

## ESSAIS SUR UN MÉCANISME BIOCHIMIQUE DES MUTATIONS

P. MANDEL

Institut de Chimie Biologique, Faculté de Médecine, Strasbourg

**Abstract**—A reduced biosynthesis of nucleic acids in the spleen and in cells of ascite hepatoma produced by X-rays is accompanied by an increased content of free nucleoside and deoxynucleoside triphosphates, although the rate of synthesis of the nucleotides appears nearly normal. This seems to indicate that the inhibition lies at the level of the polymerase activity (which produces nucleic acids from the triphosphate precursors) rather than on the production of the precursors themselves.

An increase in the amount of free nucleoside polyphosphates has also been mentioned in bacteria irradiated by ultra-violet light, a known mutagenic agent. Mutations are similarly favoured by reinforcing the culture medium with purine and pyrimidine bases before irradiation.

All nucleoside and deoxynucleoside triphosphates are not equally affected and the abnormal pool of these precursors may possibly result in the formation of an abnormal RNA. The possibility that a modified DNA primer for the further synthesis of subsequent DNA can also be produced, is discussed in connection with the work of KORNBERG *et al.* and with observations made on intact cells. This possibility will be tested experimentally.

The major interest of this hypothesis lies in its ability to explain the production of spontaneous mutations of metabolic origin; in these the common pool of precursors may be altered by the withdrawal of some of the constituents, with the effect that an abnormal DNA is consequently synthesized. This hypothesis could also explain the modification of DNA in the host cell contaminated by the pool of precursors brought about by the infecting virus.

IL EST évident que toute tentative d'explication du mécanisme des mutations doit tenir compte d'un certain nombre de connaissances acquises parmi lesquelles il faut rappeler en premier lieu:

(a) Les observations faites quand on provoque expérimentalement des mutations en grand nombre par les rayons X, les rayons ultraviolets et certains agents chimiques mutagènes.

(b) La notion que l'acide désoxyribonucléique (ADN)\* est le support biochimique des caractères héréditaires, que sa constitution joue à cet égard un rôle déterminant et qu'au cours de la reproduction on assiste à une "réplication" de l'ADN.

\* Abréviations utilisées: acide désoxyribonucléique (ADN); acide ribonucléique (ARN); acide nucléique (AN); nucléosides triphosphates (NTP); désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP); adénosine, cytidine, uridine, guanosine, inosine et thymidine monophosphates (AMP, CMP, UMP, GMP, IMP et TMP) ou triphosphates (ATP, CTP, UTP, GTP, ITP et TTP); désoxyadénosine, désoxyguanosine, désoxycytidine, désoxyuridine et désoxyinosine monophosphates (dAMP, dGMP, dCMP, dUMP et dIMP) ou triphosphates (dATP, dGTP, dCTP, dUTP et dITP).

Dans ces conditions, le problème qui se pose est de savoir quelles sont les causes susceptibles de provoquer une modification permanente et transmissible de la structure de l'ADN génétique. Pour y répondre, il convient de se souvenir du mécanisme de la biosynthèse de l'ADN. Il ressort des travaux de KORNBERG *et al.* (KORNBERG, 1957a, b, 1959; BESSMAN *et al.*, 1957, 1958) que la synthèse de l'ADN s'effectue à partir de précurseurs qui sont les désoxynucléosides triphosphates, par l'intervention d'un système enzymatique approprié et en présence d'une molécule d'ADN jouant un rôle d'amorce, le *primer*. C'est ce *primer* qui oriente la synthèse vers la constitution d'une molécule qui lui est identique et qui représente donc sa réplique. Dès lors l'origine des mutations serait à rechercher soit dans le changement du *primer* qui mène à la production d'un ADN modifié, soit dans un trouble de la biosynthèse qui fait intervenir les précurseurs et l'enzyme.

Nous savons actuellement que certains agents mutagènes sont susceptibles de provoquer une lésion de l'ADN, par conséquent une modification du *primer*, ce qui conduit par replication à un ADN modifié et par conséquent à une mutation. C'est le cas des rayons X qui peuvent rompre la chaîne polynucléotidique de l'ADN, ou provoquer par le phénomène de la cible un changement dans la succession des nucléotides au sein de la molécule d'ADN. C'est aussi le cas de certains agents alkylants (ALEXANDER, *et al.*, 1960) ou du  $\text{NO}_2\text{H}$  qui peuvent entrer en réaction avec les bases puriques et pyrimidiques. Il s'agit donc dans les deux cas d'une "lésion" de la molécule d'ADN qui s'en trouve modifiée et donne lieu par la voie de la synthèse normale à des ADN également modifiés et par conséquent à des mutations stables.

Mais il semble bien que le phénomène de la cible ne peut expliquer entièrement les mutations par les rayons X et ultra violets. Il en est de même pour certains agents chimiques mutagènes pour lesquels on chercherait vainement une action directe sur l'ADN. Force est donc d'envisager l'autre point d'attaque de la biosynthèse de l'ADN dans laquelle interviennent en dehors du *primer* les précurseurs et le système enzymatique. C'est à l'étude de cet aspect du problème que nous nous sommes attaché. Il nous a paru intéressant de rechercher comment est troublée la biosynthèse de l'ADN sous l'effet des rayons X, un agent physique connu pour la fréquence des mutations qu'il suscite. Mais on ne peut séparer la biosynthèse de l'ADN de celle de l'acide ribonucléique (ARN), étant donné l'intervention de ce dernier dans la biosynthèse des protéines donc d'enzymes, et les interactions entre les nucléosides polyphosphates précurseurs des acides nucléiques (AN). Aussi avons-nous examiné parallèlement l'évolution de l'ARN. Comme par ailleurs il s'agit en fait d'étudier le phénomène fondamental, l'effet des rayons X sur la biosynthèse des AN, le choix du matériel, bactéries ou tissus animaux, peut être en première approximation indifférent. Ce qui importe, c'est de choisir des cellules en voie de prolifération rapide et par conséquent siège de synthèses intenses d'AN. C'est ainsi que, pour commencer, nous avons adopté comme voie d'investigation l'étude des effets des rayons X sur les AN de la rate et de cellules d'un hépatome ascitique chez le rat.

#### RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Nos essais ont porté sur des rats de souche Wistar rigoureusement homogène. Les animaux sont issus de croisements entre frères et soeurs depuis plus de vingt

génération. Les animaux témoins et irradiés sont du même sexe et proviennent de mêmes portées.

Les méthodes et techniques employées et des résultats préliminaires sont exposés ailleurs (MANDEL et CHAMBON, 1959, 1960; CHAMBON et MANDEL, 1959). Nous aborderons donc directement les résultats expérimentaux.

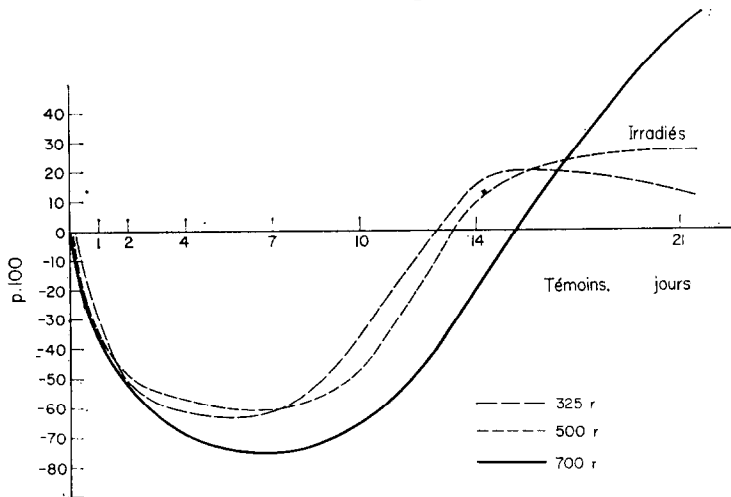


FIG. 1. Actions des diverses doses de Rayons X (325, 500, 700 r) sur l'acide ribonucléique de la rate chez le rat: variations des quantités absolues. Les courbes indiquent la réduction des quantités absolues d'ARN; l'axe des abscisses représente les valeurs des témoins.

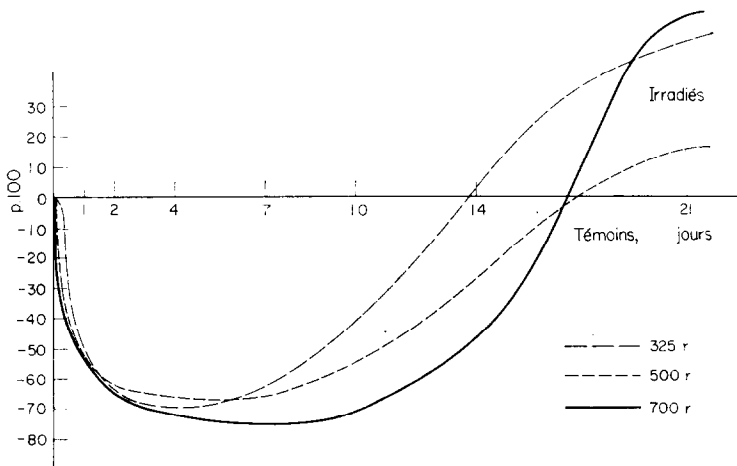


FIG. 2. Actions des diverses doses de Rayons X (325, 500, 700 r) sur l'acide désoxyribonucléique de la rate chez le rat: variations des quantités absolues. Les courbes indiquent la réduction des quantités absolues d'ADN; l'axe des abscisses représente les valeurs des témoins.

Dans une étude préliminaire, nous avons fixé la dose de rayons X qui, en irradiation totale, fournit le plateau d'inhibition de la synthèse des AN le plus durable comme le montrent les graphiques ci-contre (Figs. 1 et 2). C'est la dose de 700 r qui tout en permettant une survie des animaux pratiquement de 100% réalise ce

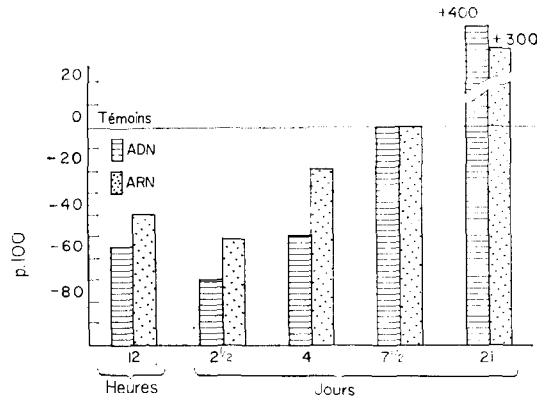


FIG. 3. Variations de l'activité spécifique relative des acides nucléiques de la rate à différents délais après une irradiation corporelle totale de 700 r. La ligne du zéro correspond à l'activité spécifique relative des acides nucléiques des animaux témoins; les colonnes indiquent les valeurs pour les animaux irradiés; l'écart de la ligne horizontale exprime la différence en pour-cent

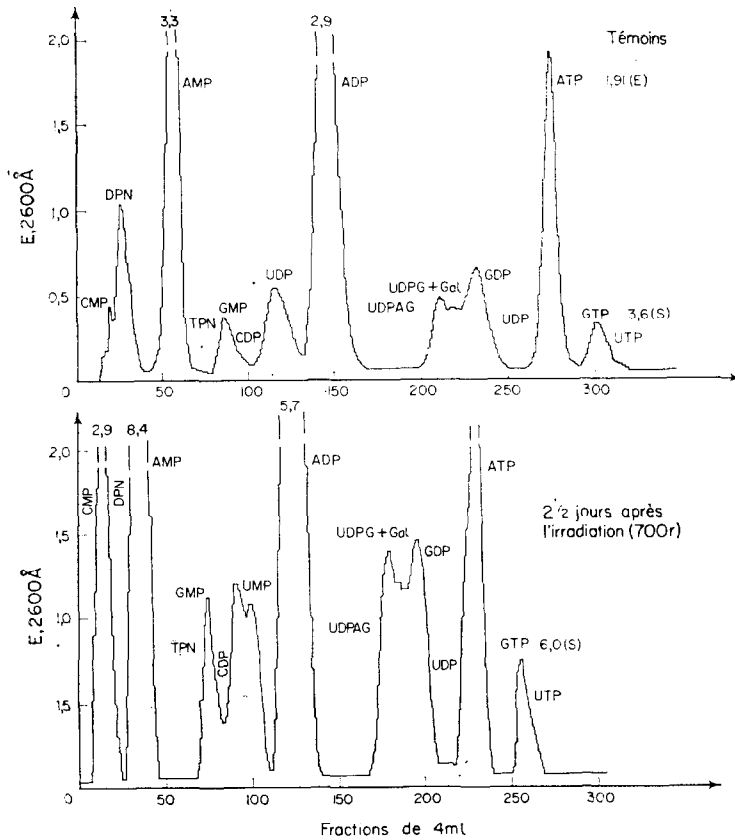


FIG. 4. Nucléotides libres de la rate.

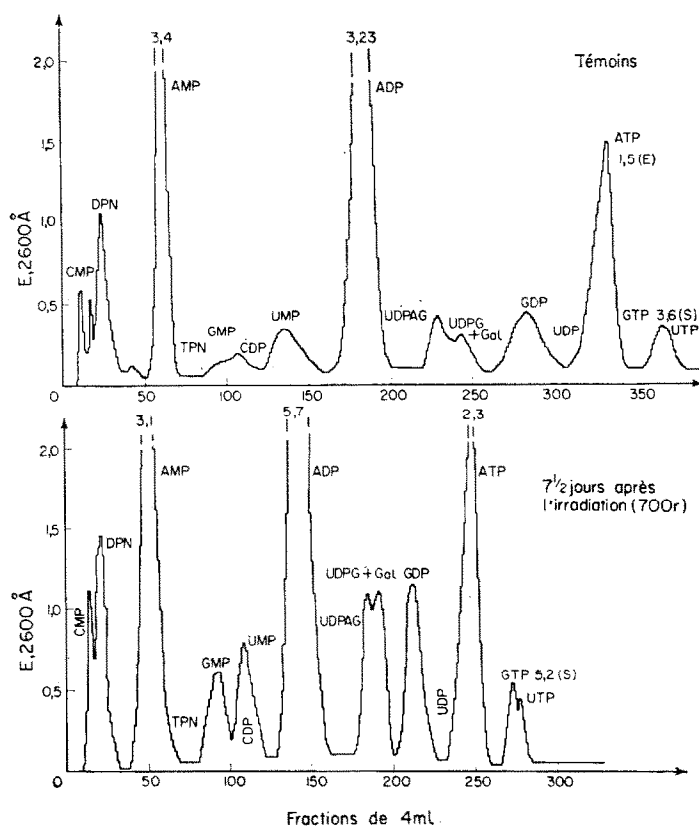


FIG. 5. Nucléotides libres de la rate.

TABLEAU 1. MODIFICATIONS DES QUANTITÉS DES NUCLÉOTIDES LIBRES DE LA RATE À DIFFÉRENTS DÉLAIS APRES UNE IRRADIATION CORPORELLE TOTALE (700r).

	12 heures Ir/T	2½ jours Ir/T	4 jours Ir/T	7½ jours Ir/T	21 jours Ir/T
AMP	1,44	2,42	2,15	1,42	0,50
ADP	1,31	1,90	1,64	1,63	0,80
ATP	1,28	1,57	1,62	1,12	1,58
UMP	2,04	3,80	—	2,30	1,00
UDP	1,17	1,85	1,77	1,47	1,00
UTP	1,22	1,60	—	1,18	1,80
GMP	1,84	3,40	—	2,00	0,80
GDP	1,42	1,87	1,75	1,44	0,67
GTP	1,18	1,60	—	1,18	1,50
CMP	1,32	2,44	—	2,06	0,60
CDP	1,28	—	—	1,00	0,84
UDPG + Gal	1,30	2,32	—	2,00	1,00
UDPAG	1,50	3,04	2,04	2,20	1,00
DPN	1,21	2,38	—	1,15	1,00
TPN	1,29	2,60	—	1,20	1,00

Ir/T = Nucléotides libres de la rate des animaux irradiés/Nucléotides libres de la rate des animaux témoins.

Les quantités de chaque nucléotide ont été exprimées auparavant en  $\mu$ moles par mg de phosphore d'ADN.

plateau d'inhibition. Autrement dit, après la destruction initiale des cellules qui se traduit par une baisse de l'ARN de 50 à 70% et de l'ADN de 60 à 70%, cette baisse se trouve maintenue pendant une période d'observation assez longue par une inhibition de la biosynthèse. Nous avons déterminé pendant cette période la répartition et la quantité de nucléotides libres par chromatographie sur colonne de

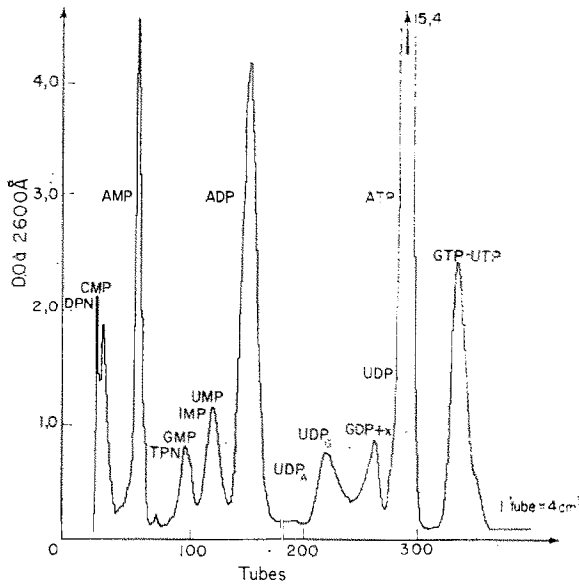


FIG. 6. Nucléotides libres d'un hépatome ascitique.

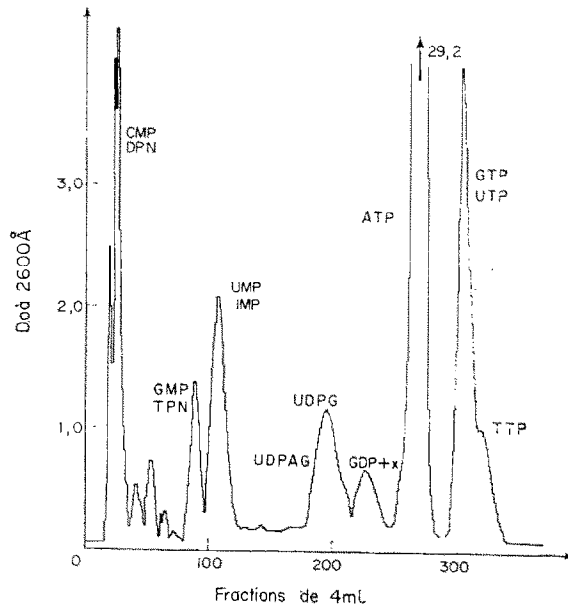


FIG. 7. Nucléotides libres d'un hépatome ascitique 12 hr après irradiation aux rayons X.

Dowex 1  $\times$  8 associée à la chromatographie sur papier selon des techniques exposées ailleurs (CHAMBON et MANDEL, 1959). Douze heures avant le sacrifice des animaux, nous injectons une dose de 50  $\mu$ c de  $^{32}\text{P}$  par 100 g de poids corporel. C'est là un moyen supplémentaire de comparer le rythme de la synthèse des nucléotides par l'étude des activités spécifiques relative à celle du  $\text{PO}_4$  acido-soluble.

Les Figs. 3, 4 et 5 permettent de confronter le *pool* des nucléotides libres à divers délais après l'exposition aux rayons X et le Tableau 1 résume les résultats. Il apparaît d'une façon évidente que pendant une longue période après l'irradiation on trouve des quantités de nucléosides polyphosphates très supérieures chez les animaux irradiés. Cependant l'activité spécifique du  $^{32}\text{P}$  est identique chez les sujets normaux et irradiés.

Les Figs 6 et 7 concernant les nucléotides libres des cellules d'un hépatome ascitique montrent, 12 hr après une irradiation de 700 r, un accroissement net du triphosphate de la thymidine. Nous ne disposons pas de résultats numériques concernant les autres désoxynucléosides triphosphates mais leur accroissement est indiscutable.

#### DISCUSSION

L'accroissement de la quantité de nucléotides, en particulier des nucléosides polyphosphates, alors que le taux des AN reste très abaissé, doit être interprété comme une accumulation des précurseurs qui ne sont pas utilisés. Ainsi les rayons X paraissent agir d'une façon beaucoup plus intense sur le stade de passage de nucléotides triphosphates (NTP) aux AN que sur la synthèse des nucléotides. Autrement dit, la polymérase qui conduit des NTP et dNTP aux AN paraît plus affectée par les rayons X que la biosynthèse des nucléotides.

Le fait que l'accroissement porte sur des nucléosides polyphosphates et qu'il se situe à une période assez éloignée de l'irradiation exclut la possibilité d'un effet de lyse cellulaire. Les nucléotides issus des destructions des AN sous l'effet des rayons X sont des mononucléotides et l'accroissement de ces derniers ne se manifeste pratiquement plus au délai de 24 hr (COLE et ELLIS, 1957).

Des constatations analogues aux nôtres ont été faites par d'autres auteurs dans des circonstances différentes mais un rapprochement quant à leur signification nous semble parfaitement justifié.

BISHOP et DAVIDSON (1957) observent un accroissement de l'ensemble désoxyribosides et désoxyribonucléotides de l'appendice et du thymus de lapin dans les premières heures qui suivent l'irradiation. Si dans ce cas il peut s'agir de produits de lyse, il n'en est pas de même pour les résultats d'ORD et STOCKEN (1958), qui notent une accumulation de désoxyribonucléosides di- et triphosphates et de certains ribonucléosides triphosphates dans le thymus du rat après exposition à 1000 r de rayons X. D'autre part KANAZIR (1954 a et b) et ERRERA (1957) mettent en évidence une accumulation d'acide thymidylique, dGMP, dCMP et UDP, après irradiation de *Escherichia coli* par des ultraviolets dont on connaît le pouvoir mutagène.

Nous inspirant de l'idée très féconde de BRACHET et CASPERSSON découlant de la constatation que les cellules riches en ARN sont également le siège de synthèses

protéiques intenses, nous avons fait le rapprochement entre l'accroissement du *pool* des précurseurs de l'ADN sous l'effet des rayons X et ultraviolets et la fréquence des mutations que provoquent ces agents physiques mutagènes.

Ajoutons que l'accumulation des précurseurs de l'ADN et de l'ARN amène également entre ceux-ci un rapport s'écartant notablement de la normale. Ceci ressort simplement du taux d'augmentation des nucléotides très différent de l'un à l'autre. Or nous pensons que le changement dans la répartition des nucléotides peut mener à des ARN et ADN anormaux, dans la période où la biosynthèse reprend d'une façon explosive après la disparition de l'effet du rayonnement, comme en témoignent les valeurs d'ARN et d'ADN très supérieures à la normale 21 jours après l'irradiation.

Pour l'ARN, la question paraît bien résolue puisqu'avec le système enzymatique découvert par GRUNBERG-MANAGO *et al.* (1955) on obtient des ARN différents suivant les nucléosides polyphosphates présents dans le milieu. Ainsi peut-on obtenir des polymères adényliques uridyliques, adényliques cytidyliques, etc., suivant les cas.

En ce qui concerne l'ADN, les travaux de KORNBERG *et al.* (LEHMAN *et al.*, 1958) tendent à montrer que la constitution de l'ADN reste similaire à celle du *primer* même si l'on fait varier les taux respectifs des précurseurs. Nous croyons toutefois qu'il est difficile avec les méthodes actuelles de dosages d'affirmer que la replication reste rigoureuse malgré le changement dans le *pool* des précurseurs. On trouve en effet des différences entre l'ADN du *primer* et l'ADN "repliqué" du même ordre que celles que l'on peut trouver entre deux mutants sans que l'on puisse dire s'il s'agit ou non d'une erreur de dosage. D'autre part KORNBERG signale la production d'un polymère anormal en l'absence d'ADN et même peut-être en présence d'ADN.

La perturbation des structures cellulaires à la suite des irradiations peut réaliser une absence d'ADN dans un site cellulaire alors que les dNTP sont présents et permettre la production de polymères anormaux.

Or ce polymère anormal peut se reproduire quand l'activité enzymatique reprend. De plus KORNBERG *et al.* (KORNBERG, 1959; ADLER *et al.*, 1958) signalent la possibilité de fixation de désoxynucléotides en bout de chaîne et l'incorporation dans l'ADN synthétisé d'UTP et d'ITP à la place de TTP et de GTP respectivement. Enfin une expérience biologique nous paraît très significative dans l'optique de l'hypothèse que nous avançons. COUGHLIN et ADELBERG (1956) avaient constaté avec le mutant *E. coli* 15 T<sup>-</sup> H<sup>-</sup> N<sup>s</sup> qu'il donne lieu à des nombreux mutants quand il est transporté en phase de croissance exponentielle d'un milieu contenant de la thymine sur un milieu sans thymine. Dans ce cas, il faut bien convenir que la carence en un précurseur est à l'origine de l'apparition des mutants.

Mais dans l'analyse des causes de mutations après irradiation par les rayons X ou ultra violets, on ne peut tenir compte uniquement des précurseurs immédiats de l'ADN, les dNTP. Il faut également faire intervenir l'accumulation des précurseurs de l'ARN dont la conséquence peut se manifester de deux manières, soit par une production d'ARN anormaux qui influence la formation des enzymes intervenant dans la biosynthèse de l'ADN, soit par les conversions des ribonucléotides et ribonucléosides en composés désoxy, soit par le remplacement partiel du TTP par



de l'UTP et du GTP par de l'ITP (KORNBERG, 1959). On pourrait ainsi schématiser les possibilités de production des mutations (Fig. 9) en envisageant une voie de lésion directe de l'ADN (voie 1) et une autre voie par trouble de la synthèse d'ADN provenant soit de l'altération de l'enzyme soit surtout d'un rapport anormal entre les précurseurs. Dans ce cas interviennent en raison des inter-conversions les rapports anormaux entre les divers NTP et dNTP.

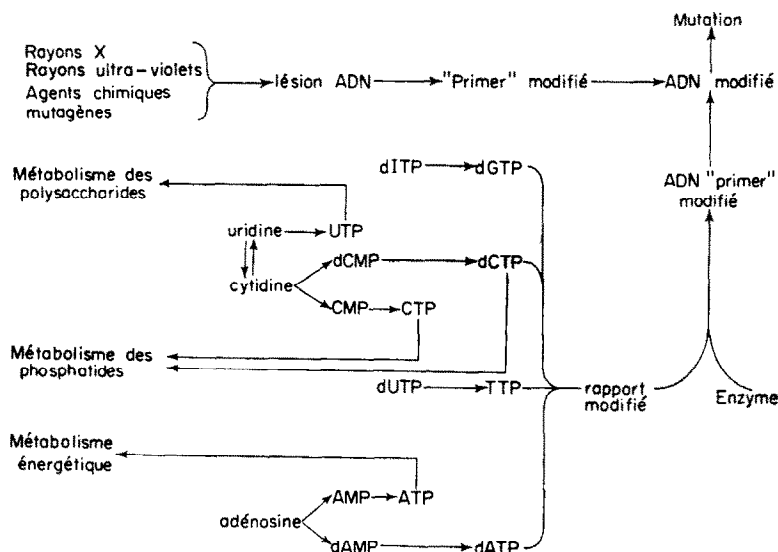


FIG. 9

Les expériences effectuées *in vivo* par DOUDNEY et HAAS (1958) paraissent apporter une confirmation quant au rôle des précurseurs des AN dans le déterminisme de la fréquence des mutations. En effet en enrichissant le milieu de culture en bases puriques et pyrimidiques avant l'exposition aux ultraviolets, on augmente le nombre de mutations. Il est infiniment vraisemblable que l'apport supplémentaire de bases puriques et pyrimidiques doit son efficacité à l'enrichissement du *pool* des précurseurs d'ADN et d'ARN. A cet égard il est intéressant de noter que l'incubation dans un milieu sans glucose après l'irradiation réduit considérablement le taux des mutations. Ceci peut s'expliquer par une baisse des phosphorylations oxydatives et des liaisons riches en énergie qui produisent le NTP et dNTP.

Ajoutons encore que DOUDNEY et HAAS (1958) comme WILKINS (1956) ont observé que le blocage de la synthèse des protéines réduit également le taux des mutations intervenant sans doute au stade de la biosynthèse des protéines, enzymes nécessaires pour la synthèse de l'ADN. Ceci est également en accord avec le schéma que nous avons tracé, le trouble de la biosynthèse des ADN pouvant se situer soit au niveau des précurseurs, soit au niveau de l'enzyme.

Les considérations que nous venons d'exposer ont l'avantage d'ouvrir la voie vers une hypothèse que nous pensons vérifiable, concernant un mécanisme biochimique des mutations spontanées. On peut en effet concevoir que l'activation intense de certains métabolismes sous l'influence du milieu ou de divers facteurs

peut entraîner un appel de NTP ou même de dNTP créant un déséquilibre parmi les précurseurs de l'ARN et de l'ADN qui sont liés entre eux par de multiples réactions enzymatiques permettant de passer d'un nucléotide à un autre. Ainsi l'activation de la synthèse de polysaccharides peut retirer du milieu de l'UTP en quantité plus ou moins considérable, celle des phosphatides du CTP et du dCTP. Enfin les troubles du métabolisme énergétique sont susceptibles de modifier la

TABLEAU 2. PARALLÉLISME ENTRE LES VARIATIONS DU POOL DE dNTP ET NTP ET LES MUTATIONS

	Variations des nucléosides triphosphates		Enzyme	Mutation
	certaine	très probable		
Rayons X	++			---
Rayons ultraviolets (U.V.)	++			---
U.V. + purines et pyrimidines*		---		---
U.V. + riboside*		---		---
U.V. - glucose*		---		---
U.V. - acides aminés*			---	---
<i>E. coli</i> T <sup>+</sup> †	++			---
Bactériophage‡	---			---

\* DOUDNEY et HAAS (1958).

† COUGHLIN et ADELBERG (1956).

‡ HERSHEY *et al.* (1952-1953).

répartition des précurseurs par une carence dans la production de nucléosides polyphosphates. Il est évident que le déséquilibre doit sans doute être considérable et l'ADN produit pas trop éloigné de la normale sinon on serait en présence d'une mutation létale. C'est dire que l'on peut prévoir la rareté de mutations spontanées ce qui est bien le cas.

Notons enfin que dans une cellule la présence d'un virus avec son *pool* de précurseurs peut également influencer au terme de notre hypothèse la constitution d'ADN de la cellule hôte ce qui paraît bien en accord avec la constatation de HERSHEY *et al.* (1952-1953). Ce qui vient d'être exposé ne représente qu'une hypothèse fondée d'une part sur le parallélisme entre le déséquilibre dans la répartition des précurseurs des AN sous l'effet d'agents physiques et la fréquence des mutations, d'autre part sur la connaissance des activités enzymatiques intervenant dans la biosynthèse des nucléotides et AN. Nous nous employons évidemment à étayer cette hypothèse avec des expériences en cours.

## RÉSUMÉ

On constate que le blocage de la biosynthèse des AN de la rate et des cellules d'un hépatome ascitique sous l'effet des rayons X entraîne un accroissement de nucléosides et désoxynucléosides triphosphates, alors que la synthèse des nucléotides paraît proche de la normale. Ceci semble montrer que l'inhibition se porte plus sur la polymérase qui produit l'AN à partir des précurseurs que sur la production de précurseurs eux-mêmes.

D'autre part, compte tenu des constatations relevées dans la littérature, il s'avère que chez les bactéries, sous l'effet des rayons ultraviolets dont on connaît l'effet mutagène, il apparaît également un accroissement des nucléosides polyphosphates et que l'enrichissement du milieu avant l'irradiation par des bases puriques et pyrimidiques favorise les mutations. Il ressort ainsi qu'il existe un parallélisme entre l'action des rayonnements X et ultraviolets dont on connaît le pouvoir mutagène et l'enrichissement du milieu en NTP et dNTP sous l'effet des rayonnements. Cet enrichissement portant à des degrés divers sur les différents nucléotides crée un rapport anormal entre les précurseurs des AN. A la lumière de nos connaissances actuelles ceci peut expliquer la production d'un ARN anormal. Est-il possible qu'il se produise dans ces conditions également un ADN modifié qui deviendrait le *primer* de replication d'ADN modifié et par conséquent d'une mutation? Ce problème est discuté à la lumière des travaux de KORNBERG *in vitro* et des constatations faites *in vivo*. L'éventualité qu'un déséquilibre entre les précurseurs directs puisse provoquer dans des conditions particulières la formation d'un ADN modifié paraît pouvoir être retenue et sera soumise au contrôle expérimental. L'intérêt de l'hypothèse formulée réside aussi dans le fait qu'elle est susceptible d'expliquer la production de mutations spontanées sous l'effet de perturbations métaboliques. Celles-ci retirant un nombre plus ou moins considérable de nucléotides du *pool* commun peuvent entraîner un rapport anormal entre précurseurs et la synthèse d'un ADN anormal. Une telle hypothèse est également susceptible d'expliquer les modifications de l'ADN des cellules hôtes sous l'effet du *pool* de précurseur du virus qui l'infecte.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADLER J., BESSMAN M. J., LEHMAN I. R., SCHACHMAN H. K., SIMMS E. S. et KORNBERG A. (1958) *Fed. Proc.* **17**, 178.
- ALEXANDER P., LETT J. T., MOROSON H. and STACEY K. A. (1960) Dans "Immediate and low level effects of ionising radiations" *Proceeding. of the Fifth Symposium on Radiobiology, Venice, 1959* publié par A. A. BUZZATTI-TRAVERSO, p. 47. Taylor and Francis Ltd. Londres.
- BESSMAN M. J., LEHMAN I. R., SIMMS E. J. et KORNBERG A. (1957) *Fed. Proc.* **16**, 663.
- BESSMAN M. J., LEHMAN I. R., SIMMS E. J. et KORNBERG A. (1958) *J. Biol. Chem.* **233**, 171.
- BISHOP C. W. et DAVIDSON J. N. (1957) *Brit. J. Radiol. (N.S.)* **30**, 367.
- CHAMBON P. et MANDEL P. (1959) *Bull. Soc. Chim. Biol.* **41**, 715.
- COLE L. J. et ELLIS M. E. (1957) *Rad. Res.* **7**, 508.
- COUGHLIN C. A. et ADELBURG E. A. (1956) *Nature, Lond.* **178**, 531.
- DOUDNEY C. O. et HAAS F. L. (1958) *Proc. Nat. Acad. Sci., Wash.* **44**, 390.
- ERRERA M. (1957) *Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung* (Publié par HEILBRUNN L. V. et WEBER F.) Vol. X, p. 3. Julius Springer, Vienne.
- GRUNBERG-MANAGO M., ORTIZ P. J. et OCHOA S. (1955) *Science* **122**, 907.
- HERSHEY A. D., DIXON J. et CHASE M. (1952-1953) *J. Gen. Physiol.* **36**, 777.
- KANAZIR D. (1954a) *Biochim. Biophys. Acta* **13**, 589.
- KANAZIR D. (1954b) *Biochim. Biophys. Acta* **15**, 592.
- KORNBERG A. (1957a) *Advanc. Enzymol.* **18**, 191.
- KORNBERG, A. (1957b) Dans *The Chemical Basis of Heredity* (Publié par McELROY W. D. and GLASS B.) p. 579. Johns Hopkins, Baltimore.
- KORNBERG A. (1959) Dans *Harvey Lectures 1957-1958* p. 82. Academic Press, New York.
- LEHMAN I. R., ZIMMERMAN S. B., ADLER J., BESSMAN M. J., SIMMS E. S. et KORNBERG A. (1958) *Proc. Nat. Acad. Sci., Wash.* **44**, 1191.

- MANDEL P. et CHAMBON P. (1959a) *Cinquième Symposium International de Radiobiologie, Venise*. Pergamon Press, London.
- MANDEL P. et CHAMBON P. (1960) Dans "Immediate and low level effects of ionising radiations" *Proceedings of the Fifth Symposium on Radiobiology, Venice, 1959* publié par A. A. BUZZATTI-TRAVERSO, p. 71. Taylor and Francis Ltd, Londres.
- ORD M. G. et STOCKEN L. A. (1958) *Biochim. Biophys. Acta*, **29**, 201.
- WILKINS E. M. (1956) *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* **21**, 123.

#### ADDENDUM

Il nous semble utile d'ajouter à l'exposé ci-dessus quelques données qui paraissent en faveur de notre hypothèse sur le mécanisme métabolique des mutations. J. HURWITZ (1959, *J. Biol. Chem.*, **234**, 2351) a pu isoler un enzyme de *Escherichia coli* permettant d'incorporer le ribonucléotide de la cytidine dans une molécule d'ADN à condition que la quantité de CTP qui se trouve dans le milieu réactionnel soit très supérieure à celle de dCTP. Il en ressort donc que la composition du milieu réactionnel peut conduire à une modification de la constitution de l'ADN. D'autre part, A. L. KOCH (1956, *J. Biol. Chem.* **219**, 181) et A. L. KOCH et W. A. LAMONT (1956, *J. Biol. Chem.* **219**, 189) ont montré que les méthylpurines, telles caféine, théobromine, théophylline, qui ont une action mutagène, ne sont pas incorporées dans l'ADN, mais provoquent une inhibition des nucléosides phosphorylases du ribose et du désoxyribose. Ce phénomène influence évidemment le *pool* des précurseurs établissant une nouvelle relation entre la production des mutations et le *pool* des nucléotides acido-solubles. Ajoutons que selon E. A. GLASS et A. NOVICK (1959, *J. Bacteriol.* **77**, 10) chez *E. coli* la mutagenicité causée par la caféine peut être supprimée par addition d'adénosine.

Enfin A. NOVICK et L. SZILARD (1950, *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.* **36**, 708) ont trouvé qu'en employant la chemostat avec une dose limite de lactate, le taux des mutations spontanées d'un mutant de *E. coli* diminue. Dans ce cas apparaît également l'influence du métabolisme du lactate nécessitant la participation de nucléotides libres, sur le phénomène de mutation.

#### DISCUSSION

A. LOVELESS: The main objection which I have to Dr. MANDEL's theory is the pragmatic one that it is impossible to test. I can think of only one system where it is possible to introduce a primer after radiation of the enzymic mechanism that is the one provided by phage infection. However, I am unaware of any evidence that phage, grown in cells previously X- or u.v.-irradiated or treated with mutagenic chemical agents, shows any increased tendency to mutate.

R. VERCAUTEREN: Si on laisse de côté la question du *primer* le schéma convient également à l'explication des fluctuations de la teneur en ADN en fonction du métabolisme cellulaire.

P. MANDEL: Je pense également que les variations de l'"ADN métabolique" qui serait celui qui varie avec le métabolisme cellulaire, se font selon le mécanisme que j'ai indiqué: appel du métabolisme à certaines nucléosides triphosphates des désoxynucléosides triphosphates.