

## Preliminary Notes

### Protéines anormales de phage synthétisées en présence de ribonucléase

Les particules de phage produites par un *Bacillus megaterium* lysogène après induction sont dépourvues de caractère infectieux dans leur immense majorité si de la ribonucléase de boeuf a été ajoutée à la culture au moment où débute la synthèse des protéines virales<sup>1</sup>. Il semble que la majorité, sinon la totalité des protéines virales synthétisées dans ces conditions aient une structure anormale.

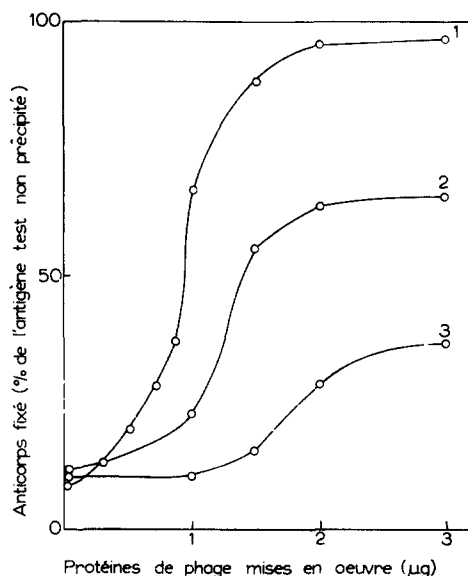


Fig. 1. Quantités d'anticorps fixées lorsque des quantités croissantes de protéines de phages normaux (1) ou de protéines de phages cultivés en présence de ribonucléase [(2): 60  $\mu\text{g/ml}$ ; (3): 100  $\mu\text{g/ml}$ ] sont ajoutées à des quantités constantes de sérum anti-phage normal. La quantité d'anticorps fixée est supposée proportionnelle au % non précipitable d'une quantité test de protéines de phages normaux ajoutée après la fin de la réaction étudiée.

Les constituants protéiques des phages cultivés en présence de ribonucléase et dispersés par l'action d'un oscillateur Raytheon 10 KC ne fixent en effet qu'une partie des anticorps précipitants d'un sérum anti-phage normal (Fig. 1), et ne sont précipités que très partiellement par ce sérum (Fig. 2).

D'autre part, les protéines virales édifiées en présence de ribonucléase, et restées libres au moment de la lyse des cellules bactériennes par le lysozyme, apparaissent dans le diagramme d'éluion d'une chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose sous l'aspect d'une large bande, correspondant vraisemblablement à de nombreuses espèces protéiques non séparées. Cette fraction complexe occupe toujours la même position dans le diagramme quel que soit le temps écoulé entre le début de la synthèse

Abbréviation: DEAE-cellulose: diethylaminoethyl-cellulose.

des protéines virales et le prélèvement des cellules. Dans le cas des cultures témoins le diagramme d'éluion montre au contraire un petit nombre de pics étroits, largement séparés. Les divers pics observés apparaissent à des moments différents de l'évolution du système (Fig. 3).

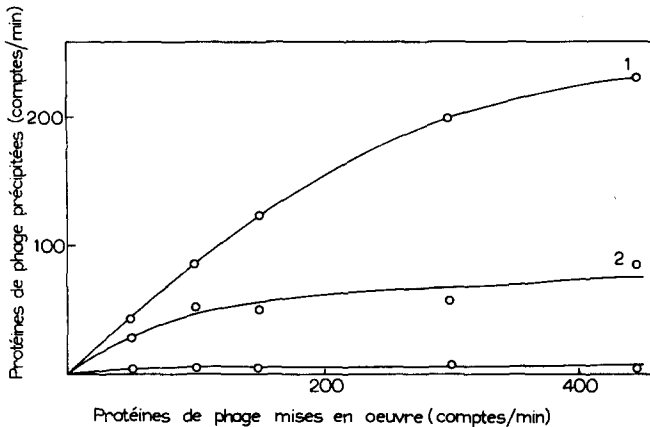


Fig. 2. Quantités de protéines normales de phage (1) et de protéines synthétisées en présence de ribonucléase [(2): 40  $\mu\text{g/ml}$ ; (3): 60  $\mu\text{g/ml}$ ] qui précipitent après adjonction de quantités croissantes de chacun des antigènes testés à une quantité fixe de sérum antiphage normal. Les quantités d'antigènes sont exprimées en comptes/min; les diverses préparations étaient marquées par du  $^{35}\text{S}$  à la même radioactivité spécifique.

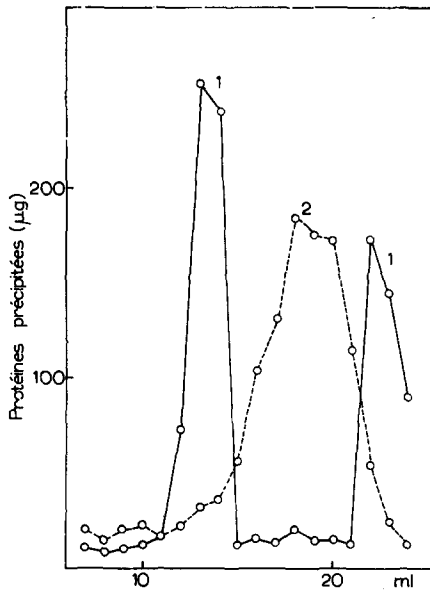


Fig. 3. Protéines phagiques libres, précipitables par du sérum anti-phage normal, recueillies après chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose d'un lysat par le lysozyme de cellules de *B. megaterium* induites. Cellules lysées par le lysozyme 15 min avant le début de la lyse spontanée. Particules de phage éliminées par centrifugation. Elution à l'aide d'un tampon phosphate 0.02  $M$ , pH 7.4. Fractions de 1 ml. Cultures faites en l'absence de ribonucléase (1) ou en présence de 60  $\mu\text{g/ml}$  de l'enzyme (2).

Ces divers effets de la ribonucléase ne se manifestent pas si le site enzymatique-ment actif est préalablement bloqué par carboxyméthylation d'une histidine suivant la méthode de BARNARD ET STEIN<sup>2</sup>. Il paraît donc probable que la ribonucléase agit sur la structure d'acides ribonucléiques intervenant dans la synthèse des protéines de phage et responsables de leur structure spécifique. L'altération de cette dernière expliquerait parfaitement l'absence de réaction entre les protéines anormales formées et les anticorps correspondant aux protéines normales. Les caractères chromatographiques des protéines phagiques libres synthétisées en présence de ribonucléase s'expliqueraient de même très aisément si nous admettions qu'elles appartiennent à de nombreux types aberrants alors que les protéines phagiques libres des cultures témoins ne peuvent appartenir qu'à un très petit nombre de types puisqu'elles sont sans doute essentiellement les précurseurs des particules mûres<sup>3,4</sup>.

Un choix entre les diverses hypothèses qui pourraient être faites concernant le mécanisme de l'action de la ribonucléase sur la structure d'acides ribonucléiques intervenant dans la synthèse des protéines de phage paraît impossible actuellement.

*Laboratoire de physiologie animale,  
Université de Bruxelles (Belgique)*

R. JEENER  
N. DUPONT-MAIRESSE  
G. VANSANTEN

<sup>1</sup> R. JEENER, *Biochim. Biophys. Acta*, 32 (1959) 106.

<sup>2</sup> E. A. BARNARD ET W. D. STEIN, *J. Mol. Biol.*, 1 (1959) 339.

<sup>3</sup> G. KOCH ET A. D. HERSHEY, *J. Mol. Biol.*, 1 (1959) 260.

<sup>4</sup> N. DUPONT-MAIRESSE ET R. JEENER, (en préparation).

Reçu le 21 octobre 1960

*Biochim. Biophys. Acta*, 45 (1960) 606-608

### Bacteriocidal action of mitomycin C

The results of several investigations<sup>1,2</sup> have shown that the anti-tumour antibiotic, Mitomycin C, possesses antibacterial and radiomimetic properties. Moreover, in susceptible microorganisms it inhibits the biosynthesis of DNA<sup>3</sup>. The action of Mitomycin suggested a possible relationship to the phenomenon of "thymineless death"<sup>4</sup>, a characteristic potentially useful for the selection of biochemical mutants in bacterial populations<sup>5</sup>. We have therefore examined its effect on several strains of *Escherichia coli*. The results show that Mitomycin C causes these bacteria to break down their DNA rapidly, acid-soluble products being formed.

A 12-h culture of *E. coli* (strain 15T<sup>-</sup>), grown with shaking at 37°, was diluted into 5 vol. glycerol-ammonium-salts medium supplemented with thymidine (30 mg/l). The bacteria were harvested by centrifugation while in the logarithmic phase of growth, washed thrice with thymidine-free medium, and resuspended in medium containing [<sup>3</sup>H]thymidine. Following 90-min incubation under conditions which prevented the occurrence of "thymineless death", the culture was once again centrifuged, the bacterial pellet washed free of radioactive thymidine, resuspended and incubated in fresh medium containing graded concentrations of Mitomycin C. After suitable intervals of time, the cultures were acidified with cold dilute HClO<sub>4</sub> and centrifuged. The supernatant solutions were neutralized with KOH, and the salts

Abbreviations: DNA, deoxyribonucleic acid.