

TENEUR EN ADÉNOSINE TRIPHOSPHATE (ATP) DE *E. COLI* APRÈS IRRADIATION U.V.

par

D. KANAZIR* ET M. ERRERA

Laboratoire de Morphologie animale, Université libre de Bruxelles (Belgique)

Divers travaux récents ont montré une action des rayons X sur le couplage des phosphorylations aux oxydations¹⁻⁴. Dans le cas de la rate, une diminution des phosphorylations s'observe, chez le rat, une heure déjà après une dose létale de rayons X¹. Dans le cas de *E. coli* B/r, la synthèse d'ATP n'est pas influencée au cours des 90 minutes qui suivent l'irradiation, mais on observe une élimination d'ATP dans le milieu de culture⁵. Comme l'ATP paraît avoir une certaine influence sur l'induction par les U.V. de *E. coli* B filamenteuses⁶, il nous a semblé utile d'étudier l'influence de ce rayonnement sur le métabolisme de cette substance dans le cas des bactéries sensibles (*E. coli* B) et résistantes (*E. coli* B/r) à divers types d'agents chimiques et physiques. Comme nous l'avons déjà fait remarquer⁷ et comme vient de le préciser KELNER⁸, tout effet fondamental pour la cellule doit se manifester dès la fin de l'irradiation.

Irradiation de *E. coli*. Les bactéries sont cultivées sur un milieu synthétique déjà décrit⁶, pauvre en phosphore; elles sont irradiées soit en fin de croissance, soit en phase logarithmique. Avant l'irradiation, la suspension bactérienne est diluée à l'aide de NaCl 90/100 de manière à obtenir une densité optique de 0.200 au spectrophotomètre Coleman Universel, modèle 14, à 700 mμ (filtre P.C.5). L'irradiation est effectuée à l'aide d'une lampe Mineralight donnant approximativement $19 \cdot 10^4$ ergs/mm²/min à 30 cm. Une irradiation de 20 secondes en phase logarithmique laisse environ 20 % de *E. coli* B survivants.

L'ATP est dosé suivant la technique de STREHLER⁹ qui consiste à mesurer, à l'aide d'un photomultiplicateur d'électrons, la luminescence d'extraits d'organes lumineux de *Photinus pyralis* (nous remercions vivement les Drs McELROY et STREHLER pour leur généreux envoi de ce matériel). La luminescence est proportionnelle à la concentration du système en ATP. Le dispositif que nous avons utilisé permet de mesurer aisément des quantités de l'ordre de 10^{-3} γ d'ATP. Les bactéries sont récoltées à des temps variables après l'irradiation, centrifugées et le culot est porté à ébullition pendant 10 minutes dans un tampon au phosphate de pH 7.4. La suspension bactérienne totale est utilisée pour le dosage; un aliquot de celle-ci est dilué et sa densité optique, mesurée à 700 mμ (Beckmann) de manière à ramener tous les résultats à une population bactérienne arbitrairement choisie. A titre d'indication, 1 mg de *E. coli* séché contient ~ 0.05 γ d'ATP à la fin de la croissance.

Bactéries irradiées en fin de croissance. Après l'irradiation, les bactéries sont additionnées d'un même volume de milieu de culture et mises dans une étuve à 37° en agitant continuellement. On observe une augmentation de la durée du temps de latence d'autant plus considérable que l'irradiation est plus prolongée. Même pour de fortes irradiations (Fig. 1), la synthèse d'ATP observée pendant la phase de latence n'est pas interrompue et les valeurs observées pour les cellules irradiées sont souvent supérieures à celles obtenues dans le cas des cellules témoins. Cependant, alors que chez les bactéries non irradiées, cet ATP est utilisé au cours de la croissance, chez les bactéries irradiées la teneur en ATP diminue également et tout se passe comme si cette réserve d'énergie était gaspillée.

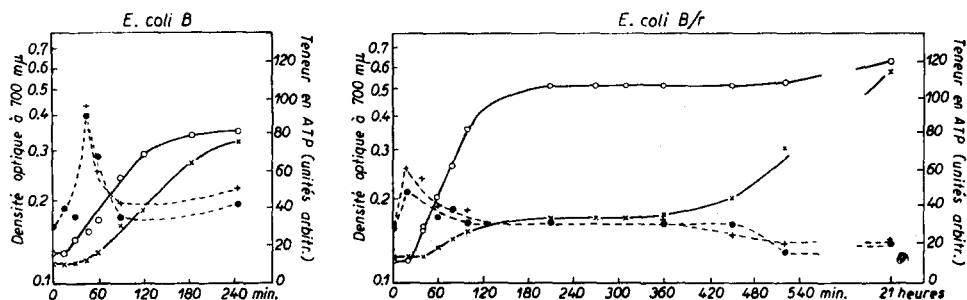


Fig. 1

○ — ○ Témoins × — × Irradiés ● — ● ATP des témoins + — + ATP des irradiés

* Boursier de l'Institut des Recherches sur la structure de la Matière, Belgrade.

Pour des doses plus faibles, la période de latence augmente peu et la vitesse de croissance est légèrement ralentie; ces effets ne peuvent s'expliquer par un déficit en ATP, cette substance paraissant subir un métabolisme normal.

Bactéries irradiées au cours de la phase logarithmique. Des bactéries qui ont été cultivées jusqu'à atteindre une densité optique de l'ordre de 0.350 sont diluées au moyen de NaCl 9⁰/₁₀₀ de manière à obtenir une densité optique de 0.200. Après l'irradiation (30 sec à 30 cm) on leur ajoute 2 fois leur volume de milieu de culture et on les incube comme précédemment. On observe, dans le cas des deux souches bactériennes, que la croissance n'est pas arrêtée, mais seulement ralentie. Pendant ce temps, la teneur en ATP des cellules témoins décroît progressivement au cours de la croissance; celle des cellules irradiées, au contraire, reste stationnaire pendant un certain temps, plus long, semble-t-il, dans le cas des *E. coli* B (Fig. 2). Au cours de la croissance des bactéries irradiées, la synthèse du cytoplasme neuf (poids sec) et celle de l'acide ribonucléique restent proportionnelles à la vitesse de multiplication cellulaire⁶. Par contre, la synthèse d'acide désoxyribonucléique est inhibée, du moins dans le cas de *E. coli* B/r (KELNER⁸); cette inhibition n'est pas due au manque de réserves énergétiques, comme en témoignent nos résultats; l'irradiation entraîne au contraire, semble-t-il, un ralentissement dans l'utilisation des réserves énergétiques de la cellule. Puisque la synthèse des protéines et celle de l'acide ribonucléique ne sont pas arrêtées, il est très vraisemblable que ce que l'on observe n'est pas un blocage de l'utilisation de l'ATP, mais plutôt l'établissement d'un état de régime entre la synthèse et l'utilisation.

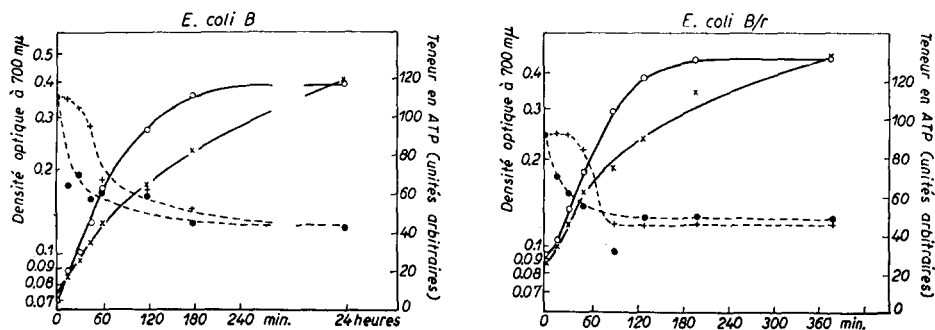


Fig. 2

○ — ○ Témoins × — × Irradiés ● — ● ATP des témoins + — + ATP des irradiés

Notons enfin que la technique utilisée n'est peut-être pas absolument spécifique de l'ATP; on ne peut exclure la possibilité que les constituants dosés dans le présent travail soient sous forme non diffusible. En effet, le surnageant des suspensions bactériennes chauffées est moins actif que la suspension totale. Il n'est donc pas exclu qu'il y ait blocage des mécanismes de transfert de l'énergie dans la cellule.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ R. L. POTTER ET F. H. BETTEL, *Federation Proc.*, II (1952) 270.
- ² E. MAXWELL ET G. ASHWELL, *Arch. Biochem. Biophys.*, 43 (1953) 389.
- ³ G. ASHWELL ET J. HICKMAN, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 80 (1952) 407.
- ⁴ D. W. VAN BEKKUM, H. J. JONGEPER, H. T. M. NIEUWERKERK ET J. A. COHEN, *Trans. Faraday Soc.*, (sous presse).
- ⁵ D. BILLEN, B. L. STREHLER, G. E. STAPLETON ET E. BRIGHAM, *Arch. Biochem. Biophys.*, 43 (1953) 1.
- ⁶ M. ERRERA, *Brit. J. Radiol.*, (sous presse).
- ⁷ M. ERRERA, *Ann. Soc. Roy. Sci. méd. natur.*, 5 (1952) 65.
- ⁸ A. KELNER, *J. Bacteriol.*, 65 (1953) 253.
- ⁹ B. L. STREHLER ET J. R. TOTTER, *Arch. Biochem. Biophys.*, 40 (1952) 28.

Reçu le 3 juin 1953