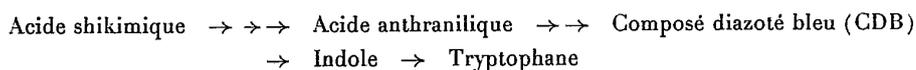


GÉNÉTIQUE BIOCHIMIQUE. — *Sur la répression de la synthèse des enzymes intervenant dans la formation du tryptophane chez Escherichia coli.*
 Note de MM. **GEORGES COHEN** et **François JACOB**, présentée par
 M. Jacques Tréfouël.

L'addition de tryptophane aux cultures d'*E. coli* K 12 inhibe la synthèse de plusieurs enzymes intervenant dans la formation du tryptophane. Cette répression est levée par la mutation d'un gène ($R_{tr,y}$) qui semble assurer la conversion du tryptophane en un (ou plusieurs) répresseurs spécifiques.

On connaît, chez les microorganismes, plusieurs cas d'inhibition spécifique de la synthèse d'enzymes par des « répresseurs » exogènes ⁽¹⁾, ⁽²⁾, ⁽³⁾, ⁽⁴⁾. La synthèse de trois enzymes intervenant dans la formation de l'arginine est inhibée par l'arginine, même si la chaîne de biosynthèse de l'arginine est interrompue par une mutation ⁽⁵⁾. On sait également que certains mutants résistant à des analogues d'acides aminés excrètent l'acide aminé naturel correspondant ⁽⁶⁾. L'étude de tels mutants doit permettre d'analyser la régulation de la synthèse des enzymes.

Nous avons étudié les enzymes intervenant dans la biosynthèse du tryptophane selon le schéma



Chez *Escherichia coli*, le 5-méthyltryptophane inhibe la synthèse du tryptophane ⁽⁷⁾. A partir d'*E. coli* K 12, nous avons isolé des mutants résistant au 5-méthyltryptophane. Certains de ces mutants excrètent du tryptophane. L'un d'eux ($R_{1tr,y}^-$) a été étudié. Il diffère du type sauvage ($R_{1tr,y}^+$) par un seul facteur génétique qui a été localisé, par conjugaison et transduction, loin du groupe des déterminants gouvernant la synthèse des enzymes assurant la production du tryptophane, mais près de ceux assurant la synthèse de la thréonine. On peut donc transférer le caractère $R_{1tr,y}^-$ à des mutants incapables d'accomplir l'une des étapes de la synthèse du tryptophane.

La mutation $R_{1tr,y}^-$ ne modifie ni la perméabilité des bactéries au tryptophane, ni leur niveau de tryptophanase. Nous avons mesuré les niveaux de différentes enzymes de la séquence, chez les bactéries $R_{1tr,y}^+$ et $R_{1tr,y}^-$, cultivées en présence ou en absence de tryptophane (tableau).

Cultivées en l'absence de tryptophane, les bactéries $R_{1tr,y}^-$ contiennent 3 à 7 fois plus de tryptophane-synthétase que les bactéries sauvages $R_{1tr,y}^+$. La présence de tryptophane dans les cultures réduit de 74 à 90 % le niveau d'enzyme chez les bactéries $R_{1tr,y}^+$ mais pas celui des $R_{1tr,y}^-$. En présence de tryptophane, les bactéries $R_{1tr,y}^-$ contiennent ainsi plus de 20 fois plus d'enzyme que le type sauvage $R_{1tr,y}^+$. L'action du tryptophane sur la

synthèse du système enzymatique assurant la conversion de l'antranilate en composé diazoté bleu est similaire car cette synthèse est inhibée de 80 à 90 % chez les bactéries $R_{1\text{try}}^+$ mais pas chez les bactéries $R_{1\text{try}}^-$. L'expression des allèles $R_{1\text{try}}^+$ et $R_{1\text{try}}^-$ est indépendante de l'interruption génétique de la séquence de biosynthèse du tryptophane : parmi les mutants incapables de transformer CDB en indole, le tryptophane inhibe la synthèse du système assurant la consommation de l'antranilate chez les bactéries $R_{1\text{try}}^+$ mais non chez les bactéries $R_{1\text{try}}^-$. Les enzymes assurant la synthèse de l'antranilate n'ont pu encore être étudiées directement. Cependant, leur synthèse paraît être soumise à la même régulation que celle des systèmes précédents car, cultivés en présence de tryptophane, les mutants interrompus après l'antranilate n'accumulent ce composé que s'ils possèdent l'allèle $R_{1\text{try}}^-$.

| Substrat consommé (*). | Préparations. | Cultures | | Répression (%) |
|------------------------|--|-------------------|---------------------------------|----------------|
| | | sans tryptophane. | avec L-tryptophane 10^{-3} M. | |
| Indole | Extraits : | | | |
| | Type sauvage $R_{1\text{try}}^+$ | 250 | 66 | 74 |
| | Mutant $R_{1\text{try}}^-$ | 1 467 | 1 449 | 0 |
| | Mélange à parties égales... | 1 631 | 1 587 | - |
| Antranilate | Suspensions bactériennes : | | | |
| | a. Type sauvage $R_{1\text{try}}^+$ | 28 | 4,2 | 85 |
| | Mutant $R_{1\text{try}}^-$ | 28 | 27 | 0 |
| | b. Mutant interrompu entre indole et CDB : | | | |
| | $R_{1\text{try}}^+$ | 90 | 0 | 100 |
| | $R_{1\text{try}}^-$ | 150 | 122 | 18 |

(*) Millimicromoles par milligramme de protéine et par heure.

Les suspensions bactériennes sont obtenues à partir de cultures centrifugées et lavées et les extraits par désintégration sonique des suspensions. La tryptophane-synthétase est dosée par consommation de l'indole (⁶). L'antranilate est estimé selon Trudinger et Cohen (⁷) après destruction du CDB par l'acide trichloracétique.

Ainsi la synthèse des complexes enzymatiques étudiés est inhibée par le tryptophane chez les bactéries sauvages et la mutation $R_{1\text{try}}^-$ lève cette inhibition. Cette inhibition est spécifique : chez les bactéries sauvages, le tryptophane n'inhibe pas la synthèse de la méthionine-synthase et inversement, la méthionine inhibe la synthèse de la méthionine-synthase, mais non celle de la tryptophane-synthétase (¹). L'effet de la mutation $R_{1\text{try}}^-$ est également spécifique et n'affecte pas l'inhibition par la méthionine de la synthèse de la méthionine-synthase. Chez un autre mutant, résistant à la norleucine, la synthèse de la méthionine-synthase n'est plus inhibée par la méthionine, tandis que celle de la tryptophane-synthétase est inhibée par le tryptophane.

Dans les croisements entre bactéries Hfr $R_{1,try}^-$ et $F^- R_{1,try}^+$, les hétéromérozygotes $R_{1,try}^-/R_{1,try}^+$ sont sensibles au 5-méthyl-tryptophane, c'est-à-dire sont répressibles par le tryptophane. Le caractère $R_{1,try}^-$, hérité du parent Hfr ne s'exprime qu'après ségrégation des recombinants. L'hypothèse d'une interaction directe entre des gènes aussi éloignés que R_{try} et les gènes gouvernant la synthèse des enzymes produisant le tryptophane paraît peu vraisemblable. Le gène R_{try} semble donc agir par l'intermédiaire d'une substance cytoplasmique.

Cette situation est comparable à celle de la synthèse inductible ou constitutive de la β -galactosidase : l'allèle « inductible » est dominant et paraît gouverner la formation d'un répresseur cytoplasmique (8). Dans le cas du tryptophane, la conclusion essentielle est que la synthèse des enzymes est inhibée par un (ou des) répresseur spécifique formé en présence de tryptophane sous l'action du gène R_{try} (10).

(1) M. COHN et J. MONOD, in *Adaptation in microorganisms*, III Symp. Soc. gen. Microb., Cambridge University Press, 1953, p. 132.

(2) H. J. VOGEL, in *The chemical basis of heredity*, Johns Hopkins Press, 1957, p. 276.

(3) A. B. PARDEE, in *Ciba Foundation Symposium on the regulation of cell metabolism*, J. et A. Churchill, 1959, p. 295.

(4) B. MAGASANIK, A. K. MAGASANIK et F. C. NEIDHARDT, in *Ciba Foundation Symposium on the regulation of cell metabolism*, J. et A. Churchill, 1959, p. 334.

(5) L. GORINI et W. K. MAAS, in *The chemical basis of development*, Johns Hopkins Press, 1958, p. 469.

(6) G. N. COHEN et E. A. ADELBERG, *J. Bact.*, 76, 1958, p. 328.

(7) P. A. TRUDINGER et G. N. COHEN, *Biochem. J.*, 62, 1956, p. 488.

(8) A. B. PARDEE, F. JACOB et J. MONOD, *Comptes rendus*, 246, 1958, p. 3125.

(9) D. S. HOGNESS et H. K. MITCHELL, *J. gen. Microb.*, 11, 1954, p. 401.

(10) Ce travail a bénéficié de l'aide de la « National Science Foundation » et du « Jane Coffin Childs Memorial Fund ».