

RÉDUCTION DU SULFATE EN SULFITE PAR LA FEUILLE DE TABAC

P. FROMAGEOT ET H. PEREZ-MILAN

*Service de Biologie du Commissariat à l'Énergie Atomique,
Centre d'Études Nucléaires de Saclay, Gif sur Yvette, Seine-et-Oise (France)*

(Reçu le 24 juillet 1958)

SUMMARY

Reduction of sulfate to sulfite by the tobacco leaf

It is shown that whole tobacco leaf reduces [³⁵S]sulfate to [³⁵S]sulfite. The amount and the specific radioactivity of the labelled sulfite recovered indicate that daylight plays an essential part in this process, which is a rapid one. Its quantitative analysis is, however, rendered difficult by oxidation of sulfite to sulfate, which is catalysed by the tissues utilised.

INTRODUCTION

On sait que des organismes tels que *Escherichia coli*¹, *Desulfovibrio* sp.², des levures³, des champignons ascomycètes⁴ réduisent le sulfate en sulfite. Même certains tissus animaux, comme le sac vitellin d'embryon de poulet⁵ possèdent cette aptitude réductrice. La formation de sulfite quand il y a utilisation du soufre du sulfate pour la synthèse de liaisons S-C, semble donc être une réaction que l'on retrouve dans un grand nombre d'organismes vivants.

Nous montrerons ici que les organismes chlorophylliens se comportent à cet égard comme les organismes précités. Toutefois ils s'en distinguent par le rôle que joue la lumière dans cette réduction. A l'obscurité, la possibilité de réduction du sulfate en sulfite disparaît presque complètement. Elle est rétablie par éclairage^{6,7}.

Le présent travail est limité à la mise en évidence de la formation de [³⁵S]sulfite à partir de [³⁵S]sulfate. Les plantes utilisées sont des tabacs, *Nicotiana tabacum* var. *Samson*, cultivés en serre sur du terreau. On prélève les feuilles du sommet de la tige de plants âgés de 2 mois environ. Sauf indication contraire, ce prélèvement est effectué vers 15 heures et seulement lorsque la journée a été jusqu'à cette heure, ensoleillée.

Le principe de nos expériences est le suivant: On offre à des feuilles entières de tabac une solution de sulfate radioactif sans entraîneur et de sulfite de sodium ordinaire, par nutrition pétioinaire. Le rôle de ce sulfite est de diluer le sulfite radioactif éventuellement formé et d'en permettre ainsi l'isolement et la caractérisation, en dépit de son métabolisme rapide. Une telle façon de procéder implique l'hypothèse que l'ion sulfite n'inhibe pas la réduction du sulfate.

EXPÉRIMENTAL

I. Mise en évidence de la réduction du sulfate en sulfite

Disposition des expériences. On détache, de tabacs âgés de 2 mois, les feuilles supérieures en coupant les pétioles au ras de la tige. On fait plonger 5 g de feuilles par le pétiole, dans 2 ml d'une solution contenant du sulfate radioactif sans entraîneur $12 \cdot 10^6$ i.p.m. par ml dans nos conditions de mesure et 25 mg/ml de sulfite de sodium. Les feuilles sont exposées à la lumière du jour pendant 30 min, l'éclairement étant d'environ 10,000 lux, ou sont maintenues à l'obscurité. Ensuite, on coupe les pétioles, broie les feuilles dans l'azote liquide, et place la poudre obtenue dans un barboteur froid. On y ajoute 10 mg de sulfite de sodium ordinaire, 15 ml d'eau et 8 ml d'une solution aqueuse d'acide phosphorique (50:50 en volumes). On place le barboteur à 50° et fait traverser l'appareil par un courant d'azote pendant 30 min. Le gaz sulfureux entraîné est lavé dans de l'acide phosphorique dilué à 10 %, et est absorbé dans 5 ml d'une solution aqueuse de potasse à 10 %, additionnée de 1 ml de perhydrol à 30 %. A la fin de l'opération on dilue la solution alcaline à 25 ml et en mesure la radioactivité totale sur des coupelles de verre. On mesure aussi la radioactivité présente dans le barboteur, ce qui permet de savoir combien la feuille a absorbé de solution de sulfate.

TABLEAU I

RADIOACTIVITÉ TOTALE EXPRIMÉE EN i.p.m. DANS NOS CONDITIONS DE MESURE ENTRAÎNÉE PAR LA DISTILLATION DU GAZ SULFUREUX D'UN MÉLANGE CONTENANT $^{35}\text{SO}_4^{--}$, 10 mg DE SULFITE DE SODIUM ET 5 g DE BROYAT DE FEUILLES

| Radioactivité introduite i.p.m. | Radioactivité recueillie i.p.m. |
|------------------------------------|------------------------------------|
| 582,000 | 0 |
| 635,000 | 0 |
| 1,715,000 | 0 |

La démonstration que la radioactivité de la solution alcaline est due à du ^{35}S sulfite et non à un entraînement de ^{35}S sulfate est faite de plusieurs manières. (1) On place dans le barboteur un broyat de feuilles n'ayant pas absorbé de ^{35}S sulfate, du sulfate radioactif sans entraîneur et du sulfite de sodium. On procède à la séparation du sulfite de ce mélange comme il a été décrit, et on mesure la radioactivité présente dans la solution alcaline. Le Tableau I montre qu'il n'y a pas d'entraînement de sulfate radioactif. On confirme ainsi par surcroît l'absence d'échange de soufre entre le sulfate et le sulfite. (2) On fait barboter l'azote et les gaz entraînés dans une solution alcaline renfermant non du perhydrol, mais du versène, à la concentration de $1.6 \cdot 10^{-3} M$ pour éviter l'oxydation du sulfite. L'isolement du sulfite présent après addition de 50 mg de sulfite de sodium à l'état de sel de baryum, et sa décomposition par l'acide phosphorique dilué dans les conditions décrites, permettent de retrouver environ 80 % de la radioactivité initialement présente dans la solution alcaline. (3) On recueille comme ci-dessus le gaz sulfureux dans une solution alcaline de versène, et on transforme le sulfite en trois dérivés: (a) par le zinc et l'acide chlorhydrique on réduit le sulfite en hydrogène sulfuré, que l'on capte dans de l'acétate de cadmium en solution aqueuse à 5 %. Le sulfure de cadmium qui apparaît est recueilli, lavé à l'eau et est redissous dans un mélange de peroxyde d'hydrogène et d'acide chlorhydrique. Le

sulfate ainsi obtenu est radioactif (voir Tableau II). (b) On transforme le sulfite en acide alaninethiosulfurique selon CLARKE⁸ et en acide acétylcystéique par sa réaction à pH 7 avec l'acide acétylaminoacrylique en suivant les indications données par SCHENK ET DANISHEFSKY⁹. L'un et l'autre de ces acides sont séparés par électrophorèse sur papier à pH 2.7 sous 7 V/cm pendant 3 heures. Ils sont radioactifs.

Résultats. Ils figurent dans le Tableau II.

TABLEAU II

RÉDUCTION DU SULFATE EN SULFITE PAR LA FEUILLE ISOLÉE DE TABAC

Poids des feuilles: 5 g. Absorption d'une solution de [³⁵S]sulfate sans entraîneur + sulfite de sodium 25 mg par ml pendant 30 min à la température ambiante. La lumière est celle du soleil. Résultats exprimés en i.p.m. dans nos conditions de mesure. Le rendement est le rapport [³⁵S]-sulfite isolé/[³⁵S]sulfate absorbé.

| Essai | Sulfate absorbé | | Sulfite isolé i.p.m. | Rendement |
|-------|------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|
| | à la lumière i.p.m. | à l'obscurité i.p.m. | | |
| I | 1,671,800 | | 5,500 | 330·10 ⁻⁵ |
| II | 1,718,700 | | 3,400 | 198·10 ⁻⁵ |
| III | 2,312,500 | | 5,075* | 220·10 ⁻⁵ |
| IV | 2,480,000 | | 9,340 | 377·10 ⁻⁵ |
| V | 900,000 | | 4,590 | 510·10 ⁻⁵ |
| VI | 1,215,000 | | 3,170 | 216·10 ⁻⁵ |
| VII | | 1,343,750 | 160 | 12·10 ⁻⁵ |
| VIII | | 609,370 | 0 | 0 |
| IX | | 562,500 | 255 | 46·10 ⁻⁵ |
| X | | 562,500 | 242 | 43·10 ⁻⁵ |
| XI | | 950,000 | 263 | 28·10 ⁻⁵ |
| XII | | 584,000 | 200 | 34·10 ⁻⁵ |

* Après réduction du Na₂³⁵SO₃ en H₂³⁵S par Zn-HCl.

II. Mise en évidence de la réduction du sulfate en sulfite à la lumière et à l'obscurité sur un même pied de tabac

Disposition de l'expérience. Au milieu de la journée on coupe un pied de tabac de façon à laisser quatre feuilles bien développées sur la partie supérieure. Deux de ces feuilles, A et B, sont entourées de papier noir. Les deux autres, C et D, sont laissées telles quelles. Les surfaces A + B et C + D sont du même ordre. On plonge le bas de la tige dans la solution de sulfate radioactif et de sulfite ordinaire, et expose le rameau à la lumière du jour. Après 30 min, on coupe les feuilles au ras du pétiole et analyse séparément les feuilles éclairées et celles qui ont été maintenues à l'obscurité.

Résultats. Le Tableau III donne les résultats obtenus.

TABLEAU III

RÉDUCTION DU SULFATE EN SULFITE PAR LES FEUILLES D'UN MÊME PIED DE TABAC

(après 30 min d'exposition à la lumière, ou à l'obscurité)

Autres conditions expérimentales: voir le texte. Résultats exprimés en i.p.m. dans nos conditions de mesure. Le rendement est le rapport [³⁵S]sulfite isolé/[³⁵S]sulfate absorbé.

| Conditions | Sulfate absorbé | Sulfite isolé | Rendement |
|------------------|-----------------|---------------|----------------------|
| C + D: Lumière | 1,550,000 | 3,600 | 232·10 ⁻⁵ |
| A + B: Obscurité | 1,324,000 | 200 | 15·10 ⁻⁵ |

III. Influence d'un écran vert

Disposition des expériences. Deux pieds de tabac ont été employés. L'un avait séjourné à la lumière du jour, l'autre avait été placé à l'obscurité pendant 27 heures. De ces tabacs, on détache deux lots de feuilles (5 g par lot) que l'on place soit sous un écran de papier translucide soit sous un filtre Wratten No. 59, de façon que l'énergie lumineuse transmise dans les deux cas provoque la même déviation d'un appareil de mesure (bolomètre). Les pétioles des deux lots de feuilles à comparer plongent dans la même solution de [³⁵S] sulfate sans entraîneur et de sulfite de sodium ordinaire. Après 30 min, les feuilles sont broyées et analysées. La radioactivité retrouvée sous forme de sulfite est indiquée dans le Tableau IV.

Résultats. Voir Tableau IV.

TABLEAU IV

RÉDUCTION DU SULFATE EN SULFITE SOUS LUMIÈRE BLANCHE OU VERTE DE MÊME INTENSITÉ
La lumière verte est celle transmise par un filtre Wratten No. 59 de bande passante 530 m μ à 600 m μ . Essais I et II : feuilles prélevées à 15 h de plants cultivés à la lumière du jour. Essais III et IV : feuilles prélevées d'un pied séjournant depuis 27 h à l'obscurité. Résultats exprimés en i.p.m. dans nos conditions de mesures.

| Essai | Sulfate absorbé i.p.m. | Sulfite isolé i.p.m. | Rendement |
|----------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------|
| I. Lumière blanche | 300,000 | 1,155 | $385 \cdot 10^{-5}$ |
| II. Lumière verte | 363,000 | 2,602 | $710 \cdot 10^{-5}$ |
| III. Lumière blanche | 713,000 | 331 | $46 \cdot 10^{-5}$ |
| IV. Lumière verte | 690,000 | 753 | $109 \cdot 10^{-5}$ |

IV. Mesure de l'activité spécifique du sulfite formé

Disposition des expériences. Les conditions d'expériences sont voisines de celles décrites en I. Toutefois on supprime l'addition de sulfite entraîneur à la poudre gelée de feuilles placée dans le barboteur. De plus, on poursuit la distillation du gaz sulfureux pendant une heure. Le gaz sulfureux est capté par la solution alcaline utilisée, mais additionnée de versène à la concentration de $5 \cdot 10^{-3} M$. Le dosage du sulfite est effectué par l'iode. On a vérifié qu'il n'y a pas d'autres substances réductrices présentes mesurées dans les mêmes conditions.

Éclairage: Il est obtenu par une lampe à filament de tungstène d'une puissance de 750 watts. La lampe est munie d'un réflecteur. On détache 4 feuilles du même âge de plants de tabac cultivés à la lumière du jour dans les conditions habituelles. Deux d'entre elles (poids 3.18 g) sont placées à 1.5 m de la lampe, leurs pétioles plongeant dans la solution radioactive usuelle. Les deux autres feuilles (poids 3.15 g) sont maintenues à l'obscurité dans la même solution de sulfate. Après 30 min on jette les feuilles dans l'azote liquide et procède à la distillation du sulfite.

Résultats. La radioactivité recueillie dans une série d'essais réalisés dans ces conditions figure dans le Tableau V.

V. Réduction du sulfate en sulfite par la feuille de tabac en fonction du temps

Disposition des expériences. On expose à la lumière du soleil deux tiges de tabac portant des feuilles et plongeant dans la solution de [³⁵S] sulfate sans entraîneur + sulfite, utilisée au cours de ce travail. Aux temps choisis, on prélève dans chaque

TABLEAU V

RADIOACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DU SULFITE ISOLÉ À PARTIR DE FEUILLES
DE TABAC ILLUMINÉES OU PLACÉES À L'OBSCURITÉ

Nutrition pétioinaire de 30 min avec la solution: [³⁵S]sulfate sans entraîneur $3.1 \cdot 10^7$ i.p.m. sulfite de sodium 24.6 mg par ml. Autres conditions expérimentales: voir le texte. Résultats exprimés en i.p.m. dans nos conditions de mesure.

| <i>Essai</i> | <i>Sulfate absorbé</i> <i>i.p.m.</i> | <i>Sulfite isolé</i> <i>i.p.m.</i> | <i>μg</i> | <i>Radioactivité</i> <i>spécifique en i.p.m./μg</i> |
|-----------------|---|---------------------------------------|-----------|--|
| I. Lumière | 369,000 | 7,020 | 654 | 10.7 |
| II. Lumière | 178,500 | 1,210 | 182 | 6.6 |
| III. Lumière | 250,000 | 4,400 | 182 | 24.4 |
| IV. Lumière | 148,000 | 2,400 | 303 | 7.9 |
| V. Lumière | 171,000 | 1,514 | 286 | 5.3 |
| VI. Lumière | 2,714,000 | 10,000 | 2,100 | 4.8 |
| VII. Obscurité | 271,000 | 256 | 400 | 0.64 |
| VIII. Obscurité | 213,000 | 402 | 750 | 0.54 |
| IX. Obscurité | 1,170,000 | 468 | 500 | 0.94 |
| X. Obscurité | 330,000 | 230 | 1,620 | 0.14 |
| XI. Obscurité | 585,000 | 449 | 974 | 0.46 |
| XII. Obscurité | 100,000 | 89 | 565 | 0.71 |
| XIII. Obscurité | 153,000 | 80 | 750 | 0.01 |

Les expériences I à IV ont été faites sous une intensité lumineuse constante correspondant à 91 divisions de l'appareil de mesure. L'expérience V a reçu une intensité lumineuse correspondant à 78 divisions. L'expérience VI a été faite au soleil.

feuille, avec un perce-bouchon, deux rondelles de 15 mm de diamètre que l'on jette aussitôt dans l'azote liquide. L'ensemble de ces rondelles représente un échantillon moyen des feuilles présentes. Lors de ce prélèvement on prend soin de ne pas couper de nervure importante. Les lots de rondelles obtenus sont analysés de la façon habituelle.

Résultats. Ils figurent dans le Tableau VI.

TABLEAU VI

RÉDUCTION DU SULFATE EN SULFATE EN SULFITE PAR LA FEUILLE DE TABAC
EN FONCTION DU TEMPS ET À LA LUMIÈRE DU JOUR

Conditions expérimentales décrites dans le texte. Résultats exprimés en i.m.p. dans nos conditions de mesure.

| <i>Essai</i> | <i>Temps</i> <i>(min)</i> | <i>Sulfate absorbé</i> <i>i.p.m.</i> | <i>Sulfite isolé</i> <i>i.p.m.</i> | <i>Rendement</i> |
|--------------|------------------------------|---|---------------------------------------|-----------------------|
| I | 5 | 11,800 | 340 | $2.880 \cdot 10^{-5}$ |
| | 10 | 13,800 | 259 | $1.875 \cdot 10^{-5}$ |
| | 38 | 45,500 | 124 | $2.73 \cdot 10^{-5}$ |
| | 57 | 71,800 | 218 | $3.08 \cdot 10^{-5}$ |
| II | 10 | 26,230 | 930 | $3.540 \cdot 10^{-5}$ |
| | 25 | 37,000 | 525 | $1.418 \cdot 10^{-5}$ |
| | 40 | 817,000 | 7,890 | $965 \cdot 10^{-5}$ |

DISCUSSION

Les chiffres du Tableau II montrent que la feuille de tabac est capable de réduire le sulfate en sulfite. Le rapport de la radioactivité recueillie sous forme de sulfite à la radioactivité absorbée par la feuille est plus grand à la lumière qu'à l'obscurité.

On peut en conclure soit que la lumière favorise la réduction du sulfate, soit que l'obscurité favorise la disparition du sulfite.

Il paraît très peu vraisemblable que l'obscurité puisse favoriser la disparition du sulfite. En effet, une telle disparition est la conséquence de deux types de phénomènes: (1) l'oxydation du sulfite à l'état de sulfate et (2) la combinaison du sulfite avec des molécules organiques. Ces transformations sont fonction de la concentration en accepteurs et de la concentration en catalyseurs. Si l'on se place dans des conditions aussi comparables que possible à l'égard de ces deux derniers facteurs, en utilisant non des feuilles détachées de pieds de tabac différents, mais les feuilles restant attachées à une même tige, on constate (Tableau III) que la radioactivité recueillie sous forme de sulfite reste, à la lumière, supérieure à celle obtenue à l'obscurité. Les expériences mettant en oeuvre des lumières de qualité différente, blanche et verte, et d'intensité incidente égale, non seulement montrent (Tableau IV) le rôle de la lumière dans la réduction du sulfate, mais suggèrent même que la lumière blanche possède des composantes (par exemple les radiations bleues) susceptibles de favoriser la disparition du sulfite.

Le Tableau IV montre aussi qu'après avoir séjourné 27 heures à l'obscurité, les feuilles ont perdu en grande partie leur aptitude à réduire le sulfate et que la lumière verte permet de retrouver plus de radioactivité sous forme de sulfite que la lumière blanche.

Dans les conditions utilisées, c'est par la mesure de la radioactivité spécifique du sulfite formé que l'on peut démontrer de la façon la plus convaincante le rôle de la lumière dans la réduction du [³⁵S]sulfate. Les résultats des expériences faites dans ce but sont indiqués dans le Tableau V. Deux faits s'en dégagent: (1) Les quantités de sulfite isolées des feuilles maintenues à l'obscurité ne sont pas en moyenne inférieures à celles que l'on obtient des feuilles illuminées. On est conduit ainsi à rejeter l'hypothèse de l'utilisation plus rapide du sulfite par les tissus à l'obscurité. (2) La radioactivité spécifique du sulfite provenant des feuilles éclairées est supérieure à celle obtenue à l'obscurité. Si l'on fait l'hypothèse que la perméabilité cellulaire à l'égard du sulfate et du sulfite est sensiblement la même à la lumière et à l'obscurité, on peut conclure que la lumière favorise la réduction du sulfate par la feuille de tabac.

On voit d'autre part dans les Tableaux II, III, IV et V que la radioactivité du sulfite isolé est, en valeur absolue, petite par rapport à la radioactivité du sulfate absorbé.

Quatre arguments contribuent à expliquer ce fait: (a) Il est vraisemblable qu'une grande part du sulfate présent dans la feuille se trouve dans les vaisseaux et n'est pas encore entré dans les cellules. (b) Le retour du [³⁵S]sulfite formé à l'état de [³⁵S]sulfate par oxydation avant qu'il ne se mélange au sulfite entraîneur est possible. (c) La combinaison irréversible du [³⁵S]sulfite à l'état de substance organique. (d) L'oxydation du sulfite non radioactif introduit comme entraîneur. Dans les premiers instants de l'expérience, la feuille吸吸ue un mélange de [³⁵S]sulfate sans entraîneur et de sulfite non radioactif. La radioactivité spécifique du sulfate, extrêmement élevée au début, décroît rapidement par apport de sulfate formé aux dépens du sulfite présent. En conséquence, la radioactivité spécifique du [³⁵S]sulfite formé décroît aussi, et la radioactivité totale du [³⁵S]sulfite isolé donne une image déformée du phénomène de réduction. Les mesures de la radioactivité isolée sous forme de sulfite en fonction du temps, qui font l'objet du Tableau VI, sont en accord avec ce point de vue. Il en résulte

que le [³⁵S]sulfite que nous mesurons ne représente qu'une très petite part du sulfite formé par suite de l'activité métabolique de la feuille. Par conséquent nos chiffres doivent être considérés comme des indications relatives, bien inférieures à la réalité. Le Tableau VI, joint aux considérations précédentes, montre aussi que la réduction du sulfate en sulfite est une réaction rapide. En 5 minutes, 2.8 % (essai I) de la radioactivité présente dans les tissus prélevés sont retrouvés sous forme de sulfite.

NIGHTINGALE¹⁰ a montré la présence de sulfite dans les végétaux. Le présent travail établit l'existence d'une réduction du sulfate en sulfite par les feuilles de tabac, et le rôle essentiel de la lumière pour cette réaction. On doit rapprocher ce résultat de ceux qui ont été décrits à propos des bactéries, des levures, des champignons et de certains tissus animaux, concernant l'utilisation du soufre du sulfate. Les végétaux, comme tous ces organismes, réduisent le sulfate en sulfite. Il nous semble que l'on se trouve ici en présence d'un phénomène général, à savoir que la réduction du sulfate en sulfite représente une étape obligatoire du métabolisme conduisant à la synthèse des liaisons C-S. Nous n'avons pas de données sur le mécanisme de cette réduction. Cette réaction intéresse-t-elle le sulfate sous une forme minérale, ou un anhydride organique mixte de celui-ci? Il est en effet possible que le sulfate actif¹¹, le 3'-phosphoadénosine-5'-phosphosulfate soit réduit en dérivé correspondant au sulfite. Ce composé doit être très instable, comme le signale BANDURSKI¹² et il est plausible que l'on isole le composé de réduction du sulfate sous forme de sulfite libre, même si la forme présente à l'état naturel est de nature organique. On peut se demander aussi s'il existe une réduction du sulfate à l'obscurité, dans les feuilles ou dans d'autres tissus, les racines par exemple, question à laquelle nous ne pouvons pas donner aujourd'hui de réponse, mais qu'une comparaison avec le métabolisme du nitrate suggère. Il demeure que la réduction du sulfate par les feuilles illuminées est une nouvelle manifestation du milieu puissamment réducteur que la lumière fait apparaître dans les tissus végétaux. Il n'est pas impossible que le sulfate représente un substrat pour l'étude de ces processus photochimiques en eux-mêmes, lorsqu'on pourra mesurer avec précision les quantités de sulfite formées. Dans l'état actuel, la rapide oxydation du sulfite^{13, 14} nous paraît un obstacle majeur sur cette voie.

REMERCIEMENT

Nous tenons à remercier Mr. E. ROUX pour l'aide matérielle précieuse qu'il nous a souvent apporté au cours de ce travail, et pour la cordialité de nos discussions.

RÉSUMÉ

Le présent travail montre que la feuille entière de tabac réduit le [³⁵S]sulfate en [³⁵S]sulfite. La quantité et la radioactivité spécifique du [³⁵S]sulfite recueilli indiquent que la lumière joue un rôle essentiel dans cette réduction. Celle-ci est une réaction rapide mais son étude quantitative est rendue difficile à cause de l'oxydation du sulfite en sulfate que les tissus utilisés catalysent.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ A. C. R. DEAN ET C. N. HINSHELWOOD, *Progress in Biophysics*, 5 (1955) 1.
- ² J. MILLET, *Compt. rend.*, 238 (1954) 408.
- ³ H. SCHANDERL, *Microbiol. Espan.*, 5 (1952) 17.
- ⁴ D. J. D. HOCKENHULL, *Biochim. Biophys. Acta*, 3 (1949) 326.

- ⁵ F. CHAPEVILLE ET P. FROMAGEOT, *Biochim. Biophys. Acta*, 26 (1957) 538.
- ⁶ P. FROMAGEOT ET H. PEREZ-MILAN, *Compt. rend.*, 243 (1956) 1061.
- ⁷ N. G. DOMAN, *Biokhimiya*, 22 (1957) 715.
- ⁸ H. T. CLARKE, *J. Biol. Chem.*, 97 (1932) 235.
- ⁹ R. T. E. SCHENK ET I. DANISHEFSKY, *J. Org. Chem.*, 16 (1951) 1683.
- ¹⁰ G. T. NIGHTINGALE, L. G. SCHERMERHORN ET W. R. ROBBINS, *Plant Physiol.*, 7 (1932) 565.
- ¹¹ P. W. ROBBINS ET F. LIPPMANN, *J. Am. Chem. Soc.*, 78 (1956) 2652.
- ¹² R. S. BANDURSKI, *Annual Meeting of the American Society of Plant Physiologists*, Storrs, Connecticut, 1956.
- ¹³ J. M. TAGER ET N. RAUTANEN, *Biochim. Biophys. Acta*, 18 (1955) 111.
- ¹⁴ H. PEREZ-MILAN, *Thèse*, Université de Paris, 1958.

A CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE
OF PNEUMOCOCCUS TRANSFORMATION DURING THE PERIOD
BETWEEN THE INCORPORATION OF DEOXYRIBONUCLEIC ACID
AND THE APPEARANCE OF STREPTOMYCIN RESISTANCE

MIHOKO ABE AND DENICHI MIZUNO

National Institute of Health, Tokyo (Japan)

(Received July 8th, 1958)

SUMMARY

1. In pneumococcus transformation, the appearance of SM-resistants from a population of sensitive cells which incorporated DNA at approximately the same time followed the normal frequency distribution during a period of 100 min after the exposure of cells to the DNA.

2. The phenomenon depended on temperature, the optimal temperature being 37° after the incorporation of DNA into the cells, and required an external supply of nutrients.

INTRODUCTION

In bacterial transformation, recipient cells express one or more of the genetic characteristics of the donor strain after the incorporation of DNA, where the DNA may at first be absorbed and incorporated into the growing cells of transformable phase and then fixed on the genetic apparatus of the cells to express its function¹. Attention of several workers, in this connection, has been focussed on the competence of recipient cells^{2, 3}, kinetic analysis of the reaction between the cells and DNA^{3, 4, 5}, or on the mechanism of incorporation of DNA by the cells¹. No precise account has been reported of any attempt to elucidate the process during the period between the invasion of DNA and appearance of SM resistance. The present report deals with this process and shows that the time required for cells to develop SM resistance after the invasion

Abbreviations: DNA: deoxyribonucleate; RNA: ribonucleate; DNase: deoxyribonuclease; RNase: ribonuclease; SM: streptomycin.

References p. 469.