

## ACTION DES RAYONS ULTRAVIOLETS SUR L'ADAPTATION ENZYMATIQUE ET EFFET DE L'EXTRAIT DE LEVURE SUR LA RESTAURATION DE LA SYNTHÈSE ENZYMATIQUE

ALEKSANDAR BEĆAREVIĆ\*

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

### INTRODUCTION

Plusieurs auteurs<sup>1-4</sup> ont montré que les rayons ultraviolets réduisent la viabilité des microorganismes et inhibent la formation des enzymes adaptatifs.

Cependant différents agents physiques<sup>5,6</sup> ou chimiques<sup>7</sup> peuvent provoquer une restauration de la viabilité, ainsi que de l'adaptation enzymatique<sup>8</sup> des cellules irradiées.

Comme nous l'avons déjà montré, les rayons ultraviolets provoquent une inhibition de l'adaptation enzymatique et de l'incorporation supplémentaire d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans les acides ribonucléiques, qui accompagne cette adaptation<sup>9</sup>.

Nous avons essayé de restaurer l'adaptation enzymatique des cellules irradiées par l'addition d'extrait de levure au milieu d'incubation.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Organisme: *Saccharomyces cerevisiae*, mutant 'petites colonies' d'EPHRUSSI. La préparation de la culture, l'induction de l'enzyme, la détermination de la radioactivité des ARN, le dosage de la catalase et l'irradiation de la levure sont réalisés comme précédemment<sup>9,10</sup>. Toutes les précautions requises sont prises pour éviter la photoréactivation; les opérations ultérieures sont effectuées soit à l'obscurité, soit sous un éclairage jaune. La levure utilisée se trouve en phase de repos dans un milieu sans azote assimilable. L'incubation et l'induction de l'enzyme sont effectuées à 28-30°C pendant trois ou quatre heures.

### PARTIE EXPÉRIMENTALE

#### *Action de l'extrait de levure sur l'adaptation enzymatique des cellules non irradiées*

Les levures cultivées en anaérobiose puis aérées sont le siège de la formation d'un enzyme induit: la catalase. L'addition à ce milieu d'extrait de levure (45 mg/25 ml) provoque immédiatement une augmentation de la synthèse de catalase (Tableau I).

Nous avons essayé de séparer les agents (ou l'agent) de cet extrait de levure qui stimulent l'adaptation enzymatique. Après une dialyse de 24 heures contre de l'eau distillée, nous avons obtenu un dialysat dont l'effet est analogue à celui de l'extrait complet; le résidu non dialysable est inactif (Fig. 1 et Tableau I).

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

Bibliographie p. 303.

TABLEAU I\*

## INDUCTION DE LA CATALASE CHEZ LA LEVURE "PETITES COLONIES" AU REPOS

Le milieu d'incubation contient du glucose, comme source d'énergie, et des ions magnésium, phosphate  $K^+$  et  $SO_4^{2-}$ .

Temps d'incubation en minutes	Levure traitée par				
	Levure non traitée	l'extrait de levure	la ribonucléase	le dialysat de l'extrait de levure	le résidu non dialysable de l'extrait de levure
0	0.009 **	0.009	0.009	0.011	0.010
30	0.021	0.032	0.020	0.030	0.020
60	0.031	0.048	0.030	0.045	0.030
120	0.050	0.070	0.051	0.069	0.048
180	0.062	0.084	0.061	0.081	0.063

\* Ces résultats proviennent de deux ou trois expériences qui ne fournissent qu'une indication en ce qui concerne la synthèse de la catalase.

\*\* Katalase Fähigkeit.

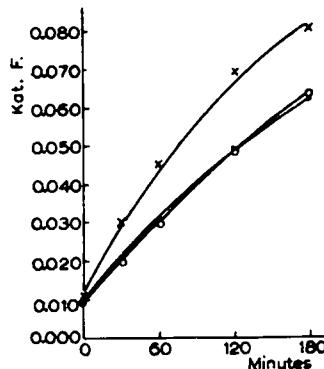


Fig. 1. Effet du dialysat et du résidu non dialysable sur la formation de catalase. ● = Activité des cellules non traitées. × = Activité des cellules traitées par le dialysat de l'extrait de levure. ○ = Activité des cellules traitées par le résidu non dialysable.

déjà immédiatement après l'irradiation (45 mg/25 ml). △ = Restauration limitée de la synthèse de la catalase soit par le dialysat, soit par le résidu non dialysable de l'extrait de levure.

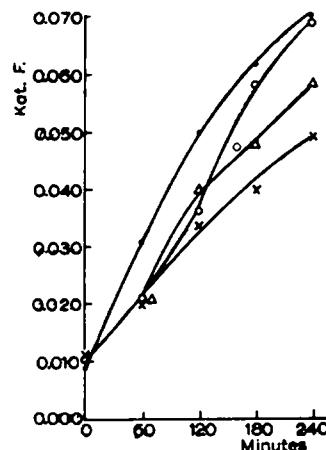


Fig. 2. Effet de l'extrait de levure et de ses composants sur la restauration de la synthèse de la catalase chez les cellules irradiées. ● = Synthèse de la catalase des cellules non irradiées. × = Synthèse de la catalase des cellules irradiées. ○ = Restauration de la synthèse de la catalase par l'extrait de levure ajouté immédiatement après l'irradiation (45 mg/25 ml). △ = Restauration limitée de la synthèse de la catalase soit par le dialysat, soit par le résidu non dialysable de l'extrait de levure.

#### Action de l'extrait de levure sur la restauration de la synthèse de catalase des cellules irradiées

L'irradiation des levures (9800 ergs/mm<sup>2</sup>) provoque une inhibition de la synthèse de catalase d'environ 30%.

Immédiatement après irradiation, la levure est mise en suspension dans un milieu sans sels d'ammonium, contenant ou non de l'extrait de levure. La Fig. 2 montre qu'après 120 minutes d'incubation à 30°C, la capacité d'induction est partiellement restaurée. Après 240 minutes, la quantité d'enzyme formé est la même que chez les cellules non irradiées (Fig. 2 et Tableau II).

Les deux fractions résultant de la dialyse de l'extrait de levure n'exercent sur la

TABLEAU II

EFFET DE L'EXTRAIT DE LEVURE SUR LA RESTAURATION DE LA SYNTHÈSE DE LA CATALASE,AINSIX DE L'EXTRAIT DE LEVURE TRAITÉ PAR LA RIBONUCLÉASE ET PAR LA DÉSOXYRIBONUCLÉASE

Durée d'induction en minutes	Cellules irradiées et traitées par							
	Cellules non irradiées	milieu d'incubation <sup>1</sup>	l'extrait de levure <sup>2</sup>	l'extrait de levure traité par RNase <sup>3</sup>	l'extrait de levure traité par DNase <sup>4</sup>	la ribonucléase <sup>5</sup>	le dialysat de l'extrait de levure <sup>6</sup>	le résidu non dialysable de l'extrait de levure <sup>7</sup>
0	0.009 <sup>7</sup>	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012	0.012
60	0.031	0.020	0.021	0.021	0.021	0.020	0.020	0.020
120	0.050	0.034	0.036	0.037	0.037	0.033	0.036	0.037
160	0.062	0.040	0.058	0.060	0.057	0.040	0.048	0.047
240	0.070	0.048	0.069	0.079	0.068	0.050	0.058	0.058

<sup>1</sup> Signification ( $n = 20$ ;  $\sigma = 0.74$ ;  $t = 27$ ;  $P \ll 0.001$ ).

<sup>2</sup> Signification ( $n = 8$ ;  $\sigma = 0.62$ ;  $t = 13$ ;  $P \ll 0.001$ ).

<sup>3</sup> Signification ( $n = 3$ ;  $\sigma = 0.76$ ;  $t = 3.94$ ;  $0.05 > P > 0.02$ ).

<sup>4</sup> Expériences pour orientation s'il y a ou non un effet.

<sup>5</sup> Signification ( $n = 2$ ;  $\sigma = 0.407$ ;  $t = 4.91$ ;  $P < 0.05$ ).

<sup>6</sup> Signification ( $n = 3$ ;  $\sigma = 1.118$ ;  $t = 2.68$ ;  $0.05 < P < 0.1$ ).

<sup>7</sup> Kat. f.

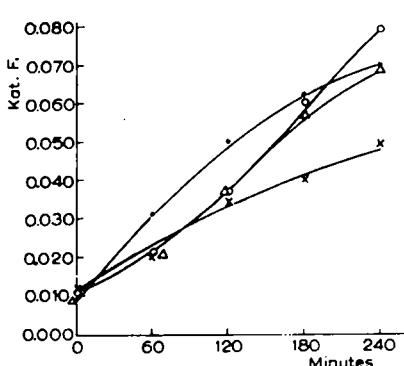


Fig. 3. Effet de l'extrait de levure traité par la ribonucléase et par la désoxyribonucléase sur la restauration de la synthèse de catalase après irradiation. ● = Synthèse de catalase par des cellules non irradiées. × = Synthèse de catalase par des cellules irradiées. ○ = Synthèse de catalase en présence d'extrait de levure et de ribonucléase par des cellules irradiées. △ = Synthèse de catalase en présence d'extrait de levure et de désoxyribonucléase par des cellules irradiées.

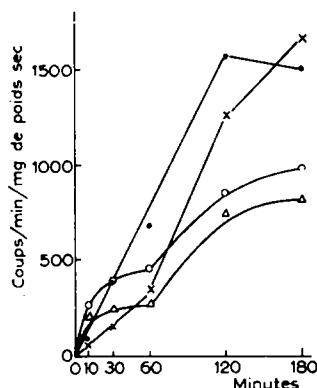


Fig. 4. Incorporation de l'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN des levures "petites colonies" irradiées et non irradiées. L'adénine-8-<sup>14</sup>C est ajoutée immédiatement après irradiation et après une heure d'incubation. ○ = Incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN de cellules non irradiées. △ = Incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN de cellules irradiées. ● = Incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C en présence d'extrait de levure dans l'ARN de cellules non irradiées. × = Incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C en présence d'extrait de levure dans l'ARN de cellules irradiées.

restauration de l'induction enzymatique qu'une faible activité. La synthèse de l'enzyme adaptatif n'atteint que 83 % de la synthèse dans les cellules non irradiées (Fig. 2 et Tableau II).

Après la dialyse de l'extrait de levure, nous avons constaté que le résidu non dialysable de cet extrait absorbe très fortement à 260 m $\mu$ , absorption due aux acides nucléiques qui se trouvent dans l'extrait de levure. Nous avons fait agir la ribonucléase et la désoxyribonucléase sur l'extrait de levure et nous avons constaté qu'après le

traitement par la ribonucléase il se produit une stimulation de la restauration de la synthèse de la catalase; le traitement par la désoxyribonucléase ne change pas la capacité de synthèse dans les cellules irradiées (Fig. 3 et Tableau II).

*Incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN de cellules irradiées et non irradiées, et effet de l'extrait de levure sur cette incorporation*

Nous avons signalé précédemment que les rayons ultraviolets inhibent la synthèse d'enzymes adaptatifs ainsi que l'incorporation d'adénine marquée dans l'ARN<sup>9</sup>. Nous avons tenté d'obtenir une restauration de la synthèse de l'ARN par l'extrait de levure.

Dans les mêmes conditions qui nous ont permis d'effectuer la formation adaptative de catalase, nous avons fait des expériences avec de l'adénine-8-<sup>14</sup>C pour suivre la synthèse de l'ARN.

Les effets, qui sont résumés sur la Fig. 4, montrent une stimulation très forte, en présence d'extrait de levure, de l'incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C dans l'ARN des cellules irradiées et non irradiées.

#### DISCUSSION ET CONCLUSION

Plusieurs auteurs supposent que la synthèse des enzymes adaptatifs est liée à la synthèse des acides nucléiques<sup>11, 12, 13</sup>, ou que l'acide ribonucléique est une partie du système formateur des enzymes adaptatifs. Des travaux récents de notre laboratoire<sup>9, 14</sup> ont montré que la formation de catalase chez la levure est accompagnée d'une synthèse accrue d'ARN.

Nous avons essayé d'effectuer une restauration de la synthèse de catalase, chez les cellules irradiées, en ajoutant de l'extrait de levure qui est une bonne source de composants des acides nucléiques et aussi de cofacteurs nécessaires à leur synthèse.

En examinant l'effet de l'extrait de levure sur la synthèse de la catalase chez les cellules irradiées, nous avons constaté que, dans les cellules irradiées et traitées par l'extrait de levure, la synthèse de la catalase se maintient pendant un certain temps au même niveau que chez les cellules irradiées mais non traitées. Toutefois, après environ 120 minutes d'incubation, cette synthèse augmente et finit par rejoindre celle des cellules non irradiées (Fig. 3). D'autre part, les cellules non irradiées mais traitées par l'extrait de levure montrent une synthèse plus rapide dès le début de l'incubation (Tableau I). La restauration de la synthèse de catalase chez les cellules irradiées ne se produit donc qu'après une période de latence. On peut se demander dès lors si cette période de latence qui précède la synthèse accrue de catalase ne correspond pas à une réorganisation du système qui permet aux cellules d'effectuer la synthèse adaptative d'une protéine.

Passons maintenant à l'examen de la synthèse de l'ARN dans les conditions qui nous ont permis de réaliser cette restauration de la catalase. Tout d'abord, on voit que l'extrait de levure favorise l'incorporation d'adénine-8-<sup>14</sup>C tant dans les cellules non irradiées que dans celles qui ont été irradiées. On enregistre dès le début de l'incubation une synthèse d'ARN plus rapide dans les cellules irradiées, mais traitées par l'extrait de levure. Toutefois, l'incorporation d'adénine marquée dans les cellules irradiées, mais sans extrait de levure, est déjà très ralentie après trente minutes. Nous observons donc une incorporation d'adénine très active dans les cellules irradiées et traitées par l'extrait de levure tandis que l'incorporation est presque arrêtée dans les

cellules irradiées mais non traitées par cet extrait. Tout se passe comme si la synthèse d'ARN en présence d'extrait de levure dépassait déjà, après 60 minutes, celle des cellules irradiées mais non traitées par cet extrait. L'extrait de levure restaure donc à la fois la formation induite d'enzyme et la synthèse d'ARN chez la levure irradiée.

#### RÉSUMÉ

La synthèse d'un enzyme adaptatif (catalase), partiellement inhibée par irradiation ultraviolette, est restaurée par l'addition d'un extrait de levure lorsque celui-ci est ajouté immédiatement après l'irradiation. La restauration de la synthèse adaptative ne commence cependant qu'après 120 minutes d'incubation environ. Elle est précédée de la restauration de la synthèse d'ARN dans les cellules irradiées.

#### SUMMARY

The synthesis of an adaptive enzyme (catalase) is partly suppressed by ultraviolet irradiation but it is restored by yeast extract when the addition follows immediately after irradiation. However, restoration of the adaptive synthesis does not set in before an incubation period of approximately 120 minutes. It is preceded by restoration of RNA synthesis in the irradiated cells.

#### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> H. HALVORSON ET L. JACKSON, *J. Gen. Microbiol.*, 14 (1956) 26.
- <sup>2</sup> A. KELNER, *J. Bacteriol.*, 65 (1953) 252.
- <sup>3</sup> A. BEĆAREVIĆ, *Arch. intern. physiol. et biochim.*, 64 (1956) 520.
- <sup>4</sup> P. A. SWENSON, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 36 (1950) 699.
- <sup>5</sup> W. HARM ET W. STEIN, *Z. Naturforsch.*, 8b (1953) 729.
- <sup>6</sup> R. LATARJET, *Acta Radiol.*, 41 (1954) 84.
- <sup>7</sup> F. HEINMETZ ET R. H. KATHAN, *Arch. Biochem. Biophys.*, 53 (1954) 205.
- <sup>8</sup> P. A. SWENSON ET A. C. GIESE, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 36 (1950) 369.
- <sup>9</sup> A. BEĆAREVIĆ, *Biochim. Biophys. Acta* (sous presse).
- <sup>10</sup> H. CHANTRENNE, *Arch. Biochem. Biophys.*, 65 (1956) 414.
- <sup>11</sup> F. GALE ET J. P. FOLKES, *Biochem. J.*, 59 (1955) 661, 675.
- <sup>12</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>13</sup> A. B. PARDEF, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 40 (1954) 263.
- <sup>14</sup> H. CHANTRENNE, *Nature*, 177 (1956) 579.

Reçu le 29 mars 1957

## STUDIES ON THE MECHANISM OF FATTY ACID SYNTHESIS

### IV. BIOSYNTHESIS OF LONG-CHAIN FATTY ACIDS IN A RECONSTRUCTED SYSTEM OF SOLUBLE ENZYMES FROM CHICKEN LIVER\*

ALISA TIETZ\*\*

*Institute for Enzyme Research, University of Wisconsin, Madison, Wis. (U.S.A.)*

In previous communications of this series the preparation and properties of a reconstructed system of soluble enzyme fractions from pigeon liver capable of synthesizing

\* This work has been supported by a grant-in aid from the American Cancer Society upon recommendation of the Committee on Growth of the National Research Council; by a research grant, H-2236, and a postdoctoral training grant, HTS-5006, from the National Heart Institute of the National Institutes of Health, Public Health Service; and aided by a contract between the Office of Naval Research, Department of the Navy, and the University of Wisconsin, NR 120-264.

\*\* Postdoctoral Trainee of the University of Wisconsin, Institute for Enzyme Research. Present address: Department of Biochemistry, College of Medicine, New York University, New York City.