

BIOCHIMIE. — *Synthèse dans Escherichia coli des ARN dont la structure primaire diffère totalement de celle de l'ADN.* Note (*) de M. Mirko Beljanski et M^{me} Monique Beljanski, présentée par M. Jacques Tréfouël.

Sans changer la structure primaire de leur ADN, les bactéries *Escherichia coli* synthétisent en présence d'un nucléoside particulier, l'ARN à marquage rapide et l'ARN ribosomique 23 S dont la nouvelle structure primaire diffère radicalement de celle de l'ADN. La polynucléotide-phosphorylase serait responsable de leur synthèse.

Selon les conceptions brillamment présentées par Watson (1) les principaux types d'ARN (deux ARN ribosomiques, l'ARN transfert et l'ARN messenger) seraient synthétisés par l'ARN polymérase sur le modèle de l'ADN. Ainsi la composition en nucléotides GC/AU de l'ARN synthétisé est semblable à celle des nucléotides GC/AT constituant l'ADN. La synthèse des ARN ribosomiques serait sous le contrôle de plusieurs gènes et la séquence des nucléotides dans ces gènes serait semblable car leurs produits (les ARN ribosomiques) ont une structure primaire et une forme tridimensionnelle semblables dans pratiquement toutes les espèces. De nombreux travaux ont apporté des arguments en faveur de ces conceptions (1).

Nos résultats présentés ici montrent clairement que sans modifier la synthèse et la structure primaire de l'ADN on peut induire les cellules *Escherichia coli* à synthétiser deux types d'ARN (ARN à marquage rapide et ARN ribosomique 23 S) dont la structure primaire $\left(\frac{G + A}{C + U} = 2\right)$ diffère profondément de celle de l'ADN $\left(\frac{G + A}{C + T} = 1\right)$.

Les bactéries *Escherichia coli* 3000 ont été cultivées en milieu 63 contenant du glucose et de la vitamine B₁ (2) (agitation à 37°). Le nucléoside particulier showdomycine ayant la structure proche de l'uridine (3) a été ajouté (5 à 10 µg/ml) à une partie de la culture (densité optique 300 à 600 mµ) afin d'arrêter complètement mais temporairement la croissance ; le milieu de culture a été agité à 37° pendant 40 mn. Notons que la croissance exponentielle peut reprendre après 2 à 5 h ou peut être rapidement rétablie par addition de substances sulfhydryles [(4), (5)]. Les ARN à marquage rapide (messenger) ont été marqués par le ³²P pendant 1 mn, et l'ADN par la thymidine ¹⁴C pendant 10 mn (bactéries normales et bactéries qui ont été d'abord traitées 40 mn par la showdomycine). Les bactéries collectées par centrifugation ont été lavées à l'aide de tampon Tris 10⁻² M contenant du MgCl₂ 10⁻² M. L'ADN a été isolé et purifié selon Miura (6). Les ARN ont été isolés à l'aide du phénol (7) et les divers types d'ARN séparés sur gradient de saccharose. Les nucléotides des RNA ont été séparés sur colonne de Dowex (7) et ceux de l'ADN par la méthode de Wyatt (8).

RÉSULTATS. — Le tableau I montre que l'ADN isolé et purifié à partir de bactéries mises en présence de showdomycine contient autant de thymidine ¹⁴C

que l'ADN des bactéries normales. Cet ADN possède une structure primaire identique à celle de l'ADN des bactéries normales (tableau II), ce qui montre que la showdomycine n'affecte pas la synthèse de l'ADN. Par contre, il est extraordinaire

TABLEAU I

C^{14} Thymidine incorporée dans l'ADN des bactéries normales et des bactéries traitées par la showdomycine

	CPM/1 mg d'ADN
ADN témoin.....	5 600
ADN-showdomyciné	5 040

TABLEAU II

Nucléotides de l'ADN isolé et purifié à partir de bactéries normales et de bactéries traitées par la showdomycine

	Moles pour 100 moles de nucléotides identifiés	
	ADN témoin	ADN showdomyciné
A	24,5	24,5
G	24,5	25,0
C	24,3	26,0
T	26,2	26,0
$\frac{G+C}{A+T}$...	0,96	1,00
$\frac{G+A}{C+T}$...	0,99	0,95

de constater (tableau III) que l'ARN à marquage rapide synthétisé par les bactéries traitées par la showdomycine possède une composition en nucléotides $\left(\frac{G+A}{C+U} = 2,0\right)$ qui diffère profondément de celle de l'ADN des bactéries normales $\left(\frac{G+A}{C+T} = 1,0\right)$. Après fractionnement (7) de cet ARN à marquage rapide et analyse des nucléotides- ^{32}P nous trouvons que 85 % de cet ARN possèdent des nucléotides puriques (A et G) en quantité fort supérieure à celle qui se trouve dans l'ADN. Toutefois, une fraction (10-15 %) d'ARN à marquage rapide a le rapport des bases proche de celui de l'ADN $\left(\frac{G+A}{C+T} = 1,0\right)$, rapport des bases de l'ARN des bactéries normales. Il est remarquable de constater que l'ARN ribosomique 23 S isolé soit directement à partir de bactéries traitées par la showdomycine, soit à partir de ribosomes eux-mêmes, possède un rapport de bases radicalement modifié $\left(\frac{G+A}{C+U} = 2\right)$

TABLEAU III

Nucléotides dans les ARN provenant des bactéries normales
et traitées par la showdomycine

	Moles par 100 moles de nucléotides identifiés							
	ARN 23 S		ARN 16 S		m-ARN- ³² P		ARN 4 S	
	Témoin	Show.	Témoin	Show.	Témoin	Show.	Témoin	Show.
A-2' (3')-P.	25,5	31,6	23,6	25,0	25,0	30,0	22	20,8
G-2' (3')-P.	28,0	34,0	27,0	26,7	27,5	33,0	29	30,0
C-2' (3')-P.	24,0	18,0	24,0	24,0	24,5	15,0	28	27,5
U-2' (3')-P.	23,0	14,0	24,0	23,5	28,0	14,0	20	20,5
G + C								
A + U ...	1,06	1,01	1,00	1,00	1,00	1,01	1,37	1,40
G + A								
C + U ...	1,01	1,96	1,00	1,00	1,00	2,00	1,00	1,00

(tableau III). Par contre la structure primaire du RNA ribosomique 16 S et celle du RNA transfert de ces mêmes bactéries ne sont pas changées. Il faut cependant rappeler que le surnageant $105\ 000 \times g$ provenant des extraits des bactéries traitées par la showdomycine contient des particules (28 S) précurseurs des ribosomes 50 S et dont l'ARN possède les nucléotides puriques en excès⁽⁹⁾. Il est clair de l'ensemble de nos résultats que la composition en nucléotides de la majorité des ARN synthétisés par les bactéries *E. coli* en présence de showdomycine, diffère fortement de la composition en nucléotides de l'ADN. Par conséquent ces ARN doivent être synthétisés par une enzyme autre que l'ARN polymérase. En effet la polynucléotide-phosphorylase, qui synthétise *in vitro* les polynucléotides *en l'absence d'ADN*⁽¹⁰⁾ est le candidat de choix. Les extraits des bactéries traitées par la showdomycine contiennent la polynucléotide-phosphorylase qui, *in vitro*, comparée aux extraits des bactéries normales synthétise deux fois plus activement le poly A (à partir d'ADP) et deux fois moins activement le poly C (à partir de CDP), ce qui n'est pas le cas de l'ARN polymérase en présence de substrats appropriés. Ces nouvelles données soulèvent la question de savoir si la conception concernant la transcription et la régulation⁽¹⁾ devrait être complétée.

(*) Séance du 9 septembre 1968.

(1) J. D. WATSON, *Molecular Biology of the Gene*, W. A. Benjamin, New York, Amsterdam, Inc. 1965.

(2) A. B. PARDEE et coll., *J. Mol. Biol.*, 1, 1959, p. 165.

(3) K. R. DARNALL et coll., *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 57, 1967, p. 548.

(4) H. NISHIMURA et coll., *J. Antibiotics*, 17, Série A, 1964, p. 148.

(5) H. NISHIMURA et Y. KOMATSU, Communication personnelle.

(6) H. SAITO et K. MIURA, *Biochim. Biophys. acta*, 72, 1963, p. 619.

(7) M. BELJANSKI, C. FISHER et M. BELJANSKI, *Comptes rendus*, 253, 1963, p. 567.

(8) C. R. WYATT, dans *Nucleic Acids*, Chargaff et Davidson, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1, 1955, p. 243.

(9) M. BELJANSKI et M^{me} BELJANSKI (en préparation).

(10) S. OCHOA, *Nobel Lecture*, Stockholm, 1959.

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