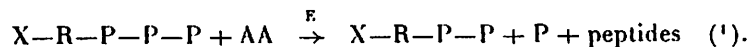


CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Le RNA messenger, accepteur spécifique des L-acides aminés en présence d'enzymes bactériennes.* Note (*) de M. MIRKO BELJANSKI, M^{mes} CATALINA FISCHER et MONIQUE BELJANSKI, transmise par M. Jacques Tréfouël.

Des acides ribonucléiques à marquage rapide de diverses origines servent d'accepteurs spécifiques des L-acides aminés « activés » en présence de ribonucléoside-5'-triphosphates et d'enzymes bactériennes.

Nous avons précédemment décrit un système enzymatique purifié d'*Alcaligenes faecalis* capable de former en présence de ribonucléoside-5'-triphosphates divers peptides à partir de L-acides aminés libres selon la réaction



Nous avons récemment constaté qu'une fraction de RNA intervient dans ces réactions. Avec chacun des L-acides aminés cette fraction forme un complexe « AA-RNA » précipitable en milieu acide (2). La fixation d'un acide aminé ¹⁴C est indépendante de la présence d'autres acides aminés (résultats non publiés de C. Woese et M. Beljanski). Ces résultats indiquaient que le complexe « AA-RNA » joue un rôle dans la formation des peptides (2). Nous avons également utilisé des RNA d'*Alcaligenes* qui, ayant incorporé le 5-fluorouracile ou l'azaguanine pendant des temps très courts, présentaient des modifications profondes et spécifiques dans la fixation des acides aminés. Ces résultats suggéraient que la fraction de RNA responsable de ces réactions devait être un RNA à renouvellement rapide (RNA-mr = messenger + éosomal).

Dans cette Note nous présentons des résultats qui permettent de préciser les propriétés et la nature de la fraction de RNA capable d'accepter les L-acides aminés.

TABLÉAU I.

Composition en bases de divers acides nucléiques chez Alcaligenes Faecalis.

Moles pour 100 moles de nucléotides.

	A.	G.	C.	U (T).	$\frac{G+C}{A+U(T)}$
DNA.....	16,5	33,9	32,8	16	2,30
RNA- ³² P (65-90).....	15,5	35,8	30,5	15	2,18
RNA- ³² P (40).....	24,3	28,0	25,5	25,0	1,09
RNA ribosomal.....	23,2	27,3	24,0	26,0	1,04
RNA-S.....	20,0	31,0	30,6	20,6	1,58

Des RNA d'*Alcaligenes faecalis* et de levures (3) en phase exponentielle de croissance, ont été marqués au ³²P ou à l'uracile ¹⁴C pendant des temps courts, conditions dans lesquelles seuls les RNA-mr contiennent de l'isotope [(5), (2)]. Les RNA du foie de Rat ont été marqués injecté au P³²

dans le péritoine de l'animal (1 h 30 mn avant le prélèvement). La méthode d'isolement et de purification des RNA décrite pour *Alcaligenes faecalis* a été appliquée (6). Chacune de ces préparations de RNA a été mise sur gradient linéaire de saccharose de 5 à 20 % et centrifugée dans le rotor SW25 de la « spinco » pendant 16 h à 24 000 t/mn. Sur les échantillons collectés nous avons déterminé la densité optique, la radioactivité de l'isotope incorporé dans les RNA et la capacité de chacune des fractions à former le complexe avec les L-acides aminés ¹⁴C en présence de ribonucléoside-5'-triphosphates et d'un excès d'enzymes purifiées. Les conditions d'incubation et d'isolement du complexe « AA-RNA » ont été décrites (6). Les résultats sont exprimés en nombre d'impulsions par échantillon (fig. 1, 2 et 3) et en millimicromoles d'acides aminés ¹⁴C pour 1 mg d'acide nucléique (tableau II). Les figures 1, 2 et 3 montrent le profil de divers types de RNA séparés à l'aide du gradient de saccharose. Les RNA à marquage rapide présentent des profils différents selon qu'ils proviennent des bactéries, des levures ou des tissus animaux. On constate que la courbe du complexe « AA-RNA » ne suit pas celle des densités optiques des RNA; Elle se superpose en revanche à la courbe des RNA-mr. Divers acides aminés ont été essayés. Dans tous les cas les courbes de distribution des acides aminés sont similaires. Ces résultats montrent que seuls les RNA-mr ou une fraction de ces RNA jouent le rôle d'accepteur des acides aminés en présence du système enzymatique employé. La fixation maximale d'alanine et de valine (fraction 21, fig. 1) est d'environ un acide aminé pour 120 à 150 nucléotides, le RNA étant dosé par les ultraviolets. Signalons que la formation du complexe « AA-RNA » ne se fait pas en présence de ribonucléase. Par contre la désoxyribonucléase est sans action.

TABLEAU II.

Activité acceptrice des RNA fractionnés par (NH₄)₂SO₄.

Fractions.	RNA (mg).	RNA (mg/ml).	³² P (CPM) (mg de RNA).	Millimicromoles d'acide aminé incorporé dans 1 mg de RNA.		
				Ala.	Leu	Phe.
40	24,0	7,60	4 060	1,5	1,2	1,0
55	0,98	1,00	6 240	2,0	1,8	1,2
60	1,00	0,82	6 460	4,0	3,18	2,7
65	1,30	0,44	5 490	27,0	24,60	12,5
70	4,60	1,70	2 860	17,6	13,00	7,6
80	4,30	2,82	2 690	16,0	14,50	8,0
90	2,0	0,82	6 130	29,0	26,00	14,2
95	0,36	0,22	4 810	17,0	18,5	9,0

Nous avons cherché à déterminer chez *Alcaligenes faecalis* la teneur en RNA messenger et en RNA éosomal dans la fraction de RNA à marquage rapide. Rappelons que le RNA messenger défini par Jacob et Monod (7) serait porteur de l'information génétique structurale. On sait que cet RNA

a été caractérisé par un rapport de bases qui se rapproche de celui du DNA de même origine. Le RNA éosomal a été défini par Carthy et Britten (8) comme ayant une composition en bases semblable à celle du RNA ribo-

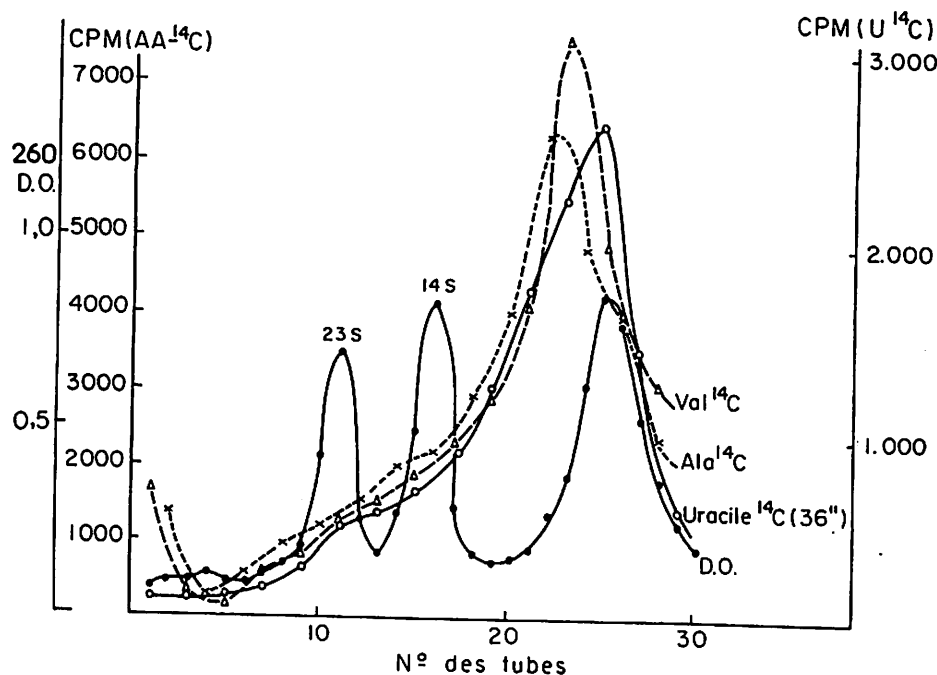


Fig. 1. — Les RNA d'*Alcaligenes faecalis* sédimentés sur gradient de saccharose.

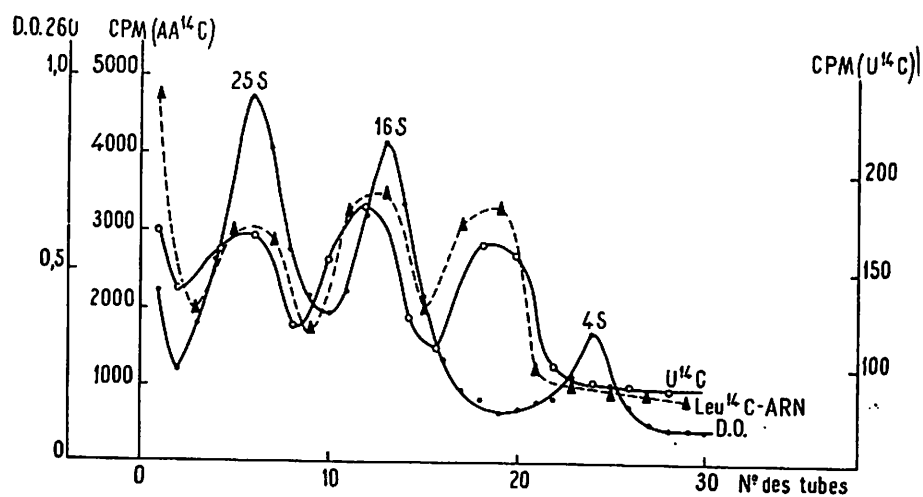


Fig. 2. — Les RNA de levures sédimentés sur gradient de saccharose.

somal dont il serait le précurseur. Après marquage au ^{32}P (30 s) des RNA-mr, nous avons isolé et purifié les RNA totaux d'*Alcaligenes faecalis* puis fractionné en 8 ou 10 parties à l'aide de sulfate d'ammoniaque dans du tampon phosphate 0,1 M pH 7,4. Sur chaque fraction dialysée nous avons déterminé la capacité à former le complexe « AA-RNA », la teneur en ^{32}P

et le rapport de radioactivité des nucléotides séparés (après hydrolyse alcaline) sur Dowex 1 × 2. Les fractions précipitées entre 60 et 95 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ donnent généralement deux pics de radioactivité spécifique en ^{32}P (ou $\text{U-}^{14}\text{C}$). Les compositions en bases de certaines fractions d'acides nucléiques sont présentées dans le tableau I. Les fractions les plus actives (25 à 30 % de RNA-mr) pour la fixation des acides aminés sont celles qui présentent un rapport de la radioactivité des nucléotides semblable à celui du DNA (tableau II). Par contre les fractions les moins actives ont un rapport des nucléotides marqués proche de celui du RNA

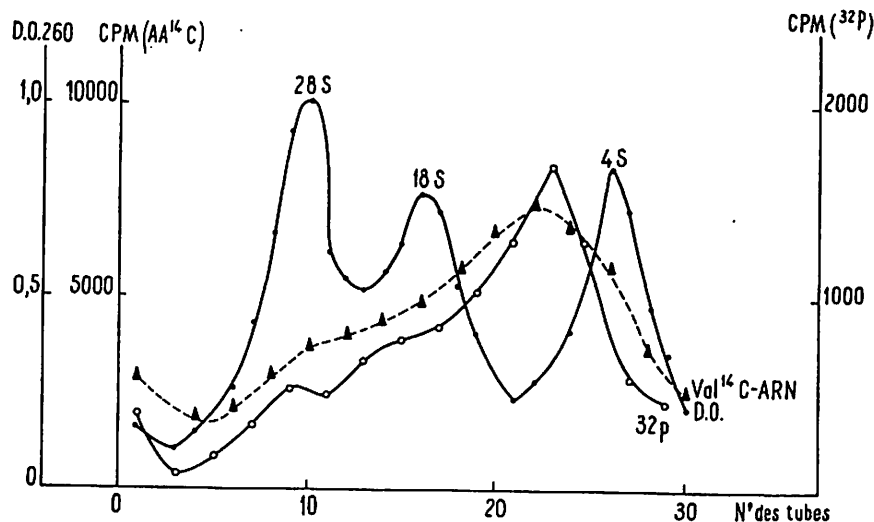


Fig. 3. — Les RNA du foie de Rat sédimentés dans un gradient de saccharose.

ribosomal. La comparaison de ces résultats montre que les fractions acceptrices des acides aminés dans le présent système sont constituées par le RNA messenger. Ajoutons que le RNA du virus de la mosaïque jaune du Navet (VMJN) accepte les L-acides aminés en particulier la L-valine dont le taux de fixation est comparable à celui observé avec le RNA homologue (résultats non publiés en collaboration avec le Docteur L. Hirth et ses collaborateurs).

(*) Séance du 1^{er} juillet 1963.

(1) M. BELJANSKI, M^{me} M. BELJANSKI et T. LOVINY, *Biochim. Biophys. Acta*, 56, 1962, p. 559.

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

(3) J. Weil a préparé les RNA des levures.

(4) M. NOMURA, B. D. HALL et S. SPEIGELMAN, *J. Mol. Biol.*, 2, 1960, p. 306.

(5) F. GROS, F. HIATT, M. GILBERT, W. KURLAND, C. G. RISEBROUGH et J. D. WATSON, *Nature*, 190, 1961, p. 581.

(6) M. BELJANSKI et M^{me} M. BELJANSKI, *Biochim. Biophys. Acta*, 1963 (sous presse).

(7) F. JACOB et J. MONOD, *J. Mol. Biol.*, 3, 1961, p. 318.

(8) E. T. BOLTON et R. J. BRITTEN, *Carnegie Institution of Washington, Year Book*, 1961.

(Institut Pasteur, Paris.)