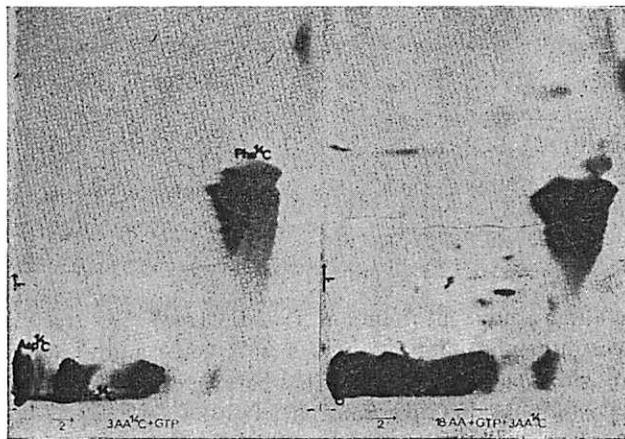
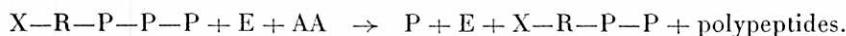


CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Synthèse de peptides par des fractions subcellulaires préparées à partir du foie de Rat.* Note (*) de MM. JEAN-PIERRE ZALTA et MIRKO BELJANSKI, présentée par M. Jacques Duclaux.

Synthèse de peptides par les polypeptide-synthétases de préparations particulières et solubles, préparées à partir du foie de Rat.

Une méthode permettant d'obtenir à partir de microsomes du foie de Rat des fragments capables d'incorporer, *in vitro*, les acides aminés dans les protéines, a été décrite par Zalta (¹), (²). Cette incorporation semble liée à la présence d'enzymes catalysant le transfert du phosphate terminal de chacun des quatre ribonucléoside-triphosphates à son homologue diphosphate. Ces réactions sont caractéristiques des quatre polypeptide-synthétases isolées et décrites par Beljanski (³), (⁴). Préparés et purifiés à partir d'*Alcaligenes faecalis*, ces enzymes synthétisent en présence de chaque ribonucléoside-triphosphate et d'acides aminés des peptides selon la réaction :



Cliché 1.

Cliché 2.

Radioautogrammes des chromatogrammes des surnageants d'incubation des fractions particulières (exposition de trois jours).

Nismann et Fukuara (⁵) ont mis en évidence l'existence de ces enzymes dans *Escherichia coli* et montré leur importance dans la synthèse des protéines dans différentes structures isolées à partir de cette bactérie.

Dans la présente Note nous résumons de nouveaux résultats concernant la présence de polypeptide-synthétases dans les microsomes et la fraction cytoplasmique soluble du foie de Rat.

Matériel et méthode. — Les microsomes et leurs fragments préparés à partir du foie de Rat Wistar selon la technique déjà décrite (¹), (²), sont

lysés par « sonnage » au Raytheon à 10 kc pendant 5 mn, puis dialysés, 18 h à 3°C contre un tampon trihydroxyméthylaminométhane-HCl 0,005 M, pH 7,4.

A partir de la fraction cytoplasmique soluble, « l'enzyme pH 5 » est préparé selon la technique de Hoagland (6). Les activités des polypeptide-synthétases ont été mises en évidence par : d'une part, la libération du phosphore terminal à partir de chacun des ribonucléoside-triphosphates en présence d'acides aminés; d'autre part, par la formation de peptides. Dans ce cas, le ribonucléoside-triphosphate utilisé est le guanosine-triphosphate (GTP) 3 μ M/ml, en présence d'un mélange de 15 L-acides aminés en proportions équimoléculaires et à la concentration totale de 5 μ M/ml et de L-acide aspartique 1 μ M, L-histidine 2 μ M, L-phénylalanine 2 μ M, ainsi que de L-acide aspartique, L-histidine et L-phénylalanine radioactifs, uniformément marqués au 14 C, de telle sorte que la radioactivité totale pour chacun d'eux soit 200 000 coups comptés par minute. Après 1 h d'incubation, la réaction est arrêtée par addition de deux volumes d'éthanol.

TABLEAU I.

Microgrammes de phosphore libéré par heure en présence de 3 mg de protéines de « l'enzyme pH 5 », à partir du ribonucléoside-triphosphate indiqué.

	ATP.	CTP.	GTP.	UTP.
Phénylalanine.....	3	1	7	8
Histidine.....	3	5	7	1
Acide aspartique.....	2,5	2	3,5	9
Leucine.....	5	1	11	1
Valine.....	4	1	9	1
Tryptophane.....	1	4	8	8
Tyrosine.....	1	1	6	1

Conditions d'incubation pour 1 ml : tampon Tris-HCl, pH 7,4, 100 μ M; Cl_2Mg , 5 μ M; FK, 5 μ M; ribonucléoside-triphosphate indiqué, 1 μ M; acide aminé indiqué, 3 μ M; préparation enzymatique, 0,25 à 3 mg. Incubation 1 h à 30°, arrêt par addition d'acide trichloracétique. Dosage de l'orthophosphate par colorimétrie (7).

TABLEAU II.

Microgrammes de phosphore libéré par heure et par milligramme de protéines particulières.

Nucléoside-triphosphate...	GTP.		ATP.	
	Sans	+ chloramphé- nicol 100 μ g.	Sans	+ chloramphé- nicol 100 μ g.
<i>Acides aminés :</i>				
Sans.....	6,0	6,5	-	-
Phénylalanine.....	11	7	11	7,5
Histidine.....	9	9	9,5	9
Acide aspartique.....	10	6	9,5	6,5

Conditions d'incubation (voir tableau I).

Le précipité est éliminé par centrifugation et le surnageant concentré sous vide, puis chromatographié sur papier Whatman n° 2 selon deux dimensions (*). Les taches radioactives sont décelées par radioautographie.

Résultats. Discussion. — Les tableaux I et II indiquent la quantité d'orthophosphate libéré à partir de ribonucléoside-triphosphates en présence des acides aminés indiqués et des préparations enzymatiques solubles et particulaires. D'après le tableau II le chloramphénicol inhibe, pour certains acides aminés, la libération d'orthophosphate. Souvent, pour les préparations particulaires une libération d'orthophosphate se produit sans addition d'acides aminés. Ce phénomène est probablement dû à la présence d'acides aminés dans ces préparations (2) et constitue une difficulté expérimentale.

En présence, dans le milieu d'incubation, des trois acides aminés radioactifs et du GTP comme source d'énergie, les radioautogrammes ne permettent pas de déceler des taches radioautographiques autres que celles dues aux acides aminés libres (cliché 1). Par contre, lorsque l'incubation est faite en présence de 18 acides aminés, les radioautogrammes (cliché 2) permettent de déceler de nombreuses petites taches radioactives. L'analyse de certaines de ces taches, après élution et hydrolyse acide, révèle qu'elles sont composées de plusieurs acides aminés dont certains des trois acides aminés radioactifs. Les préparations particulaires et « l'enzyme pH 5 » donnent des résultats semblables.

Les résultats rapportés dans la présente Note montrent la présence de polypeptide-synthétases dans les préparations particulaires et « l'enzyme pH 5 » obtenues à partir du foie de Rat. Le GTP pouvant être directement utilisé pour la formation de liaisons peptidiques, il est ainsi possible d'expliquer son rôle de facteur indispensable dans différents systèmes permettant l'incorporation des acides aminés dans les protéines (6).

(*) Séance du 10 juillet 1961.

(1) J.-P. ZALTA, *Comptes rendus*, 250, 1960, p. 4058.

(2) J.-P. ZALTA, *Contribution à l'étude de l'incorporation des acides aminés dans les microsomes du foie de Rat* (Thèse ès sciences naturelles, Paris, 1961).

(3) M. BELJANSKI, *Comptes rendus*, 250, 1960, p. 624.

(4) M. BELJANSKI, *Biochim. Biophys. Acta* (sous presse).

(5) B. NISMAN et H. FUKUHARA, *Comptes rendus*, 251, 1960, p. 908.

(6) M. B. HOOGLAND, *The Nucleic Acids*, III, E. Chargaff et J. V. Davidson, Academic Press Inc., New York, 1960, p. 349.

(7) J.-L. DELSAL et H. MANHOURI, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 40, 1958, p. 1623.

Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 253, p. 567-569, séance du 17 juillet 1961.

GAUTHIER-VILLARS & C^{ie},
55, Quai des Grands-Augustins, Paris (6^e),
Éditeur-Imprimeur-Libraire.

159955

Imprimé en France.