

II. IDENTIFICATION DES ARN ATTACHÉS A L'« ADN PURIFIÉ ». — La présence d'ARN dans les préparations d'ADN est contrôlée par le dosage colorimétrique du ribose (¹) ou par l'isolement des ribonucléotides sur colonne de « Dowex » après traitement par le KOH. Eventuellement, ces ARN peuvent être détachés de l'ADN par les DNases pancréatiques et de *Micrococcus*, et dans ce cas, déprotéinisés et dialysés. L'ADN chargé en ARN est dialysé contre l'urée 2 M ; les ARN sont séparés en présence de lauryl sulfate par électrophorèse sur gel d'acrylamide à 9 % (l'ADN ne migre pas sur ce gel). La position des ARN est déterminée par densitométrie ou radioactivité (uracile ¹⁴C). Chaque fraction d'ARN est éluée du gel d'acrylamide, dialysée et son pouvoir transformant est ensuite contrôlé comme décrit (²). L'analyse des nucléotides des ARN (³²P) est réalisée à l'aide d'une colonne de « Dowex » (¹).

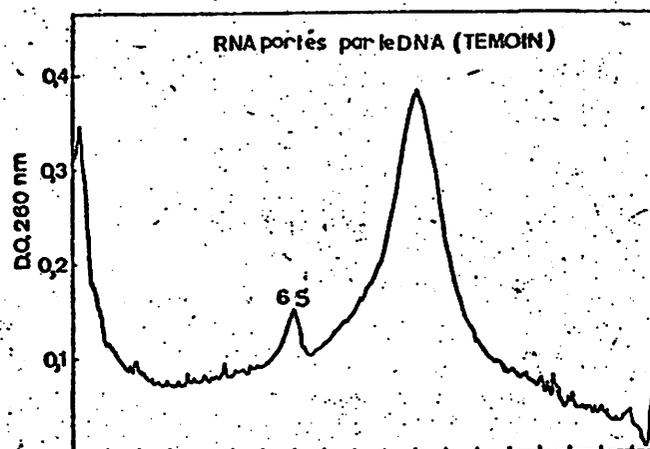


Fig. 2. — Tracés densitométriques des ARN détachés de l'ADN et séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide (bactéries sauvages)

RÉSULTATS. — ARN liés à l'ADN. — a. Chez les bactéries sauvages d'*E. coli* Hfr H : La quantité d'ARN encore présents dans l'« ADN très purifié » varie de 6 à 10 %. Ces ARN sont séparables de l'ADN (en 2 SSC) après traitement par le lauryl sulfate, l'urée ou par la DNase. Nous avons mis en évidence l'existence de plusieurs fractions d'ARN (³) (fig. 2) dont le rapport des bases ($G + A/C + U \neq 2$) diffère fortement de celui des autres ARN synthétisés par ces mêmes bactéries (tableau II). Après dialyse de l'ADN contre l'urée, les ARN détachés ne contiennent pas de quantité détectable de résidus d'ADN. Parmi ces fractions d'ARN une seule (ARN 6 S) possède le « pouvoir transformant » sur les bactéries sauvages utilisées : *E. coli* Hfr H et *Agrobacterium tumefaciens* B₆ (tableau I). Le pouvoir transformant qui s'exprime en présence de DNase et non en présence de RNase est décrit ailleurs (²) ; il se traduit par l'apparition des ARN endogènes riches en AMP et GMP, ARN non complémentaires de l'ADN (tableau II). L'existence d'un épisome à ARN porté par l'ADN d'*E. coli* et possédant un potentiel génétique propre se trouve donc confirmée. Sa réplication conduit à la synthèse des protéines modifiées [(¹), (²)].

b. Chez les bactéries mutantes *M* 500 Sho-R : « L'ADN très purifié » des bactéries mutantes Sho-R porte également différentes fractions d'ARN (fig. 3). Par leur

composition globale en nucléotides ($G + A/C + U \neq 2$) les ARN liés à l'ADN des bactéries mutantes ne se distinguent pratiquement pas des ARN ribosomiques de l'ARN à marquage rapide, ni des ARN excrétés que synthétisent le mutant Sho-R [(¹), (²)]. Toutefois il faut noter certaines différences des masses moléculaires et la répartition quantitative très différente entre les fractions d'ARN portées par l'ADN des bactéries sauvages ou par celui des bactéries mutantes (fig. 2 et 3).

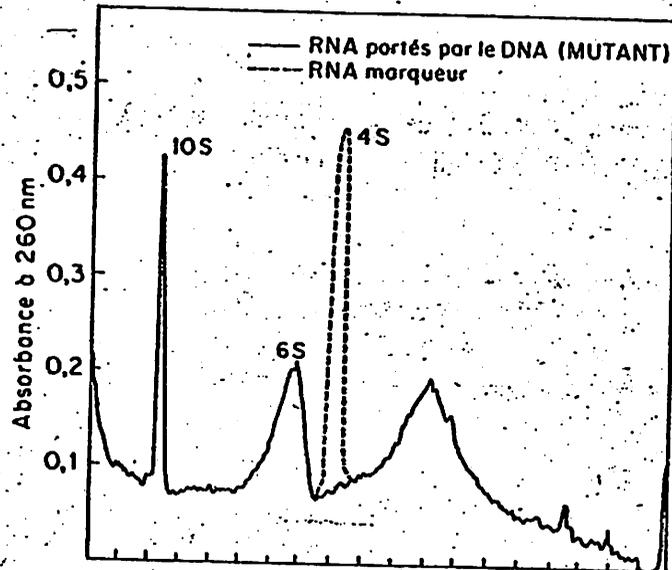


Fig. 3. — Tracés densitométriques des ARN détachés de l'ADN et séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide (mutant M 500 Sho-R)

Après traitement par la DNase ou par l'urée et le lauryl sulfate, l'épisode à ARN, arraché de l'ADN des bactéries mutantes présente trois fractions d'ARN dont une seule (ARN 6 S) possède sur les bactéries sauvages Hfr H (tableaux I et II) un pouvoir

TABLEAU I

Transformation des bactéries sauvages de différentes souches par l'ARN-épisode détaché de « l'ADN très purifié » (E. coli)

Souches réceptrices	Source d'ARN-épisode Hfr H sauvage	Rapport Ribose/ultra-violet	Différence (%)
Hfr H sauvage	Sans	0,63	—
	+ 0,3 µg	0,82	30
	+ 0,6 µg	0,83	31
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> B ₆	Sans	0,64	—
	+ 0,3 µg	0,82	28
	+ 0,6 µg	0,83	29
Hfr H sauvage	Source d'ARN-épisode Hfr H M 500 Sho-R		
	Sans	0,63	—
	+ 0,3 µg	0,87	39
	+ 0,6 µg	0,88	40

TABLEAU II

Rapport des bases de l'épisode à ARN des bactéries sauvages (T)
et mutantes M 500 Sho-R (M) ainsi que des ARN ribosomiques (T) et (M)
et des « transformés » (Tr.)

Moles pour 100 moles de nucléotides analysés

Bases	ARN	ARN			ARN	ARN
	porté par l'ADN T	(23 S + 16 S) T	(23 S + 16 S) Tr (par ARN- épisode T)	porté par l'ADN M	(23 S + 16 S) M	(23 S + 16 S) Tr (par ARN- épisode M)
A	29,7	24,5	31,2	32,5	31,5	30,9
G	35,2	27,8	33,8	35,1	34,7	35,7
C	17,6	24,2	18,9	15,8	17,2	17,1
U	17,5	23,5	16,1	15,6	16,2	16,3
G + A/C + U.	1,86	1,10	1,86	2,07	1,98	1,99
G + C/A + U.	1,11	1,08	1,10	1,03	1,08	1,11

Le rapport G + A/C + U de l'ARN-épisode porté par « l'ADN très purifié » des bactéries sauvages varie selon la préparation de 1,65 à 2,04. Transformés : bactéries sauvages transformées par les ARN indiqués.

transformant identique à celui de l'épisode à ARN des bactéries sauvages ou à celui décrit pour les ARN excrétés ⁽²⁾ qui ne sont en fait que la réplication par identité de cet épisode.

Nous pouvons maintenant proposer l'explication du processus de mutation massive s'exprimant par l'apparition d'ARN endogènes riches en AMP et GMP, ARN non complémentaires de l'ADN. Chez les bactéries sauvages préexiste un ARN-épisode qui, dans les conditions physiologiques normales ne s'exprime pas. Pour devenir fonctionnel et imposer la synthèse des ARN endogènes comme lui riches en AMP et GMP ⁽⁴⁾ il doit être « dégagé ». *In vivo*, le réveil de l'épisode à ARN des bactéries sauvages devient possible soit en présence de showdomycine (activation d'une protéine enzymatique ?) soit d'ARN transformants (épisode détaché ou ARN excrétés) qui pourraient, avant d'être transcrits, s'intercaler et coopérer avec les autres ARN associés à l'ADN. Ainsi apparaissent les mutants particuliers ⁽³⁾ ou les « transformés stables » ⁽²⁾ qui, à leur tour excrètent un ARN à pouvoir transformant, copie de l'ARN-épisode. Déclenché, le processus devient irréversible.

(*) Séance du 3 mai 1971.

(1) M. BELJANSKI, P. BOURGAREL et M^{me} M. BELJANSKI, *Proc. Natl. Acad. Sc. U. S.*, 68, 1971, p. 491.

(2) M. BELJANSKI, M^{me} M. BELJANSKI et P. BOURGAREL, *Comptes rendus*, 272, Série D, 1971, p. 2107.

(3) M. BELJANSKI, M^{me} M. BELJANSKI, P. BOURGAREL et J. CHASSAGNE, *Comptes rendus*, 269, Série D, 1969, p. 240.

(4) M. PLAWECKI et M. BELJANSKI (en préparation).

(5) Sans toutefois affirmer si les 3 fractions font partie intégrante de l'épisode à ARN.

Service de Biochimie Cellulaire, Institut Pasteur,
28, rue du Docteur-Roux, 75-Paris, 15^e.