

## EFFETS DES RAYONS ULTRAVIOLETS SUR LA FORMATION INDUITE DE LA CATALASE ET SUR LE MÉTABOLISME DES ACIDES RIBONUCLÉIQUES CHEZ LA LEVURE

ALEKSANDAR BEČAREVIĆ\*

*Laboratoires de Morphologie animale et Chimie biologique, Faculté des Sciences, Université Libre, Bruxelles (Belgique)*

### INTRODUCTION

Plusieurs travaux récents conduisent à penser que la formation induite d'enzymes s'accompagne de la synthèse d'acide ribonucléique<sup>1-4</sup>.

CHANTRENNE<sup>5</sup> a notamment observé que la formation induite de catalase chez la levure "petites colonies" s'accompagne d'un accroissement de l'incorporation de l'adénine dans l'acide ribonucléique (ARN).

Nous avons étudié l'action de doses croissantes de rayons ultraviolets sur l'adaptation enzymatique et sur l'incorporation d'adénine dans l'ARN, afin de déterminer si ces deux phénomènes sont liés l'un à l'autre. Dans une recherche analogue, HALVORSON ET JACKSON<sup>6</sup>, ont déjà constaté que des doses de rayonnements qui n'altèrent que faiblement l'incorporation du phosphore marqué dans les acides nucléiques suffisent à inhiber fortement la synthèse induite d'enzymes et l'utilisation des acides aminés libres pour la synthèse des protéines.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Organisme: *Saccharomyces cerevisiae*, mutant "petites colonies" d'Ephrussi. Pour la culture, l'induction de l'enzyme, la détermination de la radioactivité des ARN et le dosage de la catalase, voir CHANTRENNE<sup>5,7-9</sup>.

#### *Irradiation*

La levure est récoltée rapidement, lavée avec de l'eau distillée, remise en suspension (3 mg/ml) dans de l'eau. 20 ml de la suspension de levure sont mis dans une boîte de Pétri et irradiés à l'aide d'une lampe Mineralight à 2547 mμ, dans des conditions telles que la suspension reçoive 40 ergs/mm<sup>2</sup>/sec. Toutes les précautions requises sont prises pour éviter la photoréactivation; les opérations ultérieures sont effectuées à l'obscurité ou sous un éclairage fortement atténué.

### PARTIE EXPÉRIMENTALE

#### *Effet de la suppression de l'inducteur*

La formation de catalase peut être provoquée en ajoutant de l'oxygène à des levures cultivées à l'abri de l'air. Dans le cas du mutant "petites colonies", qui a été utilisé dans toutes nos expériences, on peut considérer que l'oxygène ne modifie pas la production d'énergie par la cellule: en effet, l'oxygène n'est pas utilisé et la synthèse de

\* Institut des Sciences nucléaires, Laboratoire de Biologie, Beograd, Yougoslavie.

catalase s'effectue donc "dans des conditions de gratuité". Si l'on prend la précaution d'induire la formation d'enzymes dans des cellules maintenues dans un milieu glucosé dépourvu de source d'azote, la croissance et la synthèse rapide d'acide nucléique qui l'accompagne sont presque complètement arrêtées.

C'est en opérant dans ces conditions et avec le même matériel que CHANTRENNE a observé que l'incorporation d'adénine, d'hypoxanthine, ou d'uracile dans l'acide ribonucléique est accrue pendant la formation induite de catalase<sup>8</sup>.

Nous avons pu répéter et confirmer facilement ces résultats. On pouvait toutefois se demander si le métabolisme de l'acide nucléique ne serait pas modifié si, après avoir induit la formation de catalase, on supprimait l'action de l'inducteur.

### Expériences

La levure cultivée en anaérobiose est aérée en milieu glucosé; dans ces conditions, de la catalase se forme. Après deux heures d'aération, la moitié de la suspension de levure est mise à l'abri de l'air, tandis que l'autre moitié est agitée à l'air à la même température (30°C). En même temps, une quantité égale d'adénine radioactive est ajoutée à chacune des deux portions. L'induction de la catalase et la quantité de <sup>14</sup>C incorporé dans l'ARN sont déterminées d'heure en heure pendant trois heures.

Les résultats de ces expériences (Tableau I) montrent que la suppression de l'oxygène arrête la synthèse de l'enzyme et qu'elle ralentit fortement l'incorporation d'adénine dans les acides nucléiques (Fig. 1).

Ces résultats confirment l'existence d'une corrélation entre l'incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN et la formation induite de catalase (Fig. 1).

TABLEAU I

EFFET DE LA SUPPRESSION DE L'AIR SUR L'INDUCTION DE CATALASE ET SUR L'INCORPORATION D'ADÉNINE MARQUÉE DANS LES ACIDES NUCLÉIQUES

Durée d'induction en minutes	Activité catalasique, Kat. /l. × 10 <sup>-3</sup>		Incorporation d'adénine marquée	
	aérobiose	anaérobiose	aérobiose	anaérobiose
0	5	5		
120	70	70		
180	85	65	819	650
240	106	63	1045	705
300	116	45	1150	778

### Effet de l'irradiation ultraviolette

De la levure cultivée en anaérobiose est recueillie et remise en suspension dans l'eau; cette suspension est alors irradiée pendant des durées bien contrôlées à l'aide d'une lampe Mineralight donnant 40 ergs/mm<sup>2</sup>/sec. Après irradiation, la levure est lavée et reprise dans un milieu glucosé; de l'adénine-8-<sup>14</sup>C est ensuite ajoutée à la suspension de levure. Celle-ci est aussitôt partagée en deux portions, dont l'une est aérée et l'autre maintenue à l'abri de l'air dans une étuve à 28-30°C. Le Tableau II indique la quantité de catalase formée et la radioactivité de l'ARN.

Ces résultats montrent (Fig. 2) que l'incorporation supplémentaire d'adénine est réduite beaucoup plus fortement par les U.V. que l'incorporation normale; elle est réduite sensiblement dans la même mesure que la synthèse induite de catalase.

TABLEAU II

EFFET DE L'IRRADIATION ULTRAVIOLETTE SUR L'INDUCTION DE LA CATALASE ET SUR L'INCORPORATION D'ADÉNINE MARQUÉE DANS LES ACIDES NUCLÉIQUES

Durée de l'irradiation	<sup>14</sup> C incorporé dans l'ARN						Catalase induite	
	Témoin		Aéré		Différence		Kat. f. $\times 10^{-2}$	
	coups/min	%	coups/min	%	coups/min	%	Kat. f.	%
0	1350	(100)	1860	(100)	510	(100)	65	(100)
5 min	930	69	1255	68	324	63	46	70
10 min	641	48	823	45	162	32	25	38
15 min	540	40	620	33	80	16	8	12
30 min	336	25	402	22	64	13	-	-

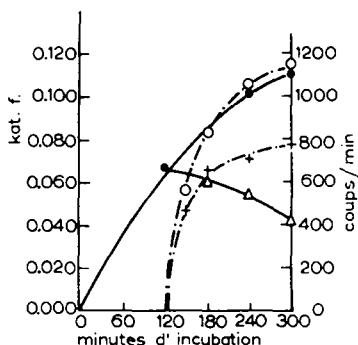


Fig. 1. Effet de la suppression de l'air (l'inducteur) sur l'induction de catalase et sur l'incorporation d'adénine marquée dans les acides nucléiques. ● Induction de la catalase en aérobiose. △ Induction de la catalase préalablement adaptée en aérobiose pendant 120 min et puis mise en anaérobiose. ○ Incorporation de l'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'acide nucléique en aérobiose, dans la levure préalablement aérée pendant 120 minutes. × Incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'acide nucléique en anaérobiose, dans la levure préalablement aérée pendant 120 minutes.

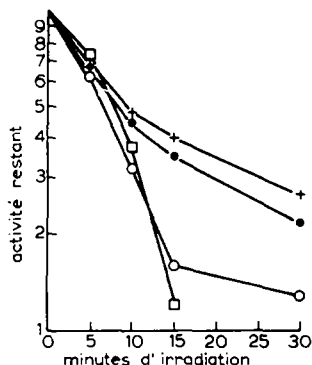


Fig. 2. Effet de l'irradiation U.V. sur l'induction de la catalase et sur l'incorporation d'adénine marquée dans les acides nucléiques. □ Induction de la catalase. ○ Différence d'incorporation: aérobiose/anaérobiose. ● Incorporation en aérobiose. × Incorporation en anaérobiose.

## DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Des travaux récents de ce laboratoire<sup>5,7,8,10</sup> ont montré que la formation de catalase induite par l'oxygène, chez la levure "petites colonies", s'accompagne d'une accélération de l'incorporation d'adénine dans l'ARN. Nous nous sommes efforcé de dissocier ces deux phénomènes afin de savoir s'ils sont liés ou simplement concomitants. Dans ce but, nous avons supprimé l'action de l'oxygène après un certain temps d'induction; dans d'autres expériences, nous avons inhibé la synthèse induite de catalase par irradiation ultraviolette. Nous avons étudié l'effet de ces traitements sur l'incorporation d'adénine marquée dans l'ARN.

Si, après deux heures d'induction, une partie de la suspension de levure est soustraite à l'action de l'oxygène, sa teneur en catalase diminue; au contraire, elle continue à croître régulièrement dans la suspension maintenue à l'air. L'incorporation d'adénine est moins rapide dans la fraction où la synthèse de catalase a cessé que dans celle où elle se poursuit. Cette observation confirme donc qu'une incorporation supplé-

mentaire accompagne la synthèse induite de l'enzyme; elle ne permet cependant pas d'écarter la possibilité que l'accélération de l'incorporation d'adénine soit due à une action directe de l'oxygène sur la synthèse de l'ARN, indépendamment de son action inductrice.

Les travaux de SPIEGELMAN, HALVORSON ET BEN-ISHAI<sup>2</sup> ont montré que les rayons ultraviolets inhibent plus fortement la synthèse induite de l' $\alpha$ -glucosidase chez la levure que celle de l'ARN. L'irradiation ultraviolette semblait donc être tout indiquée pour dissocier les deux phénomènes. Nos résultats montrent effectivement que l'incorporation d'adénine marquée dans l'ARN est moins sensible à l'irradiation que la formation induite de l'enzyme. Mais l'incorporation *supplémentaire* d'adénine, qui accompagne la synthèse induite de l'enzyme est plus sensible à l'irradiation que l'incorporation normale qui se produit en l'absence d'induction. En fait, l'incorporation supplémentaire qui accompagne la formation de l'enzyme est réduite à peu près dans les mêmes proportions que la synthèse de l'enzyme.

Il faut en conclure que le supplément d'incorporation d'adénine reflète vraisemblablement une synthèse d'ARN étroitement associée à la formation induite de l'enzyme; cette synthèse serait plus sensible à l'irradiation ultraviolette que la synthèse des autres ARN de la cellule.

La chute rapide de l'incorporation normale d'adénine pour de faibles doses, qui se ralentit pour les doses plus élevées de rayonnement, s'expliquerait si la cellule contenait divers ARN dont la synthèse serait différemment sensible à l'irradiation; mais il se peut aussi que l'adénine s'incorpore dans les ARN par plusieurs voies différentes, dont certaines seraient plus rapidement inhibées que d'autres par les rayons ultraviolets.

#### RÉSUMÉ

L'incorporation supplémentaire d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN, qui accompagne la formation induite de catalase chez la levure, est réduite au même degré que la formation de l'enzyme, par l'irradiation ultraviolette. Cette incorporation supplémentaire est plus sensible aux rayons ultraviolets que celle qui se produit chez la levure non induite.

#### SUMMARY

The supplementary incorporation of adenine-8-<sup>14</sup>C into RNA, which accompanies the induced formation of catalase in yeast cells, is reduced to the same degree as is the formation of the enzyme by ultraviolet irradiation. This supplementary incorporation is more sensitive to the ultraviolet irradiation than the incorporation found normally in non-induced yeast cells.

#### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> E. F. GALE ET J. FOLKES, *Biochem. J.*, 59 (1955) 661, 675.
- <sup>2</sup> S. SPIEGELMAN, H. HALVORSON ET R. BEN-ISHAI, dans W. D. McELROY ET B. GLASS, *Amino Acid Metabolism*, The Johns Hopkins Press, Baltimore, 1955, p. 124.
- <sup>3</sup> A. B. PARDEE, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 40 (1954) 263.
- <sup>4</sup> E. H. CREASER, *Nature*, 176 (1955) 556.
- <sup>5</sup> H. CHANTRENNE, 3e Congr. intern. biochim., Bruxelles, 1955, *Rés. communs.*, p. 76.
- <sup>6</sup> H. HALVORSON ET L. JACKSON, *J. Gen. Microbiol.*, 14 (1956) 26.
- <sup>7</sup> H. CHANTRENNE, *Nature*, 177 (1956) 579.
- <sup>8</sup> H. CHANTRENNE, *Arch. Biochem. Biophys.*, 65 (1956) 414.
- <sup>9</sup> H. CHANTRENNE ET C. COURTOIS, *Biochim. Biophys. Acta*, 14 (1954) 397.
- <sup>10</sup> A. BEČAREVIĆ, *Arch. internat. physiol. biochim.*, 64 (1956) 520.

Reçu le 22 janvier 1957