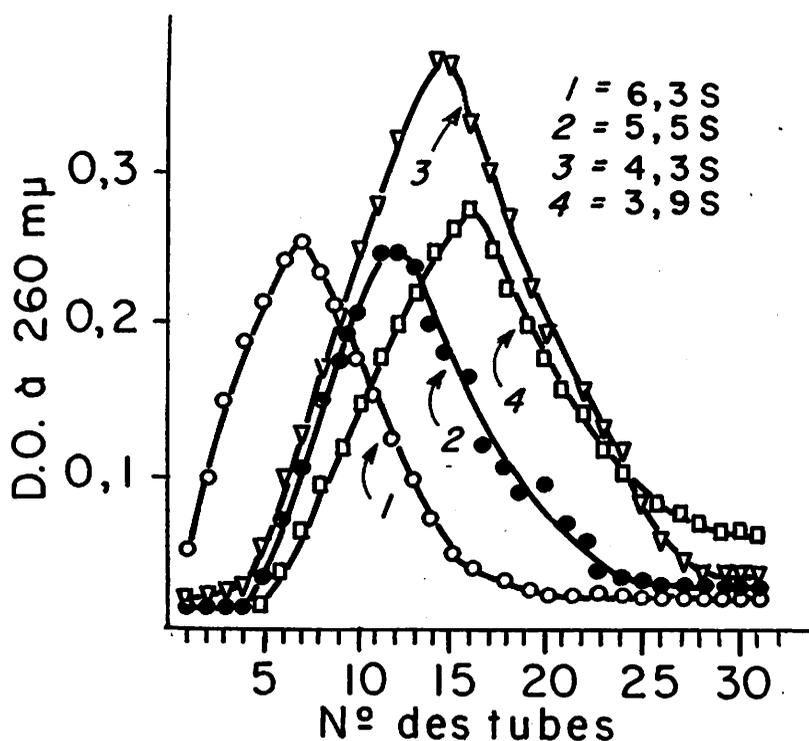


Fig. 1. — Chaque fraction de RNA a été séparément centrifugée sur gradient de saccharose (5-20 %)

(1,09). Les bases mineures caractérisant le RNA de transfert sont absentes dans le RNA 5,5 S. L'extrémité 3' OH du RNA 5,5 S est constituée par l'uridine et celle de 5' OH par l'uridine-diphosphate. Signalons qu'un RNA 5 S isolé à partir d'*Escherichia coli* possède ces 2 mêmes extrémités (*).

L'effet hyperchromique à pH 12 est de 38 % pour le RNA 5,5 S ; celui du RNA de transfert et du RNA ribosomal est de 23 %. En présence de NaCl 0,15 M la température moyenne de transition est de 59° pour le RNA 5,5 S, 61° pour le RNA de transfert et 57° pour le RNA ribosomal (*Alcaligenes f.*).

Les données résumées dans le tableau II montrent que le RNA matriciel 5,5 S fixe un acide aminé par 10-15 nucléotides (en tenant compte des 20 acides aminés) lorsqu'il est incubé en présence de polypeptide-synthétases purifiées et d'un des 4 ribonucléoside-5'-triphosphates (2).

TABLEAU II
µMoles d'acide aminé ¹⁴C fixé par mg de RNA 5,5 S

L-acides aminés ¹⁴ C	GTP	CTP	UTP	ATP
Ala	7,0	5,0	13,0	14,5
Leu	8,5	9,0	17,0	18,0
Val	4,0	5,0	5,5	6,0
Phé	2,0	3,0	2,5	2,5
Arg	0,5	0,4	6,3	8,5
Met	2,0	2,0	18,0	17,0
Ser.....	1,0	0,5	3,8	6,0

La présence de RNA matriciel et des polypeptide-synthétases dans les bactéries, tissus animaux, levures [(1), (2), (5)] et la reconnaissance de RNA de TYMV par les polypeptide-synthétases montrent la généralité de ce système. La quantité considérable d'acides aminés (¹⁴C), fixés *in vitro* par les RNA matriciels en présence d'enzymes ne contenant ni ribosomes ni fragments cellulaires d'aucune sorte, suggère fortement que ce système pourrait être responsable *in vivo* de la synthèse d'une classe de protéines, probablement des protéines de structure.

(*) Séance du 5 février 1968.

(1) M. BELJANSKI, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 8, 1962, p. 15.

(2) M. BELJANSKI, M^{mes} C. FISCHER-FERRARO et M. BELJANSKI, *Comptes rendus*, 257, 1963, p. 547.

(3) M. BELJANSKI, M^{me} C. FISCHER-FERRARO et P. BOURGAREL, *European J. of Biochem.*, 1968 (sous presse).

(4) M. REYNIER, M. AUBERT et R. MONIER, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 49, 1967, p. 1205.

(5) J. P. ZALTA et M. BELJANSKI, *Comptes rendus*, 253, 1961, p. 567.

(Service de Biochimie Cellulaire,
Institut Pasteur de Paris,
28, rue du Docteur-Roux, Paris, 15^e.)