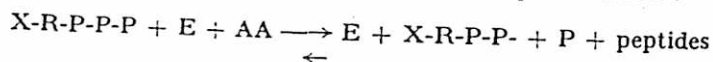


## DISCUSSION

M. Beljanski. — Je pense qu'il n'est nullement déplacé dans une réunion portant sur les acides nucléiques et les polyphosphates de vous entretenir d'enzymes qui ne peuvent synthétiser les chaînes peptidiques qu'en présence de ribonucléoside triphosphates.

Au cours de notre travail sur la biosynthèse des protéines *in vitro* en collaboration avec le Dr OCHOA, nous avons isolé à partir d'*Alcaligenes faecalis* une fraction enzymatique capable de stimuler l'incorporation des acides aminés dans les fragments préparés à partir de ces mêmes bactéries. M. BELJANSKI et S. OCHOA ; Proc. Nat. Ac. Sc. US. 44, 1958, p. 494). Poursuivant indépendamment l'étude de ce problème à l'Institut Pasteur, nous avons mis en évidence que cette fraction enzymatique était capable de transférer le phosphore terminal à partir de chacun des quatre ribonucléoside triphosphates aux ribonucléoside diphosphates homologues. L'observation que l'échange pouvait avoir lieu uniquement entre les nucléotides homologues, suggérait fortement l'existence de quatre enzymes indépendants, ce qui fut en effet confirmé par l'inactivation thermique et la purification ultérieure. M. BELJANSKI ; C. R. Ac. Sc. 248 1959 p. 1446 ; idem 250 1960 p. 624. Incubés en présence de L-acides aminés ces enzymes sont capables de dégrader chaque ribonucléoside triphosphate (ATP, GTP, UTP, CTP) en ribonucléoside diphosphate et en phosphore minéral en quantité stoechiométrique. Chaque enzyme est spécifique d'un nucléotide donné et dans une large mesure d'un groupe d'acides aminés, parmi les 18 individuellement testés. Il faut préciser que ces préparations enzymatiques contiennent généralement entre 0,5 et 3% d'acides nucléiques. Aucune préparation active n'était totalement exempte d'acides nucléiques.

Nous avons dans un mémoire en cours de publication appelé ces enzymes les polypeptides synthétases en raison de leur capacité à synthétiser différents  $\alpha$ -peptides en présence soit d'ATP, GTP, UTP ou de CTP, à partir d'un seul ou de plusieurs L-acides aminés M. BELJANSKI, M. BELJANSKI et T. LOVIGNY, Bioch. Bioph. Acta sous presse.) Après incubation des polypeptides synthétases en présence d'alanine  $^{14}\text{C}$  et soit d'ATP, soit de GTP on peut déceler dans le surnageant des peptides. La chromatographie, l'autoradiographie et la détermination du groupement N terminal ont montré que certains peptides néoformés sont constitués de deux, de quatre ou de plusieurs résidus de cet acide aminé. Soulignons que le ATP seul en l'absence d'ATP participe dans la formation de certains de ces peptides. Nous avons établi le lien stoechiométrique entre le nombre de liaisons peptidiques formées et l'orthophosphate libéré. La réaction pourrait se schématiser de la façon suivante :



Lorsque deux acides aminés, choisis de telle sorte qu'un seul peut permettre la dégradation du ribonucléoside triphosphate présent, sont incubés avec la polypeptidique synthétase on obtient des peptides mixtes. La place N terminale est toujours occupée par l'acide aminé permettant la dégradation du ribonucléoside triphosphate (M. BELJANSKI, M. BELJANSKI et T. LOVIGNY, Bioch. Bioph. Acta, sous presse). Ces résultats suggèrent fortement que c'est le groupement carboxylique des acides aminés qui serait « activé » par les polypeptides synthétases.

La présence de ces enzymes a également été mise en évidence dans *Escherichia coli* par Nisman et Fukuhara, qui ont montré que ces enzymes étaient indispensables à la synthèse de protéines dans différentes structures de ces mêmes bactéries en présence d'ADN homologue (B. NISMAN et H. FUKUHARA ; C. R. Ac. Sc. 250, 1960, p. 410. B. NISMAN et H. FUKUHARA ; C. R. Ac. Sc. 251, p. 809, 1960.) ZALTA a montré que des granules isolés à partir de microsomes du foie de rats ne peuvent incorporer les acides aminés dans les protéines acidoprécipitables qu'en présence des quatre polypeptide synthétases. (J. P. ZALTA, Reading (England). The structure of cytoplasmic particles and their role in protein synthesis. 28/29 mars 1960). Nous avons obtenu des résultats identiques avec des granules isolés à partir d'*Alcaligenes faecalis*. (M. BELJANSKI ; Bioch. Bioph. Acta 41, 1960, p. 52.) ZALTA et moi-même avons montré que les polypeptide synthétases existent également dans le précipité obtenu à pH 5,0 à partir du surnageant à 105.000 g, préparé selon la technique de Hoagland (J. P. ZALTA et M. BELJANSKI ; C. R. Ac. Sc. sous presse. Ce précipité incubé en présence de trois acides aminés radioactifs (Asp ; His ; Phe) et du seul GTP comme source d'énergie exogène ne peut former de nombreux peptides qu'en présence également d'un mélange de 18 L-acides aminés. Les peptides obtenus sont différents de ceux obtenus dans d'autres expériences en présence de CTP ou d'UTP ou d'ATP. Ces résultats peuvent expliquer la nécessité en GTP en particulier, dans de nombreux systèmes, tel celui décrit par HOAGLAND. (M. B. HOAGLAND ; The nucleic acids III. Academic press Inc. New York,) capables d'incorporer les acides aminés dans les protéines. Le chloramphénicol, dans nos expériences (J. P. ZALTA et M. BELJANSKI ; C. R. Ac. Sc. sous presse) inhibe la formation de certains de ces peptides. SCHUURS et ses collaborateurs (A. H. W. M. SCHUURS, S. R. de KLOET et V. V. KONINGSBERG. Biochem. Biophys. Research Comm. 3 p. 300, 1960.) viennent de montrer que des extraits solubles des levures « activeraient » les peptides en présence de chacun des quatre ribonucléoside triphosphates.

Rappelons que la synthèse enzymatique de quelques peptides tel le glutathion (J. SNOKE et K. BLOCH ; J. Biol. Chem. 213, p. 825, 1955) ne nécessite que l'ATP comme source d'énergie. C'est une des raisons qui a fait qu'on a longtemps considéré l'ATP comme unique source d'énergie pour la formation des liaisons peptidiques.

La spécificité des polypeptide synthétases à la fois pour les quatre ribonucléoside triphosphates et les L-acides aminés permet de penser que ces systèmes enzymatiques peuvent assurer la synthèse du nombre illimité de liaisons peptidiques que requiert la biosynthèse des protéines, lorsqu'ils se trouvent dans la cellule.

**B. Nisman.** — Je voudrais vous présenter quelques résultats que nous avons obtenu en collaboration avec MM. René COHEN, Alain KAYSER, H. FUKUHARA et Mlles J. DEMAILLY et C. GENIN. Ces résultats concernent le rôle des acides nucléiques dans la synthèse des protéines par les fractions structurales isolées après lyse des spheroplastes d'*Echerichia Coli* (K 12) par la digitonine en milieu hypertonique.

Des recherches ont été entreprises en vue d'isoler à partir des protoplastes un système subcellulaire capable d'effectuer la synthèse des protéines (NISMAN B. et FUKUHARA H. C. R. 149 1725-1727 1959).

*Fractionnement des protoplastes.* Le fractionnement a été abordé par une méthode aussi délicate que possible : évitant les abrasifs dont l'action est incontrôlable nous avons utilisé la digitonine qui lyse les protoplastes d'une façon régulière et reproductible. On procède en milieu hypertonique (sucrose 0 5