

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA FERMENTATION ET DE LA RESPIRATION DE
ESCHIRICHIA COLI

IV. RÔLE DE LA PERMÉABILITÉ DANS L'ÉTUDE DU
MÉTABOLISME BACTÉRIEN DE *E. COLI*

par

EUGÈNE AUBEL ET JEKISIEL SZULMAJSTER

Institut de Biologie Physico-chimique, Paris (France)

Nous rappellerons tout d'abord quelques travaux traitant des rapports entre métabolisme et perméabilité chez les microorganismes.

RUNNSTRÖM ET SPERBER^{1, 2} ont étudié ces rapports dans la levure et constaté une différence dans la sensibilité au fluorure, entre la levure intacte et la levure séchée. La concentration en fluorure qui inhibe à 100 % la fermentation de la levure séchée, reste sans action sur la levure intacte. En outre, ils ont remarqué que la pénétration de cet inhibiteur se fait beaucoup mieux en anaérobiose qu'en aérobiose. Pour ces auteurs, la respiration endogène joue un rôle de première importance. Dans la levure appauvrie (par agitation de 20 heures dans l'eau distillée), la pénétration du fluorure est plus rapide et l'inhibition totale. BRANDT³ a remarqué que l'aération et l'addition du glucose provoquent une diminution de la perméabilité de la levure séchée et conduisent à la reconstitution des propriétés physiologiques de la levure normale.

MALM⁴, dans le laboratoire de RUNNSTRÖM, a conclu que l'action protectrice du glucose vis-à-vis du fluorure est due, non pas à la perméabilité, mais à la combinaison de l'enzyme avec le glucose, à l'intérieur de la cellule. LYNEN⁵ a souligné le rôle décisif que joue la perméabilité dans l'étude du métabolisme de la levure intacte: avant d'attribuer une importance quelconque à une substance, dans le métabolisme, il faut d'abord s'assurer qu'elle peut diffuser à travers la membrane. Dans la diffusion des petites molécules, c'est la charge électrique et non pas le poids moléculaire qui intervient. Ainsi s'explique que le glucose (P.M. 180) et le saccharose (P.M. 342), comme les anions monovalents (lactate et acétate), pénètrent facilement, tandis que le phosphate trivalent (P.M. 97) ou le citrate (P.M. 192) ne peuvent pas passer à l'intérieur de la cellule. C'est ce qui permet de comprendre pourquoi l'hexose-diphosphate n'est jamais fermenté par la levure intacte ni, d'après nos propres expériences, par *E. coli*.⁶

Rappelons que nous avons observé que le fluorure inhibe totalement la fermentation du glucose, alors qu'à la même concentration il est sans action sur la respiration de *E. coli* en présence de ce substrat⁷. Par contre, avec les bactéries broyées, l'oxydation du glucose est inhibée à 65 %. Nous avons donc affaire à un phénomène analogue à celui observé par RUNNSTRÖM et ses collaborateurs sur la levure.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Pour voir si le glucose exerce une action protectrice contre l'inhibition par le fluorure, nous avons divisé une suspension bactérienne* en deux parties égales après le premier lavage au chlorure de sodium à 0.9 %. A une partie on ajoute une solution de fluorure de sodium (concentration finale $M/33$), puis on fait passer un courant d'air dans les deux suspensions pendant une heure. On centrifuge et remet en suspension les deux culots dans le tampon phosphate à pH 6.8.

L'expérience faite dans l'appareil de WARBURG montre que lorsque le glucose est ajouté aux bactéries après traitement préalable au fluorure, l'inhibition est trop faible (20-30 %), pour être expliquée par la seule hypothèse de RUNNSTRÖM^{1, 2}. Ceci nous a amené à penser que la non-inhibition a pour cause principale la difficulté de pénétration du fluorure en présence de glucose. Et, de fait, nous avons provoqué l'inhibition totale de l'oxydation du glucose par le fluorure simplement en ajoutant du succinate comme on le voit dans le Tableau I.

TABLEAU I
ACTION DE *E. coli* INTACT SUR LE GLUCOSE ET LE SUCCINATE EN ABSENCE
ET EN PRÉSENCE DE FLUORURE DE SODIUM (AÉROBIOSE)

a. Expérience faite dans l'appareil de WARBURG. Chaque cupule contient: 1 ml de suspension bactérienne dans tampon phosphate pH 6.8 + 1 ml de substrat (glucose à concentration finale $M/90$, succinate à $M/60$) + 0.5 ml d'une solution de fluorure à concentration finale $M/33$ + 0.2 ml de soude à 10%.

Les chiffres sont exprimés en millimètres cubes d'oxygène consommé.

	10 min	20 min	40 min	60 min	Inhibit. %	Présence d'acide pyruvique
Susp. + glucose	48	91	184	270		+
Susp. + glucose + fluorure de sodium	51	102	190	281	0	+
Susp. + succinate	24	45	86	142		-
Susp. + succinate + fluorure	0	0	3	3	98	-
Susp. + succinate + glucose	101	186	352	505		+
Susp. + succinate + glucose + fluorure	0	0	0	0	100	-

En outre, dans le même tableau, nous avons donné les résultats des réactions qualitatives de l'acide pyruvique faites à la fin de l'expérience. Ces réactions sont positives en présence de glucose, glucose + fluorure, et glucose + succinate et négatives en présence de succinate, succinate + fluorure et succinate + glucose + fluorure.

Il semble difficile d'interpréter ces expériences autrement que par la modification de la perméabilité créée par le succinate vis-à-vis du fluorure en présence de glucose. Ce n'est sans doute pas un phénomène général puisque rien de tel n'a été observé par RUNNSTRÖM^{1, 2} et ses collaborateurs travaillant sur la levure, justement dans un tampon succinate.

* Pour les différentes techniques, voir les mémoires précédents^{6, 7, 8}.

TABLEAU II

ACTION DE *E. coli* INTACT SUR LE GLUCOSE ET LE SUCCINATE EN ABSENCE
ET EN PRÉSENCE D'AZOTURE DE SODIUM

Chaque cuvelette contient: 1 ml de suspension bactérienne dans tampon phosphate $M/15$ à $\text{pH } 6.8$ + 1 ml de substrat (glucose à $M/90$ ou succinate à $M/60$ en concentration finale) + 0.5 ml d'une solution d'azoture de sodium à concentration finale $M/800$ ou 0.5 ml d'eau + 0.2 ml de soude à 10%. Les chiffres expriment les millimètres cubes d'oxygène consommé.

	10 min	20 min	40 min	60 min	Inhibit. %	Présence d'acide pyruvique
Susp. + glucose	36.5	72	132	193		+
Susp. + glucose + azoture de sodium	38	79	139	218		+
Susp. + succinate	7.5	17.5	36	69		-
Susp. + succinate + azoture de sodium	1	6	8	13	81	-
Susp. + glucose + succinate	51	96	179	276		+
Susp. + glucose + succinate + azoture de sodium	59	107	182	277	0	+

On pourrait objecter à nos expériences qu'en présence de glucose et de succinate il se forme un produit très sensible au fluorure, ce qui provoque l'inhibition totale. Mais nous avons vu dans un mémoire précédent⁸ que le seul obstacle à l'action du fluorure en présence de glucose est l'imperméabilité cellulaire puisque dans le broyat, le fluorure inhibe considérablement l'oxydation du glucose et la formation d'acide pyruvique.

Quant à l'action de l'azoture et du malonate de sodium, nous avons déjà fait remarquer que ces inhibiteurs pénètrent sûrement dans les bactéries (QO_2 différents), bien que la concentration en malonate à l'intérieur de la cellule soit probablement plus faible que dans le milieu extérieur. Que ces inhibiteurs pénètrent dans les cellules intactes est encore confirmé par le fait que leur action sur la partie liquide du broyat est presque identique à celle exercée sur les bactéries intactes.

Nous avons refait l'expérience donnée dans le Tableau I, en remplaçant le fluorure soit par l'azoture (Tableau II), soit par le malonate de sodium (Tableau III). Ces résultats montrent que la respiration en présence de glucose plus succinate est la même, avec ou sans ces deux inhibiteurs, bien que ces derniers empêchent l'oxydation du succinate en absence de glucose. Ceci peut s'expliquer de la manière suivante: en réalité l'oxydation du succinate est empêchée par le malonate ou l'azoture de sodium (qui se fixent sur la succino-deshydrogénase), même en présence de glucose. Seulement, cette inhibition se trouve compensée par une exaltation de la respiration due au glucose et produite par les faibles quantités d'inhibiteurs restant dans la cellule.

En tous cas nous pouvons donc affirmer que, des trois inhibiteurs étudiés ici, seul le fluorure ne pénètre pas dans les bactéries intactes, en présence de glucose, ce qui explique la différence, observée dans notre premier mémoire⁷, dans l'action du fluorure sur l'oxydation, par les bactéries intactes, du glucose d'une part, et des hexoses-phosphates d'autre part.

TABLEAU III

Les cupules ont même contenu que dans le Tableau II, seulement l'azoture de sodium est remplacé par le malonate.

	10 min	20 min	40 min	60 min	Inhibit. %	Présence d'acide pyruvique
Susp. + glucose	51	97	175	262		+
Susp. + glucose + malonate	48	102	190	272		+
Susp. + succinate	10	17	54	80		—
Susp. + succinate + malonate	4	7	13	15	81.5	—
Susp. + glucose + succinate	62	123	220	357		+
Susp. + glucose + succinate + malonate	56	121	221	336	0	+

Après ces expériences démontrant le rôle important de la perméabilité dans l'étude du métabolisme bactérien, nous avons essayé d'expliquer une autre difficulté soulévée au cours des mémoires précédents^{6, 7, 8}: celle de l'action de l'azoture de sodium. Nous avons vu que cet inhibiteur n'agit ni sur les deshydrogénases, ni sur les phosphatases, ni sur la phosphorylation et que, pourtant, l'oxydation, par les bactéries intactes, de l'hexose-diphosphate est inhibée⁷. Par quel mécanisme? Il était nécessaire de rechercher d'abord si cette inhibition subsiste également dans les bactéries broyées. Les résultats donnés dans le Tableau IV montrent que l'oxydation du glucose est toujours exaltée par l'azoture de sodium et, contrairement à ce qui se passe avec les bactéries intactes, l'inhibition

TABLEAU IV

Chaque cupule de l'appareil de WARBURG contient: 1 ml du liquide du broyat (+) + 1 ml de substrat à $M/90$ (concentration finale) + 0.5 ml d'une solution d'azoture de sodium à concentration finale $M/800$ + 0.2 ml de soude à 10%.

	10 min	20 min	40 min	60 min	90 min	Inhibit. %	Présence d'acide pyruvique
Liquide de broyat	3	3	5.5	8	12		
Liquide de broyat + glucose	20	40.5	67	100	143		+
Liquide de broyat + glucose + azoture de sodium	22	42.5	73	105	154	exalt.	+
Liquide de broyat + hexose-diphosphate	19.5	33	54	77	102		+
Liquide de broyat + hexose-diphosphate + azoture de sodium	18	29	49	71	91	10	+

* La technique de broyage de bactéries a été donnée dans un précédent mémoire⁸.

de l'oxydation de l'hexose-diphosphate est négligeable (10 %). La réaction qualitative de l'acide pyruvique est dans tous les cas positive.

Cette expérience peut être interprétée de deux manières:

1. Dans le liquide du broyat, l'azoture de sodium se combine avec certaines protéines libres, ce qui empêche son action⁸. 2. L'azoture de sodium n'agit vraiment pas sur l'oxydation de l'hexose-diphosphate. Mais, dans ce cas, il reste toujours à expliquer pourquoi l'azoture de sodium inhibe l'oxydation de l'hexose-diphosphate dans les bactéries intactes.

Nous avons montré⁶ qu'en réalité les hexoses-phosphates ne peuvent pas pénétrer dans les bactéries. Ils doivent, au préalable, s'hydrolyser en hexoses + phosphate. Cette hydrolyse est accomplie par les phosphatases qui peuvent, durant l'expérience, passer dans le milieu extérieur, par une modification de la membrane, au cours d'une légère autolyse. Il est donc concevable que l'action de l'azoture de sodium se borne seulement à empêcher la diffusion de ces phosphatases. Nous avons d'ailleurs vu que l'azoture de sodium empêche l'autolyse et s'oppose, par suite, au passage de la phosphatase à l'extérieur de la cellule. Ceci nous a suggéré l'expérience suivante:

Une suspension bactérienne (préparée comme dans les expériences sur les phosphatases)⁶ est divisée en deux parties égales. A l'une d'elles on ajoute de l'azoture de sodium pour avoir la concentration finale $M/325$. Les deux suspensions sont mises à l'étuve à 37° pendant trois heures, puis centrifugées. On recueille les deux liquides surnageants FN et FA et les deux culots BN et BA. Ces derniers sont remis en suspension dans un volume identique de tampon neuf. Sur les quatre fractions sont faits les essais suivants:

1. 5 ml soit de suspension bactérienne, soit de liquide surnageant + 1 ml d'une solution d'hexose-diphosphate à 1 % on complète à 16 ml avec tampon borate p_H 7.
2. 5 ml soit de suspension bactérienne, soit de liquide surnageant + 1 ml d'une solution d'hexose-diphosphate à 1 % + azoture de sodium à concentration finale $M/325$; on complète à 16 ml avec tampon borate à p_H 7.
3. 5 ml soit de suspension bactérienne, soit de liquide surnageant; on complète à 16 ml avec tampon borate à p_H 7.

Après addition du substrat et de l'inhibiteur, on laisse trois heures à l'étuve à 37°, puis on déprotéinise et on dose le phosphore minéral final. Les dosages de phosphore minéral initial sont faits dans les mêmes conditions avant le second séjour à l'étuve.

Le Tableau V donne les résultats de ces dosages.

Cette expérience montre que lorsqu'on laisse la suspension bactérienne en présence de l'azoture de sodium pendant trois heures, l'hydrolyse de l'hexose-diphosphate dans le liquide surnageant (FA) est inhibée à 80 % par rapport au liquide témoin (FN) provenant de bactéries non traitées par cet inhibiteur. On a donc une action de l'azoture de sodium sur le passage à l'extérieur de la cellule, ce qui empêche l'hydrolyse de l'hexose-diphosphate et, par conséquent, son utilisation par les bactéries. Ce fait explique l'inhibition apparente observée dans les expériences manométriques⁷.

Nous devons cependant faire remarquer que, dans le liquide surnageant (FN), provenant de bactéries non traitées par l'azoture de sodium, l'hydrolyse de l'hexose-diphosphate est faible et parfois nulle. Ces résultats, comparés à ceux obtenus à une autre époque, montrent une variation nette dans les propriétés de la membrane bactérienne. D'ailleurs, le QO_2 , mesuré parallèlement à chaque expérience sur les phosphatases, est ici égal à 17, alors qu'auparavant il était, en moyenne, égal à 50. *Il y a donc une proportion*

TABLEAU V

HYDROLYSE DE L'HEXOSE-DIPHOSPHATE PAR *E. coli* INTACT ET "LIQUIDE SURNAGEANT"
TRAITÉES PAR L'AZOTURE DE SODIUM

Phosphore organique sous forme d'hexose-diphosphate de magnésium contenu dans 10 ml initiaux = 580γ .

Les chiffres expriment le phosphore minéral en γ pour 10 ml de liquide initial.

BN = Suspension bactérienne non traitée par l'azoture de sodium.

BA = Suspension bactérienne traitée par l'azoture de sodium.

FN = Liquide surnageant provenant de bactéries non traitées par l'azoture de sodium.

FA = Liquide surnageant provenant de bactéries traitées par l'azoture de sodium.

BN

d'Essai	P min. init.	P min. fin.	P fin.- P init.	P hydr.	P cent d'hydr.	Inhibit. %
1	144	222	78	70	12.0	
2	144	218.5	74.5	66.5	11.4	5
3	16	24	8	—	—	

FN

1	180	204	24	20	3.4	
2	180	204	24	20	3.4	0
3	52	56	4	—	—	

BA

1	156	184	28	16	2.8	
2	156	208	52	40	6.9	
3	32	44	12	—	—	

FA

1	180	188	8	4	0.7	
2	—	—	—	—	—	80
3	44	48	4	—	—	

tionalité entre la quantité des phosphatases dans le milieu (hydrolysant l'hexose-diphosphate) et la quantité d'oxygène consommé.

Avant de clore ce mémoire sur la perméabilité bactérienne, nous voulons attirer l'attention sur le fait suivant : à trois années d'intervalle une même souche de bactéries peut présenter des caractères de perméabilité différents. Voici, par exemple, le pourcentage de l'inhibition ou de l'exaltation de la respiration en présence de glucose produite par le malonate, en fonction du temps.

Bibliographie p. 523.

	10 min.	20 min.	40 min.	60 min.
1945	— 23%	— 16%	— 13.5%	— 7%
1948	+ 12.2%	+ 8.2%	+ 4.9%	+ 5.2%

D'autre part, en Juin-Octobre 1945, l'inhibition par le malonate de la fermentation du glucose était de 100 % tandis que, dans les mêmes conditions expérimentales, en 1948, il n'y avait aucune inhibition.

DISCUSSION

Nous avons mis en évidence l'existence d'un rapport entre la perméabilité et le métabolisme de *E. coli*. WERKMAN⁹ a bien attiré l'attention sur les dangers que constituent les changements de perméabilité dans l'étude de la respiration des bactéries intactes.

Par une étude comparative des bactéries intactes et broyées nous avons prouvé que la perméabilité sélective dissimule souvent le comportement réel des bactéries et fausse l'interprétation de certains résultats. Ainsi, nous avons pu démontrer, chez *E. coli*, que la non-inhibition de l'oxydation du glucose par le fluorure n'est pas due à l'existence d'un métabolisme sans phosphorylation, mais simplement au fait que le fluorure ne pénètre pas en présence de glucose. L'addition de succinate modifie complètement la perméabilité de la cellule et permet l'entrée du fluorure: l'inhibition de la respiration devient alors totale.

Nous avons aussi démontré que l'inhibition de l'oxydation de l'hexose-diphosphate par l'azoture de sodium est due à l'arrêt de l'autolyse en présence de cet inhibiteur (Remarquons qu'en absence de substrat, l'autolyse des bactéries est plus rapide et plus forte. La présence de l'hexose-diphosphate ne diminue pas cette autolyse, puisqu'il ne pénètre pas dans les bactéries intactes). Par conséquent, les phosphatases ne passant pas à l'extérieur, ne peuvent hydrolyser l'hexose-diphosphate.

Quant au malonate, il n'a aucune action sur le passage des phosphatases dans le milieu extérieur. Mais, comme nous l'avons déjà montré⁸, lorsqu'il est à la concentration *M/5*, il inhibe à 100 % l'activité des phosphatases elles-mêmes, ce qui empêche l'hydrolyse des composés phosphorylés qui se trouvent dans le milieu extérieur.

En somme, *l'action de ces inhibiteurs, (fluorure, malonate et azoture de sodium) observée dans les expériences manométriques, n'a rien de commun avec leur action propre sur le métabolisme bactérien lui-même.*

Il faut bien se garder de conclure à l'inactivation de certains enzymes quand un inhibiteur, ajouté en présence de substrat, n'a pas d'action sur le métabolisme. Il faut toujours compter avec le fait qu'une substance, ajoutée dans certaines conditions, peut ne pas atteindre le point d'action dans la cellule.

CONCLUSIONS

Que peut-on conclure de l'ensemble des résultats que nous avons exposés dans ce mémoire et les mémoires précédents?^{6, 7, 8, 12}

Le fait que le transport d'hydrogène au cours de l'oxydation du glucose n'est pas catalysé par les acides en C₄,⁷ que la respiration comme la fermentation nécessitent une Bibliographie p. 523.

phosphorylation⁸, que la dégradation dans les deux cas se poursuit jusqu'au gaz carbonique et hydrogène et que les produits formés sont les mêmes¹³, ne permet de distinguer, à aucun stade, la respiration de la fermentation.

Certes, les corps en C₂ et en C₃ sont plus ou moins hydrogénés, suivant les conditions expérimentales, mais ce n'est qu'une question d'accepteur d'hydrogène.

A-t-on le droit d'appeler respiratoire un système enzymatique caractérisé uniquement par le fait que l'accepteur d'hydrogène est l'oxygène?

Ceci dépend, naturellement, de la définition que l'on donne de la respiration. Or, on ne peut affirmer que *E. coli* respire si on définit la respiration comme étant le résultat de l'action d'un ensemble d'enzymes et de transporteurs fonctionnant en chaîne, qui arrachent et acheminent l'hydrogène des métabolites et le transportent sur l'oxygène, lui-même activé par le ferment respiratoire pour former de l'eau.

D'ailleurs, le système classique activant l'oxygène, n'existe pas chez *E. coli*. Il est vrai que, d'après KEILIN¹³, le cytochrome *b* (ou *b*₁) est autoxydable, mais nous ne concevons pas encore, dans le cas de nos expériences, comment l'hydrogène libéré du substrat par les deshydrogénases, arrive jusqu'à lui, et même le rôle exact qui doit lui être attribué.

En tout cas, rien ne prouve que l'oxygène soit activé au cours de la respiration de *E. coli*. Au contraire, BROH-KAHN ET MIRSKY¹⁴ ont pu mettre en évidence de l'eau oxygénée chez *E. coli* en bloquant la catalase et l'on sait que lorsqu'il y a formation d'eau oxygénée, l'oxygène n'est pas activé. Ceci explique peut-être l'inhibition par le cyanure de l'oxydation du glucose, observée dans nos expériences à l'air⁷. D'autant plus que l'oxydation de l'acide pyruvique, qui détruit l'eau oxygénée, n'est pas empêchée par cet inhibiteur.

Le cyanure doit agir également chez *E. coli* en empêchant le transfert du phosphore de l'acide phosphopyruvique sur le glucose. MASSART ET DUFAIT¹⁵ ont montré que cette réaction est catalysée par un enzyme contenant une métalloprotéine. Ceci expliquerait aussi, pour une part, l'action inhibitrice du cyanure sur la fermentation du glucose par *E. coli* en absence d'air.

L'acide moniodoacétique, considéré comme inhibiteur de la fermentation, agit dans nos expériences en bloquant aussi la "pseudo-respiration".

L'azoture de sodium, inhibiteur du système cytochromique, n'a aucune action sur la respiration de *E. coli*; le blocage du dégagement d'anhydride carbonique en anaérobiose, n'est dû qu'à une réutilisation plus grande: la fermentation elle-même n'étant pas arrêtée.

Ainsi, tous les inhibiteurs que nous avons employés agissent de la même façon, aussi bien sur la pseudo-respiration que sur la fermentation.

Donc, ce qui caractérise le métabolisme glucidique de *E. coli*, c'est qu'à l'air ou sans air la dégradation du glucose reste la même.

Une seule différence existe pourtant entre le métabolisme aérobiose et anaérobiose de *E. coli*. Elle consiste en la suppression, par l'oxygène, de certaines synthèses, un peu particulières il est vrai (corps en C₄ et C₃). Ces synthèses, comme nous l'avons dit, s'effectuent en anaérobiose, aux dépens de l'anhydride carbonique et de l'hydrogène formés au cours de la fermentation¹².

En somme, *E. coli*, anaérobiose facultatif, ne présente pas, en présence d'oxygène, une respiration véritable. Il se comporte plutôt comme un anaérobiose strict qui, grâce à un mécanisme à élucider, fixe l'hydrogène provenant du processus fermentatif sur l'oxygène

agissant comme un simple accepteur, au même titre que le bleu de méthylène ou un métabolite du type acide pyruvique.

Nous avons donc ici un exemple d'une adaptation à l'air d'un microorganisme ayant un système de catabolisme glucidique du type fermentaire.

Nous remercions; Monsieur P. PRIEUR, collaborateur technique au C.N.R.S., de l'aide qu'il nous a apportée dans l'exécution de ces recherches.

RÉSUMÉ

1. Nous avons pu démontrer le rôle que joue la perméabilité de la membrane dans l'étude du métabolisme bactérien. Ainsi, le fluorure de sodium ne pénètre pas en présence de glucose dans la cellule intacte de *E. coli*. Mais l'addition du succinate permet cette pénétration.

2. L'action des autres inhibiteurs dépend aussi de la perméabilité de la cellule bactérienne.

3. L'ensemble des travaux que nous avons effectués sur *E. coli* permet de conclure que cet anaérobiose facultatif, en réalité ne respire pas à l'air, si on définit la respiration comme une suite de processus emmenant, par l'intervention du système WARBURG-KEILIN, la fixation de l'hydrogène sur l'oxygène actif pour donner de l'eau. Elle se présente plutôt comme un phénomène fermentatif avec fixation de l'hydrogène résultant de ce procès sur l'oxygène, agissant comme un simple accepteur.

SUMMARY

1. The importance of the permeability of the membrane in studies of bacterial metabolism has been demonstrated. Thus sodium fluoride does not penetrate into the intact cell of *E. coli* in the presence of glucose, but addition of succinate makes this penetration possible.

2. The action of other inhibitors also depends upon the permeability of the bacterial cell.

3. Investigations carried out with *E. coli* permit the conclusion that this facultative anaerobic organism indeed does not respire in air if respiration is defined as a series of processes culminating in the fixation of hydrogen on active oxygen by means of the WARBURG-KEILIN system. It rather seems to be a fermentative process in which the resulting hydrogen is attached to oxygen, the latter simply acting as acceptor.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Wichtigkeit der Durchlässigkeit der Membran beim Studium des Metabolismus der Bakterien wurde aufgezeigt. So dringt Natriumfluorid in unversehrte Zellen von *E. coli* in Gegenwart von Glucose nicht ein, wohl aber nach Zugabe von Succinat.

2. Die Wirkung anderer Hemmstoffe hängt ebenfalls von der Durchlässigkeit der Bakterienzelle ab.

3. Unsere Untersuchungen an *E. coli* erlauben den Schluss, dass dieser fakultativ anaerobe Organismus in Wirklichkeit an der Luft nicht atmet, vorausgesetzt dass man die Atmung als eine Reihe von Vorgängen ansieht, welche über das KEILIN-WARBURG'sche System, in der Vereinigung von Wasserstoff mit aktivem Sauerstoff zu Wasser endigen. Es handelt sich hier eher um eine Gärung, wobei der entstehende Wasserstoff an Sauerstoff als Acceptor gebunden wird.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. RUNNSTRÖM ET E. SPERBER, *Biochem. Z.*, 298 (1938) 340.
- 2 J. RUNNSTRÖM, K. GURNEY ET E. SPERBER, *Enzymologia*, 10 (1941) 1.
- 3 BRANDT, *Biochem. Z.*, 312 (1942) 89.
- 4 M. MALM, *Naturwissenschaften*, 28 (1940) 723.
- 5 P. LYNNEN, *Ann.*, 554 (1943) 40.
- 6 E. AUBEL ET J. SZULMAJSTER, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 255.
- 7 E. AUBEL, A. J. ROSENBERG ET J. SZULMAJSTER, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 228.
- 8 E. AUBEL ET J. SZULMAJSTER, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 499.
- 9 C. H. WERKMAN, *Symposium on Respiratory Enzymes*, Wisconsin, 1942.
- 10 O. MEYERHOF, *J. Biol. Chem.*, 157 (1945) 105.
- 11 S. SPIEGELMAN, M. D. KAMEN ET M. SUSSMAN, *Arch. Biochem.*, 18 (1948) 409.
- 12 E. AUBEL, M. GRUNBERG-MANAGO ET J. SZULMAJSTER, *Biochim. Biophys. Acta*, 3 (1949) 442.
- 13 D. KEILIN, *Proc. Roy. Soc. London*, B, 104 (1929) 206.
- 14 R. H. BROH-KAHN ET I. A. MIRSKY, *J. Bact.*, 35 (1938) 455.
- 15 L. MASSART ET A. DUFAIT, *Z. physiol. Chem.*, 272 (1942) 157.

Recu le 6 octobre 1949