

## DÉFICIENCES DE L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE ET MÉTABOLISME CELLULAIRE

M. ERRERA et J. BRACHET

Laboratoire de Morphologie animale, Université Libre de Bruxelles

**Abstract**—THE present paper attempts to compare in different types of organisms how DNA deficiency (obtained by deprivation of an essential precursor, by irradiation or intoxication, or by total enucleation) can affect various cellular processes.

*Energy-producing mechanisms.* (a) Oxidative phosphorylations: mitochondria appear to act independently of the cell nucleus because neither u.v. irradiation (in bacteria), intoxication by nitrogen mustards in embryos or total enucleation in amoebae inhibit the formation of ATP even after long periods of time. One must, however, remember that a genetical control does exist, as demonstrated in yeasts by EPHRUSSI (1953). The role of DNA in nuclear phosphorylations (MIRSKY *et al.*, 1956) remains very puzzling, because DNA can be replaced by several unspecific polyelectrolytes. (b) Anaerobic phosphorylations, however seem to be much more dependent on nuclear function in the same types of cells; in anucleate amoebae, glycogenolysis is also inhibited. The role of the nucleus in these processes has, however, not been clarified; but, as certain stages of coenzyme I (DPN) synthesis take place in the nucleus, this synthesis might be closely correlated to DNA integrity.

*Ribonucleic acid and protein synthesis.* It is known that the nucleolus is an important site of RNA metabolism and probably synthesis, and RNA could be formed in the nucleolar organizer or in the puffs one observes in certain bands of the chromosomes of larvae of diptera, where FICQ and PAVAN (1957) have shown an important RNA and protein metabolism besides active DNA synthesis. In the case of amoebae, the experiments of GOLDSTEIN and PLAUT have demonstrated a migration of nuclear RNA into the cytoplasm; but, the fact that non-nucleated cytoplasm is still capable of incorporating low molecular precursors into RNA, despite a rapid loss of total RNA, demonstrates that cytoplasmic RNA is capable of being metabolized in the absence of a nucleus; and, in non-nucleated acetabularia, a net synthesis has even been observed under certain conditions. One is therefore led to postulate a certain degree of independency of cytoplasmic RNA metabolism, although the nucleus seems to control the maintenance of cytoplasmic RNA. Similar observations on protein synthesis have been made in acetabularia where important increases of total protein and of certain enzymes have been observed during growth of the non-nucleated half. The non-nucleated halves are even still capable of cellular differentiation, but this is only possible for a certain time because, if they are kept in the dark for 2 or 3 weeks after enucleation, they lose their capacity of forming their differentiated cap.

In micro-organisms, DNA can be destroyed by X-irradiation, but there is no immediate loss of the capacity to form induced enzymes; this has been clearly demonstrated by CHANTRENNE and DEVREUX (1958). Embryos containing abnormal DNA are capable of cleaving apparently normally and of incorporating high amounts of amino acids into their proteins, but they become incapable of differentiation.

One is led to postulate a certain independency from the nucleus of RNA and protein synthesis and, in certain extreme cases, one has suggested that this independency might be total as in cytoplasmic heredity.

The complicated pathway by which genetic information proceeds before becoming expressed in the cytoplasm by the synthesis of specific constituents explains that the deficiency in DNA does not immediately stop specific protein synthesis; but, if DNA has been affected for some time (as in the case of the embryos containing abnormal DNA or acetabularia which has been kept in the dark), differentiation will no more be possible.

*Mitotic processes.* In micro-organisms, a deficiency of DNA-forming precursors arrests both nuclear and cytoplasmic divisions; but cell division can also be inhibited in conditions where DNA synthesis appears to proceed normally, as in many irradiation experiments; and one knows of several instances of cytoplasmic cleavage in enucleated embryos. One is therefore led to conclude that cell constituents other than DNA also play an important part in controlling mitotic processes.

L'UN des moyens expérimentaux dont on dispose pour tenter de débrouiller le mécanisme par lequel s'exprime, dans une cellule, l'information génétique portée par son acide désoxyribonucléique (ADN), est d'étudier celle-ci dans les conditions où l'on peut supposer que cet ADN a été altéré, ou même totalement supprimé. Nous nous proposons donc de rechercher de quelle manière une telle déficience de l'ADN (provoquée par l'irradiation, les antimétabolites, la carence d'un précurseur essentiel ou l'énucléation) peut affecter les diverses activités cellulaires: métabolisme énergétique, synthèses d'acide ribonucléique (ARN) et de protéines, processus de mitoses et de différenciation.

### CARENES MÉTABOLIQUES

L'utilisation de souches bactériennes auxotrophes pour un précurseur spécifique de l'ADN (thymine, thymidine) a permis d'étudier les conséquences d'un arrêt sélectif de la synthèse de l'ADN.

JEENER et JEENER (1952) et COHEN (1957), BARNER et COHEN (1954), ont montré qu'une telle carence n'entraîne nullement l'arrêt de la synthèse de l'ARN, ni des protéines chez *Thermobacterium acidophilum* ou *Escherichia coli* 15T<sup>-</sup>: au contraire, ces bactéries s'allongent démesurément et la synthèse de l'ARN et des protéines est à peine ralentie (environ 80% de la normale). Toutefois, la cytodivision s'arrête (d'où allongement) et cet arrêt semble même précéder l'arrêt des divisions nucléaires.

Toutefois, les cellules ainsi traitées se comportent normalement à bien des points de vue: elles continuent à pouvoir synthétiser des protéines nouvelles quand on induit leur synthèse par l'addition au milieu de culture déficient en thymine, des métabolites nouveaux comme le xylose, le galactose, le nitrate: ils induisent respectivement la formation d'une isomérase, d'une  $\beta$ -galactosidase, d'une réductase qui leur permet d'utiliser le substrat nouveau. Ces bactéries déficientes peuvent s'infecter et du bactériophage peut s'y multiplier en dépit de l'absence de thymine: le virus apporte peut-être à la bactérie le gène nécessaire, comme c'est le cas dans un simple phénomène de transformation; et la vitesse normale de multiplication du virus indique que d'autre part de nombreuses fonctions bactériennes sont restées intactes.

Cependant, le déséquilibre de croissance des divers constituants cellulaires imposé par la carence en thymine finit par être fatal aux bactéries qui perdent progressivement et irréversiblement le pouvoir de se multiplier, même si on les

étale sur un milieu non carencé. C'est bien le déséquilibre de croissance qui est en cause car si on choisit une souche bactérienne déficiente pour un acide aminé en plus de la thymine, la mortalité est considérablement diminuée et n'apparaît que si on fournit l'acide aminé. COHEN a d'ailleurs observé que ce ne sont pas seulement les synthèses protéiques qui s'arrêtent pendant la carence en acide aminé, mais aussi celle de l'ARN.

Notons pour finir qu'une autre conséquence de la carence en thymine est l'augmentation du taux des mutations. KANAZIR notamment, a observé dans le cas de bactéries déficientes, non seulement en ce qui concerne la thymine, mais également dépendantes de la présence d'arginine ou d'uracile (ou des deux,) que le nombre de bactéries sujettes aux mutations réverses (vers l'indépendance vis-à-vis de l'uracile ou de l'arginine ou des deux) augmente considérablement. La carence en thymine provoquerait une certaine instabilité de l'ADN (bien que celui-ci ait conservé son poids moléculaire comme le montrent des expériences d'ultracentrifugation). Cependant d'autres hypothèses que celles de mutations n'ont pas été formellement éliminées (BARNER *et al.*, 1958, KANAZIR, 1959).

#### AGENTS ANTIMITOTIQUES

Parmi ces agents, les rayons X et u.v., les moutardes à l'azote, ont été abondamment utilisés dans de très nombreuses expériences intéressant une grande variété d'espèces cellulaires: on a constaté un blocage assez sélectif du métabolisme de l'ADN. Ce blocage n'est d'ailleurs pas définitif quand la dose est modérée et quand dans l'organisme considéré la synthèse de l'ADN se fait pendant une période limitée du cycle cellulaire; l'irradiation avant cette période est la plus efficace. On constate dans toutes ces expériences effectuées sur des bactéries (KERNER, 1953; KANAZIR et ERRERA, 1956), sur des cellules d'ascite (FORSSBERG et KLEIN, 1954; CASPERSSON *et al.*, 1958), sur des myéloblastes (LAJTHA, 1958), sur des pointes de racines (HOWARD et PELC, 1953), que la synthèse de l'ADN a été bloquée; mais si on observe d'autre part les conséquences sur le métabolisme, il apparaît que les synthèses de l'ARN et des protéines sont à peine ralenties et que la masse cellulaire augmente et reste susceptible à l'infection (bactériophage, virus), mais que la cytodierèse—comme dans le cas des bactéries déficientes—est bloquée ou retardée.

L'augmentation de la masse cellulaire indique vraisemblablement que les sources d'énergie sont intactes. Dans le cas des *E. coli* irradiés aux u.v., il en est bien ainsi en aérobiose où l'on trouve même un excès d'ATP (adénosine triphosphate) par rapport aux témoins. En anaérobiose par contre, on observe une déficience en ATP au moment où s'effectuera la reprise de la synthèse de l'ADN (KANAZIR et ERRERA, 1956).

La dissociation entre le métabolisme de l'ADN et de l'ARN n'est malheureusement pas aussi nette qu'on le voudrait et dans certains cas on peut noter également un certain ralentissement dans le métabolisme de l'ARN comme celui que l'on observe chez *E. coli* irradié à l'u.v. et qui s'accompagne peut-être d'une dissociation de certains ribonucléoprotéides (DRAKULIC, 1959). Quoi qu'il en soit, la synthèse de protéines spécifiques reste possible et après irradiation X elle ne paraît même

pas diminuée bien qu'elle puisse subir un certain retard; les rayons u.v. auxquels les ribonucléoprotéides cytoplasmiques sont probablement plus sensibles, sont moins aptes à dissocier de manière absolue les effets sur l'ADN et sur les synthèses de protéines spécifiques aussi nous bornerons-nous à discuter ce qui a été obtenu à l'aide des premiers types de rayons.

Des doses de rayons X ne laissant se multiplier qu'un individu sur mille ou dix mille et qui bloquent totalement la synthèse de l'ADN n'entraînent pas l'arrêt des synthèses induites par des substrats nouveaux: maltose, galactose (BARON *et al.*, 1953; BRANDT et FREEMAN, 1951) qui induisent une maltosidase et une galactosidase, oxygène qui induit l'apparition de catalase (CHANTRENNE et DEVREUX, 1958). Ce dernier cas a été particulièrement bien étudié: des levures du type mutant "petites colonies" cultivées préalablement en anaérobiose se mettent à synthétiser très rapidement de la catalase quand brusquement on leur fournit de l'oxygène et ceci même quand la synthèse de l'ADN est bloquée par  $10^5$  r de rayons X et que l'ADN a été altéré au point de devenir susceptible à l'hydrolyse alcaline ménagée: la synthèse de catalase est même souvent supérieure à ce qu'elle est pour les témoins non irradiés. Si les levures sont, au cours de l'expérience, cultivées en présence d'un précurseur commun à l'ADN et à l'ARN, on constate que son incorporation dans l'ADN est fortement diminuée et n'augmente en tout cas pas si la culture est aérée, mais que par contre son incorporation dans l'ARN est considérablement augmentée, ce qui montre un comportement comparable à ce que l'on observe pour la synthèse de l'enzyme (Tableau 1).

TABLEAU 1. ACTIVITÉ\* PAR RAPPORT AU TÉMOIN ANAÉROBIQUE NON IRRADIÉ (COL. 2) (EN %) D'APRÈS CHANTRENNE ET DEVREUX (1958)

	Non irradiée		Irradiés ( $2 \times 10^5$ r)	
	Non aéré	Aéré	Non aéré	Aéré
Catalase	100	200-400	125-280	195-550
ARN†				
ac. uridilique	100	114-300	145-145	175-400
ac. cytidilique	100	138-340	134-185	175-375
ADN†				
thymine	100	150-320-350	28-40-190	40-90-200

\* Les chiffres représentent les résultats de deux expériences extrêmes.

† Incorporation d'uracile-2- $^{14}$ C.

De ces expériences et de celles citées précédemment on peut tirer les conclusions suivantes:

(1) L'arrêt total de la synthèse de l'ADN n'entraîne pas l'arrêt des synthèses de l'ARN, ni de celle de protéines même spécifiques, bien que dans certains cas il y ait une légère inhibition. Il est vraisemblable que, dans ces cellules, l'information génétique indispensable a déjà été transmise au moment de l'irradiation, de l'ADN à d'autres constituants cellulaires. La synthèse induite d'enzyme dépend probablement d'organites cytoplasmiques dont les activités sont régies par des gènes nucléaires.

(2) L'arrêt de la synthèse de l'ADN entraîne un arrêt de la division du noyau cellulaire ainsi que de la cytotélière. Cette dernière n'est cependant pas uniquement sous contrôle nucléaire car des faibles doses d'u.v. n'arrêtant pas la synthèse de l'ADN peuvent néanmoins provoquer l'allongement des bactéries.

#### DÉVELOPPEMENT DE CELLULES EMBRYONNAIRES

Conséquences de l'altération des gamètes: l'irradiation ou l'application de divers toxiques à des gamètes a permis d'étudier le devenir d'embryons provenant par exemple de la conjugaison d'un gamète anormal avec un gamète normal. Qu'il s'agisse d'irradiation X ou u.v. ou d'intoxication à l'aide de poisons antimitotiques (moutardes à l'azote par exemple), ce traitement n'entrave pas la fécondation, mais provoque un certain retard dans la formation du premier sillon de segmentation, le rythme de formation des sillons suivants redevient normal et la segmentation se poursuit. Pour des doses suffisantes, la chromatine irradiée est complètement inactivée et elle s'élimine après la fécondation, et chez les espèces favorables, l'embryon pourra se différencier en une larve haploïde, comme s'il y avait eu induction parthénogénétique. Mais pour des doses moindres, le développement embryonnaire s'arrête invariablement au moment de la différenciation (HERTWIG, 1911; DALCQ et SIMON, 1932): la chromatine irradiée fusionne plus ou moins complètement avec la chromatine du gamète normal, ce qui détermine néanmoins un noyau diploïde aberrant, qui pourra se diviser plus ou moins régulièrement pendant toute la segmentation; cependant, les embryons dépassent rarement le stade blastula. Ce comportement offre de grandes analogies avec ce qui se passe dans le cas d'hybrides létaux obtenus, entre diverses espèces, chez les échinodermes ou les amphibiens (BRACHET, 1954a) et dans le cas d'oeufs fécondés par des spermatozoïdes intoxiqués aux moutardes à l'azote, où la formation d'un zygote diploïde est de règle.

Les causes de l'arrêt du développement ne sont pas claires, mais il semble peu probable qu'il soit dû spécifiquement à l'arrêt des mitoses qui se sont poursuivies pendant toute la segmentation. La segmentation peut d'ailleurs s'effectuer en l'absence complète de noyau, comme le démontrent une série d'observations sur les oeufs énucléés d'échinodermes ou d'amphibiens (BRACHET, 1957): l'analyse cytologique montre alors que les asters continuent à se diviser en l'absence de chromosomes et même de fuseau. On obtient dans les cas les plus favorables des blastulas sans noyau; mais la différenciation est impossible, ce qui prouve une fois de plus qu'elle dépend directement de l'intégrité nucléaire. L'analyse biochimique de ces blastulas bloquées nous permettra peut-être de découvrir les éléments dont dépend la morphogénèse. Il n'est évidemment pas possible de comparer de manière rigoureuse les résultats d'observations faites dans des conditions tellement différentes. Cependant, certains traits généraux méritent d'être soulignés.

#### *Métabolisme énergétique*

Il existe peu de renseignements sur le métabolisme d'embryons provenant de la fécondation d'un gamète normal par un gamète anormal (homo- ou hétérologue, irradié, intoxiqué). Dans le cas des hybrides, les résultats sont très variables et les cas où l'on observe une inhibition de la respiration ne peuvent être généralisés.

Excepté dans les embryons de grenouilles obtenus en fécondant des oeufs normaux par des spermatozoïdes intoxiqués aux moutardes à l'azote (BRACHET, 1954b), on ne connaît pas grand chose aux réserves d'ATP. Dans le cas des embryons létaux, la teneur en ATP reste normale en aérobiose et est même souvent supérieure chez les blastulas bloquées comparées aux neurulas témoins du même âge: de toute évidence, l'utilisation d'ATP est freinée dans ces cas. En anaérobiose par contre, la teneur en ATP des hybrides diminue nettement plus rapidement que chez les embryons témoins (BARTH et JAEGER, 1947; BRACHET, 1954b) ce qui signifie peut-être que les mécanismes de la glycolyse, qui fournissent la majeure partie de l'ATP en l'absence d'oxygène, sont inhibés. Ceci concorde avec les observations de GREGG (1948) et avec celles de JAEGER (1945) qui avaient observé déjà une diminution de la glycogénolyse dans des conditions analogues.

#### *Métabolisme des acides nucléiques et des protéines*

La plupart des résultats viennent d'observations chez les hybrides létaux de grenouille (BRACHET, 1954b) chez lesquels furent faites des observations cytochimiques simultanément avec des mesures quantitatives. Chez ces embryons, de même que chez ceux obtenus à l'aide de spermatozoïdes intoxiqués aux moutardes à l'azote, la synthèse de l'ADN est fortement ralentie, ce qui ne s'était pas observé quand les spermatozoïdes avaient été irradiés aux u.v., du fait que dans ce cas on obtient, aux doses utilisées, des embryons haploïdes mais possédant environ deux fois plus de cellules que les témoins.

En ce qui concerne l'ARN, on a observé qu'au moment où le développement se bloque, les hybrides *Rana esculenta* ♀ × *Rana fusca* ♂ ont la même teneur en ARN que les témoins; mais alors que l'ARN continue à croître chez ceux-ci, sa synthèse s'arrête chez les létaux en même temps que s'arrête la morphogénèse (STEINERT, 1951). Mais toute activité de cet ARN ne cesse pas pour autant, puisque des blastulas bloquées ont cependant incorporé une quantité plus que normale de <sup>32</sup>P dans leur ARN: la radioactivité spécifique de cet acide est double par rapport à celle de l'ARN des témoins du même âge, où la quantité d'ARN a presque doublé pendant cette même période de différenciation. Ces résultats concordent d'ailleurs avec ceux de BODENSTEIN et KONDRITZER (1948) sur des embryons obtenus à l'aide de spermatozoïdes intoxiqués.

En ce qui concerne la synthèse des protéines, celle-ci a été étudiée en suivant l'incorporation de glycocholate-1-<sup>14</sup>C dans les groupes carboxyles des protéines: ici encore, l'incorporation est beaucoup plus considérable chez les hybrides que dans les embryons normaux mis en présence de l'acide aminé radioactif au stade blastula (Tableau 2). Toutefois, ce métabolisme intense de l'ARN et des protéines des "hybrides" est anormal puisque la morphogénèse ne se fait pas et qu'il ne s'agit vraisemblablement pas de synthèses nettes de l'ARN et des protéines: l'apparition des protéines spécifiques qui sont l'essence même de la différenciation ne se fait plus parce que le traitement initial à l'ypérite a vraisemblablement bloqué le transfert de l'information génétique des noyaux au cytoplasme, soit en altérant déjà l'ADN des spermatozoïdes, soit en interférant avec sa synthèse, ou en empêchant le transfert de l'information du noyau au cytoplasme. Le choix entre ces éventualités n'est actuellement pas possible, mais il est remarquable de constater que le développement va

rarement plus loin que le stade où KING et BRIGGS (1956) ont montré que s'opère la différenciation nucléaire dont la nature reste à préciser.

L'observation de coupes d'embryons d'hybrides létaux (*Rana esculenta* ♀ × *Rana fusca* ♂) colorées au Feulgen ou au vert de méthyle-pyronine a montré qu'au moment où la différenciation devrait s'amorcer apparaissent une série d'anomalies mitotiques (cinèses tricentriques par exemple) et une grande disparité dans l'aspect des noyaux dont certains deviennent excessivement riches en ARN—tant en ce qui concerne leur suc nucléaire que leur nucléole—tandis que d'autres noyaux sans nucléoles paraissent plus riches en ADN. Les coupes d'hybrides *Bufo vulgaris* ♀ × *Rana fusca* ♂ et celles d'embryons obtenus à l'aide de spermatozoïdes intoxiqués aux moutardes à l'azote sont très semblables.

TABLEAU 2. COMPARAISON DU MÉTABOLISME DES EMBRYONS LÉTAUX PAR RAPPORT AUX EMBRYONS NORMAUX DU MÊME ÂGE\*

	Blastula 1er jour	Gastrula 2ème jour	Neurula 3ème jour	Stade atteint par l'embryon
Consommation d'oxygène				
<i>R. esculenta</i> ♀ × <i>R. fusca</i> ♂	1,12	1,11	0,59	blastula
<i>Bufo vulgaris</i> ♀ × <i>R. fusca</i> ♂	1,02	1,0	1,32	blastula
<i>Rana</i> (spz. intox. N <sub>2</sub> H) 0,001 <sup>100</sup>	1,12	1,38	1,42	parfois neurula
Pénétration <sup>32</sup> P				
<i>R. esculenta</i> ♀ × <i>R. fusca</i> ♂	0,97	0,42	0,15	blastula
<i>Bufo vulgaris</i> ♀ × <i>R. fusca</i> ♂	—	0,15	0,12	blastula
<i>Rana</i> (spz. intox. N <sub>2</sub> H) 0,005 %	0,62	0,41	1,85	parfois neurula
ARN <sup>32</sup> P				
<i>Rana</i> (spz. N <sub>2</sub> H) 0,005 %	0,96	0,71	0,25	blastula
Protéines glyocolle <sup>14</sup> C				
<i>Rana</i> (spz. N <sub>2</sub> H) 0,005 %	—	0,3	—	blastula

\* Les chiffres représentent le rapport  $\frac{\text{activité témoin}}{\text{activité hybride}}$  (unités arbitraires) cf. BRACHET (1954c).

Le cas de la différenciation des tissus dans les organismes adultes suit vraisemblablement des modalités tout à fait identiques, mais dans ce cas, l'analyse est souvent plus complexe, car il est souvent très difficile de faire la part des effets dus aux inhibitions mitotiques provoquées par le blocage de la synthèse de l'ADN et ceux dus plus spécifiquement à l'arrêt de la différenciation à un stade ultérieur. A ce sujet, on peut prendre l'exemple de l'effet des rayons X sur la moelle osseuse des mammifères: une dose létale, chez le rat, provoque très rapidement un arrêt des mitoses entraînant une déficience des leucocytes et des hématies. Mais on constate néanmoins que, dans les heures qui suivent l'irradiation, la synthèse d'hème et de globine (qui sont indépendantes l'une de l'autre) commencent par augmenter (si on l'étudie en suivant l'incorporation du glyocolle) pendant les 24 premières heures, alors que la synthèse des deux types d'acides nucléiques est fortement inhibée (ABRAMS, 1951).

#### ORGANISMES ÉNUCLÉÉS

L'un des moyens expérimentaux les plus simples dont on dispose pour étudier le métabolisme cellulaire en l'absence de métabolisme de l'ADN est d'enlever le

noyau et de suivre les réactions cytoplasmiques qui en résultent. Dans ce cas, évidemment, c'est plutôt le rôle du noyau dans son ensemble que l'on étudie, plutôt que celui du seul ADN.

Deux types d'organismes ont été utilisés par l'un de nous (J.B.): l'algue marine *Acetabularia mediterranea* et l'amibe, que l'on peut facilement sectionner en une partie nucléée et une partie anucléée. Il y a une différence essentielle entre ces deux organismes dont il faudra tenir compte pour l'interprétation des résultats: l'*acetabularia* est pourvue de chloroplastes et peut se nourrir par photosynthèse même en l'absence de noyau, tandis que l'amibe, qui ne prend comme toute nourriture que des micro-organismes, devient presque immédiatement incapable d'émettre des pseudopodes après l'ablation de son noyau et elle devra de ce fait être étudiée dans des conditions de jeûne alimentaire. C'est ce qui explique que les demi amibes énucléées ne sont capables de survivre que pendant une quinzaine de jours après l'énucléation (les moitiés nucléées ne survivent d'ailleurs que pendant 3 semaines).

Les fragments anucléés d'*acetabularia*, par contre, continuent à grandir, peuvent régénérer et même se différencier en formant leur "chapeau". C'est sous celui-ci que viennent normalement se loger les cystes provenant de la division tardive de l'unique noyau situé pendant la majeure partie du cycle biologique dans l'un des rhizoïdes qui servent à fixer l'algue au fond de la mer).

Comparons maintenant plus systématiquement ce qui se passe en ce qui concerne les diverses activités de ces deux organismes.

#### *Respiration, glycolyse et utilisation des réserves énergétiques*

L'ablation du noyau ne modifie pas l'activité respiratoire des amibes, du moins pendant les 8 premiers jours de survie sans noyau—après ce moment, les fragments anucléés commencent à se cytolysier et les résultats sont moins précis; il en est de même chez l'*acetabularia* où l'on constate, après la section en deux fragments, que l'activité respiratoire augmente en même temps que s'allonge le fragment, pendant au moins 9 semaines, même dans le fragment anucléé, où elle est cependant moins rapide que chez les témoins vers la fin de l'expérience. En ce qui concerne les réserves d'ATP nous n'envisagerons que l'amibe où l'on trouve, en aérobiose, plutôt un excès dans les fragments anucléés par rapport au témoin, ce qui reflète probablement que cette réserve d'énergie est moins bien utilisée en l'absence de noyau, car, comme nous le verrons, les mécanismes de synthèses sont fortement ralentis. Cette accumulation d'ATP a lieu en dépit du fait que l'un des premiers effets de l'énucléation est de diminuer très considérablement l'incorporation du phosphate inorganique, ce qui pourrait résulter de profondes altérations de la membrane cellulaire accompagnant l'incapacité qu'ont acquises les amibes anucléées de former des pseudopodes.

En anaérobiose, on observe la situation inverse: les fragments anucléés perdent leur ATP beaucoup plus rapidement. L'ablation du noyau fait perdre au cytoplasme sa capacité de maintenir son ATP en anaérobiose. Comme, en l'absence d'oxygène, l'ATP provient en majeure partie de la glycolyse, on peut se demander si cette dernière fonction n'est pas inhibée: on observe effectivement que la glyco-génolyse est très lente ou nulle dans les fragments anucléés d'amibes et on continue à trouver d'abondantes réserves après plus d'une semaine alors que celles-ci



diminuent beaucoup plus rapidement dans les fragments nucléés; des dosages ont d'ailleurs montré que c'est environ trois jours après l'énucléation que les fragments anucléés perdent la propriété d'utiliser ce polysaccharide; ce résultat a été retrouvé par TARTAR (1956) chez le stentor. Remarquons en passant que les réserves de lipides sont également moins bien utilisées par les amibes anucléées.

La raison de ces anomalies du comportement cytoplasmique après énucléation pourrait résider dans une déficience en coenzyme, puisqu'il semble que d'après les résultats de HOGEBOOM et SCHNEIDER, le noyau soit l'un des sites essentiels de la synthèse de coenzyme I (diphosphopyridine nucléotide DPN). A l'heure actuelle, les dosages de COHEN (1956) et BALTUS (1956) concernant le taux en DPN des fragments anucléés sont contradictoires et il convient d'attendre la mise au point de techniques expérimentales plus sûres pour pouvoir départager ces résultats.

En ce qui concerne les réserves d'énergie chez l'*acetabularia*, la situation est fort différente du fait de la photosynthèse, génératrice d'ATP, qui peut s'effectuer même dans des chloroplastes isolés: il n'est donc pas étonnant de constater que, même un mois après l'énucléation, la fixation de  $\text{CO}_2$  n'est pas diminuée, de plus, le métabolisme de l'amidon reste identique quelles que soient les conditions expérimentales (absence ou non de lumière et d'oxygène). Il est clair que les deux types d'organismes n'ont pas un comportement identique, ce qui indique de toute évidence que le contrôle nucléaire sur les activités cytoplasmiques n'est pas nécessairement un phénomène simple et qu'il peut se manifester fort différemment d'un organisme à l'autre.

### *Synthèse d'ARN et de protéines*

La situation diffère encore une fois entre l'amibe et l'*acetabularia*. Chez l'amibe, des observations cytochimiques et biochimiques montrent que les fragments anucléés perdent rapidement leur ARN qui n'est plus que d'environ 40% de celui des témoins nucléés après 12 jours d'énucléation; cette même période de jeûne n'entraîne d'ailleurs aucune perte d'ARN quand il y a un noyau. La structure même du cytoplasme est altérée après énucléation: de fibrillaire, celui-ci devient finement granuleux quand il est fixé en milieu acide: ceci pourrait indiquer une altération des structures cytoplasmiques basophiles, ce que des observations préliminaires au microscope électronique semblent indiquer (BRACHET, 1959).

Des observations autoradiographiques de Skreb-Guilcher ont montré que, dès le premier jour après l'énucléation, l'incorporation d'adénine- $^{14}\text{C}$  dans les polynucléotides est déjà fortement diminuée par rapport à ce qu'elle est dans les fragments nucléés. Il existe donc un contrôle nucléaire très direct du métabolisme cytoplasmique de l'ARN, mais celui-ci ne semble pas être complet puisque même en l'absence du noyau, l'adénine peut continuer à être incorporée, mais à un moindre degré, dans l'ARN cytoplasmique (PLAUT et RUSTAD, 1957; ERRERA *et al.*, 1959). Les expériences de transplantations nucléaires de GOLDSTEIN et PLAUT (1955) avaient d'ailleurs montré l'existence d'un transfert de  $^{32}\text{P}$  de l'ARN du noyau vers le cytoplasme.

L'intensité des synthèses protéiques, telles qu'on peut les suivre par l'incorporation d'acides aminés (méthionine- $^{35}\text{S}$ , phénylalanine- $^{14}\text{C}$ , MAZIA et PRESCOTT,

1955; FICQ, 1956) diminue aussi dans les fragments anucléés, mais de façon moins marquée que pour l'ARN.

L'incorporation d'acides aminés dans les protéines, comme celle des bases puriques dans l'ARN, ne dépend donc pas exclusivement des fonctions nucléaires et peut s'effectuer en partie dans du cytoplasme isolé.

Cependant, ce type d'expérience a l'inconvénient de ne pas rendre compte des variations absolues de protéines déterminées. Aussi le sort d'un certain nombre d'enzymes a été étudié chez l'amibe après l'énucléation et on peut alors observer que divers types de protéines évoluent de manière très différente. Certains enzymes (protéase, émolase, adénosine triphosphatase) ne changent pratiquement pas; la dipeptidase décroît pendant les 3 premiers jours consécutifs à l'énucléation tandis que la phosphatase acide et l'estérase disparaissent très rapidement: à l'heure actuelle, il est difficilement possible de donner une interprétation satisfaisante à ces comportements tellement différents (BRACHET, 1957).

Chez l'*acetabularia* per contre, nous avons vu que les fragments anucléés régénèrent et peuvent même encore se différencier—c'est qu'ils sont capables de former des quantités importantes de protéines nouvelles, et même spécifiques: il est donc important de préciser ce qui se passe quantitativement, tant en ce qui concerne les protéines que l'ARN.

L'évolution de l'ARN après l'énucléation chez l'*acetabularia* est encore controversée: alors que BRACHET (1955) a observé que la synthèse de l'ARN se poursuit pendant au moins un mois après l'énucléation (la quantité d'ARN triple environ pendant cette période), NAORA *et al.* (1959) n'ont pas observé un tel accroissement bien que les algues se soient différenciées. Cette discordance résulte vraisemblablement des conditions d'expérience car, dans un travail récent, NAORA *et al.* (1960) ont montré que si l'ARN ne varie pas, il y a néanmoins une synthèse nette dans les chloroplastes et une diminution dans le reste du cytoplasme. S'il y a une formation importante de chloroplastes, on doit s'attendre à une augmentation importante de l'ARN total.

On sait d'autre part que, chez l'*acetabularia*, le noyau contient un volumineux nucléole dans lequel les synthèses d'ARN sont très intenses comme en témoignent les études autoradiographiques; il est probable que ce nucléole déverse de l'ARN dans le cytoplasme; s'il en était ainsi, il serait important de préciser si cet apport au cytoplasme, qui pourrait se faire plus ou moins précocement, a déjà eu lieu au moment de la section de l'algue.

Ce qui, par contre, ne fait aucun doute est l'existence d'une accélération de la synthèse protéique dans les premières semaines qui suivent la section. Il est probable que la tige anucléée dispose alors de réserves métaboliques fournies par la photosynthèse, qui auraient normalement été utilisées dans le rhizoïde. On constate d'ailleurs qu'en l'absence de noyau, la morphogenèse (formation de chapeaux) est plus rapide que chez l'algue normale, mais que ce processus dépend de l'illumination (BETH, 1955). Ces observations ont été corroborées par des mesures de l'incorporation du  $^{14}\text{CO}_2$  dans les protéines des deux types de fragments: pendant deux semaines environ, l'énucléation n'influence pas ce processus; mais après ce temps, la photosynthèse des protéines diminue progressivement. Toutefois l'incorporation du  $\text{CO}_2$  dans les protéines des fragments anucléés continue encore

plusieurs semaines après la cessation de toute synthèse nette. Outre la synthèse de protéines de structure nécessaires à la régénération et à la morphogenèse, on a pu montrer que divers enzymes, l'aldolase, la fructosidase, la phosphorylase continuent à augmenter après énucléation de l'algue tandis que la phosphatase acide diminue comme chez l'amibe (BALTUS, 1959; HAMMERLING *et al.*, 1959). Il est donc certain qu'en l'absence de noyau, des synthèses nettes de protéines spécifiques et d'acide nucléique peuvent encore se faire, bien que dans ce dernier cas, les conditions indispensables doivent encore être précisées.

### CONCLUSIONS

Comment, à la lumière des données esquissées ci-dessus, peut-on se représenter le contrôle exercé par l'ADN et le noyau en général, sur le métabolisme du cytoplasme?

En ce qui concerne les processus de production d'énergie, considérons successivement les phénomènes aérobiques et anaérobiques.

Les oxydations cellulaires conduisant à la formation d'ATP en présence d'oxygène se passent principalement dans les mitochondries; celles-ci paraissent jouir d'une grande autonomie vis-à-vis du noyau puisque ni l'irradiation chez les bactéries, ni les poisons mitotiques chez les embryons, ni l'énucléation totale, n'abaissent le taux respiratoire et la production d'ATP pendant des périodes prolongées après le traitement. Remarquons cependant qu'un contrôle doit exister puisqu'on connaît des mutations géniques qui entraînent des déficiences respiratoires, notamment chez la levure (EPHRUSSI, 1953).

Il existe également des phosphorylations aérobiques propres au noyau cellulaire dont on connaît encore mal la nature et la signification; mais les travaux de MIRSKY *et al.* (1956) ont montré qu'elles dépendent de l'intégrité de l'ADN. Le rôle de l'ADN dans ce processus est encore fort obscur; il peut en effet être remplacé par un certain nombre de polyélectrolytes n'ayant aucune spécificité biologique!

La glycolyse et les phosphorylations anaérobiques paraissent dépendre plus étroitement des fonctions nucléaires que la respiration des mitochondries. En effet, nous avons signalé des déficiences d'ATP, de la glycolyse anaérobique et de la glycogénolyse chez les bactéries irradiées, les hybrides létaux et les amibes énucléées. Le rôle du noyau n'est pas encore élucidé, mais on sait qu'il est le siège de certaines étapes importantes de la formation des coenzymes, intervenant dans la glycolyse. Des données expérimentales nouvelles sont encore nécessaires pour démontrer que c'est bien une déficience de coenzymes que provoquent les divers traitements utilisés.

Quoi qu'il en soit, la formation des mitochondries aussi bien que celle des coenzymes dépend, en fin de compte, de l'existence d'enzymes protéiques, dont il convient maintenant d'examiner l'origine. Le rôle des acides nucléiques dans la formation des protéines ne fait plus aucun doute: une fraction cellulaire soluble et une fraction liée aux microsomes sont essentielles aux synthèses de protéines qui s'effectuent au niveau du reticulum endoplasmique.

Il est peu probable que ce système soit le seul où s'effectuent des synthèses protéiques: on peut notamment supposer que la petite quantité d'ARN trouvée dans les mitochondries et dans les chloroplastes concourt à la formation des protéines

de ces organites, comme il est vraisemblable que les protéines liées aux chromosomes soient directement synthétisées avec l'intervention de leur ARN ou de leur ADN.

De même, le lieu de la formation de l'ARN reste encore à préciser: il s'en forme en quantité particulièrement abondante dans le noyau et surtout dans le nucléole. Est-il formé dans l'organisateur nucléolaire des chromosomes ou dans les renflements que présentent certaines bandes des chromosomes des larves de diptères pendant leur développement et dans lesquelles FICQ et PAVAN (1957) ont pu démontrer à côté d'une synthèse d'ADN, un important métabolisme ribonucléique et protéique?

L'origine nucléaire (nucléolaire?) d'une partie au moins de l'ARN cytoplasmique semble avoir été établie chez l'amibe. Les expériences de GOLDSTEIN et PLAUT (1955) qui ont transféré un noyau d'amibe dont l'ARN contient du  $^{32}\text{P}$ , dans un cytoplasme non radioactif, ont démontré le passage d'ARN vers le cytoplasme, alors que l'inverse ne se produit pas. Mais le fait que du cytoplasme anucléé est capable d'incorporer des précurseurs de l'ARN montre que cet acide nucléique cytoplasmique est capable d'être métabolisé en l'absence du noyau, et chez l'*acetabularia*, une synthèse nette a pu être démontrée dans certaines conditions.

On est ainsi amené à postuler une certaine indépendance, vis-à-vis du noyau, des mécanismes de synthèse des acides ribonucléiques et des protéines; dans certains cas extrêmes, on a même été conduit à supposer que cette indépendance pourrait être totale ou presque, comme dans les cas d'hérédité cytoplasmique. Le trajet compliqué par lequel chemine, dans la plupart des cas, l'information génétique avant de s'exprimer sous la forme de synthèses spécifiques (dont la plupart ont probablement lieu dans le cytoplasme) explique que la destruction de l'ADN d'une cellule n'entraîne pas nécessairement l'arrêt de synthèses de protéines nouvelles, comme c'est le cas des micro-organismes irradiés aux rayons X qui peuvent encore effectuer des synthèses induites, ou des tiges énucléées d'*acetabularia* encore capables de former un chapeau. Si l'altération de l'ADN a lieu de manière très précoce, comme chez les embryons anormaux, le développement s'arrêtera non pas à cause de l'arrêt des mécanismes généraux de synthèses ribonucléiques ou protéiques nécessaires aux mitoses, mais parce qu'à ce moment la formation des constituants cellulaires nouveaux, caractérisant la différenciation des noyaux et la morphogenèse, est devenue impossible.

#### RÉSUMÉ

Le présent travail a pour but de comparer, chez différents organismes, les effets d'une déficience en ADN (obtenue par privation d'un précurseur essentiel, par irradiation, ou intoxication ou par énucléation totale) sur des activités cellulaires variées.

#### *Mécanismes producteurs d'énergie*

(a) Phosphorylations oxydatives: les mitochondries paraissent très autonomes vis-à-vis du noyau cellulaire parce que, ni l'irradiation par les rayons u.v. (pour les bactéries), l'intoxication d'embryons par la moutarde à l'azote, ni l'énucléation totale chez l'amibe, n'inhibent la formation d'ATP même après de longues périodes. Il faut cependant se rappeler qu'un contrôle génétique existe, comme cela a été démontré pour les levures par EPHRUSSI (1953). Le rôle de l'ADN dans les phos-

phorylations nucléaires (MIRSKY *et al.*, 1956) reste très complexe parce que l'ADN peut être remplacé par plusieurs polyélectrolytes non spécifiques.

(b) Les phosphorylations anaérobiques, cependant, semblent dépendre beaucoup plus de la fonction nucléaire chez les mêmes types cellulaires; chez l'amibe anucléée, la glycogénolyse est aussi inhibée. Le rôle du noyau, dans ces processus, n'a cependant pas été éclairci; mais comme certaines étapes de la synthèse du coenzyme I (DPN) se produisent dans le noyau, cette synthèse pourrait être en corrélation étroite avec l'intégrité de l'ADN.

#### *Acide ribonucléique et synthèses protéiques*

Il est bien connu que le nucléole est un important centre du métabolisme de l'ARN et probablement de sa synthèse, et que l'ARN pourrait être formé dans l'organisateur nucléolaire ou dans les renflements que l'on observe dans certaines bandes de chromosomes de larves de diptères, où FICQ et PAVAN (1957) ont montré un important métabolisme de l'ARN et des protéines à côté d'une active synthèse d'ADN. Dans le cas de l'amibe, les expériences de GOLDSTEIN et PLAUT ont montré une migration d'ARN nucléaire dans le cytoplasme; mais le fait que les cytoplasmes non nucléés sont encore capables d'incorporer des précurseurs de faible poids moléculaire dans l'ARN malgré une perte rapide d'ARN total, démontre que l'ARN cytoplasmique est susceptible d'être métabolisé en absence de noyau et, dans l'*acetabularia* non nucléée, une nette synthèse a même été observée dans certaines conditions.

On est ainsi amené à postuler un certain degré d'indépendance du métabolisme de l'ARN cytoplasmique, bien que le noyau semble contrôler la maintenance de l'ARN cytoplasmique. Des observations semblables sur la synthèse protéique ont été faites chez l'*acetabularia* où des augmentations importantes des protéines totales et de certains enzymes ont été observées pendant la croissance de la moitié privée de noyau. Les moitiés anucléées sont même encore capables de différenciation cellulaire mais cela n'est possible que pendant un certain temps parce que, si elles sont maintenues à l'obscurité pendant 2 à 3 semaines après énucléation, elles perdent leur capacité de former leur "chapeau".

Chez les micro-organismes, l'ADN peut être détruit par les rayons X mais il n'y a pas de perte immédiate de la capacité de former des enzymes induits; cela a été clairement démontré par CHANTRENNE et DEVREUX (1958). Des embryons contenant de l'ADN anormal sont capables de clivage apparemment normal et d'incorporer de grandes quantités d'acides aminés dans leurs protéines, mais ils deviennent incapables de différenciation.

On est amené à postuler une certaine indépendance vis-à-vis du noyau, de la synthèse des protéines et de l'ARN et, dans certains cas extrêmes, on a suggéré que cette indépendance pourrait être totale comme dans l'hérédité cytoplasmique.

Le trajet compliqué par lequel l'information génétique chemine avant de s'exprimer dans le cytoplasme par la synthèse de constituants spécifiques, explique pourquoi la déficience en ADN n'arrête pas immédiatement la synthèse des protéines spécifiques; mais si l'altération de l'ADN a lieu de manière précoce (comme chez les embryons contenant de l'ADN anormal ou chez l'*acetabularia* après un séjour à l'obscurité), la différenciation ne sera plus possible.

*Processus mitotiques*

Chez les micro-organismes, une déficience d'ADN formant des précurseurs arrête les divisions nucléaires et cytoplasmiques; mais la division cellulaire peut aussi être inhibée dans des conditions où la synthèse d'ADN semble normale, comme dans les expériences d'irradiation; et l'on connaît plusieurs exemples de clivage cytoplasmique chez des embryons énucléés. On est ainsi amené à conclure que des constituants cellulaires autres que l'ADN jouent aussi un rôle important dans le contrôle de la mitose.

## BIBLIOGRAPHIE

- ABRAMS R. (1951) *Arch. Biochem. Biophys.* **30**, 90.  
 BALTUS E. (1956) *Arch. Intern. Physiol.* **64**, 124.  
 BALTUS E. (1959) *Biochim. Biophys. Acta.* **33**, 319.  
 BARNER H. D. et COHEN S. S. (1954) *J. Bact.* **68**, 80.  
 BARNER H. D., COHEN S. S. et KANAZIR D. (1958) *Biochim. Biophys. Acta.* **30**, 12.  
 BARON L. S., SPIEGELMAN S. and QUASTLER H. (1953) *J. Gen. Physiol.* **36**, 631.  
 BARTH L. G. et JÄGER L. (1947) *Physiol. Zool.* **20**, 133.  
 BETH K. (1955) *Z. Naturf.* **10b**, 267.  
 BODENSTEIN D. et KONDRITZER A. (1948) *J. Exp. Zool.* **107**, 109.  
 BRACHET J. (1954a) *Arch. Biol.*, **65**, 1.  
 BRACHET J. (1954b) *Expérientia* **10**, 492.  
 BRACHET J. (1954c) *Arch. Biol.*, **61**, 43.  
 BRACHET J. (1955) *Biochim. Biophys. Acta.* **18**, 247.  
 BRACHET J. (1957) *Biochemical Cytology* Academic Press, New York.  
 BRACHET J. (1959) *Exp. Cell Res. Suppl.* **6**, 78.  
 BRANDT C. L., FREEMAN P. J. and SWENSSON P. A. (1951) *Science* **113**, 383.  
 CASPERSSON T., KLEIN E. et RINGERTZ N. R. (1958) *Cancer Res.* **18**, 857.  
 CHANTRENNE, H. et DEVREUX S. (1958) *Biochim. Biophys. Acta* **31**, 1.  
 COHEN A. I. (1956) *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **2**, 15.  
 COHEN S. S. (1957) *The Chemical Basis of Heredity* (Publié par McELROY W. D. et GLASS, B.) Johns Hopkins, Baltimore.  
 DALCQ A. et SIMON S. (1932) *Protoplasma* **14**, 497.  
 DRAKULIC M. (1959) *Biochim. Biophys. Acta.* **36**, 172.  
 EPHRUSSI B. (1953) *Nucleocytoplasmic Relations in Microorganisms*. Oxford University Press, London and New York.  
 ERRERA M., FICQ A., LOGAN R., SKREB Y. et VANDERHAEGHE F. (1959) *Exp. Cell Res. Suppl.* **6**, 268.  
 FICQ A. (1956) *Arch. Intern. Physiol.* **64**, 129.  
 FICQ A. et PAVAN C. (1957) *Nature, Lond.* **180**, 983.  
 FORSSBERG A. et KLEIN G. (1954) *Exp. Cell Res.* **7**, 480.  
 GOLDSTEIN L. et PLAUT W. (1955) *Proc. Nat. Acad. Sci., Wash.* **41**, 874.  
 GREGG J. R. (1948) *J. Exp. Zool.* **109**, 119.  
 HAMMERLING J., CLAUS H., HECK K., RICHTER G. et WERZ G. (1959) *Exp. Cell Res. Suppl.* **6**, 210.  
 HERTWIG G. (1911) *Arch. mikr. Anat.* **77**, (II), 165.  
 HOWARD A. et PELC S. R. (1953) *Hereditas, Lund* **6**, Suppl. 1, 261.  
 JÄGER L. (1945) *J. Cell. Comp. Physiol.* **25**, 97.  
 JEENER R. et JEENER H. (1952) *Exp. Cell Res.* **3**, 675.  
 KANAZIR D. et ERRERA M. (1956) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **21**, 19.  
 KANAZIR D., BARNER H. D., FLAKS J. G. et COHEN S. S. (1959) *Biochim. Biophys. Acta.* **34**, 341.  
 KELNER A. (1953) *J. Bact.* **65**, 252.  
 KING T. et BRIGGS R. (1956) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **21**, 271.  
 LAJTHA L. G. (1958) *Rad. Res.* **8**, 1.  
 MAZIA D. et PRESCOTT D. M. (1955) *Biochim. Biophys. Acta.* **17**, 23.  
 MIRSKY A. E., OSAWA S. et ALLFREY V. (1956) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **21**, 49.  
 NAORA H., RICHTER G. et NAORA H. (1959) *Exp. Cell Res.* **16**, 434.

- NAORA H., BRACHET J. et NAORA H. (1960) *J. Gen. Physiol.* Sous presse.  
 PLAUT W. et RUSTAD R. C. (1957) *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 3, 625  
 STEINERT M. (1951) *Bull. Soc. Chim. Biol.* 33, 549.  
 TARTAR V. (1956) *Cellular Mechanisms of Differentiation and Growth* (Publié par RUDNICK D.)  
 p. 73. Princeton University Press, New Jersey.

## DISCUSSION

R. VERCAUTEREN:

(1) Comment varie le rapport  $\frac{\text{glycolyse aérobie}}{\text{glycolyse anaérobie}}$  après l'énucléation? Y a-t-il un effet Pasteur?

(2) Avez-vous suivi l'ATP-ase?

M. ERRERA:

(1) On n'a pas mesuré la glycolyse de manière spécifique après énucléation de l'amibe; on a simplement observé que la respiration globale n'était pas modifiée pendant plusieurs jours mais que d'autre part les réserves glycogéniques qui sont consommées par l'amibe nucléée ne le sont plus ou le sont beaucoup moins après énucléation.

(2) Nous n'avons pas eu le temps pendant cet exposé de nous étendre sur le devenir de divers enzymes après énucléation de l'amibe. Nous avons mentionné cette évolution dans le texte de la communication. En ce qui concerne l'adénosine triphosphatase, nous devons cependant ajouter les précisions suivantes: si cet enzyme ne semble pas se comporter différemment dans les moitiés nucléées et anucléées quand on détermine son activité de manière globale, sa localisation cellulaire semble modifiée car sa composante superficielle liée à la membrane capable d'hydrolyser l'ATP extracellulaire, diminue rapidement. Il est probable que ces modifications sont en relation étroite avec la perte de mobilité de l'amibe qui s'observe déjà quelques minutes après l'énucléation.

R. WEGMANN: Que se passe-t-il avec les phosphorylases?

J. BRACHET: Je n'ai pu déceler de phosphorylase dans les amibes avec les méthodes dont je disposais. Utilisant des techniques plus raffinées, MATTENHEIMER vient de signaler que les amibes contiennent tous les enzymes de la glycolyse. Chez l'*acetabularia*, il se produit une synthèse nette de phosphorylase en l'absence du noyau. L'enzyme semble être, dans ce cas, accumulé dans les chloroplastes.

Z. M. BACQ: Dans le noyau d'*acetabularia* à la période de croissance végétative, a-t-on pu mettre en évidence la présence d'ADN?

J. BRACHET: Les gamètes et le zygote contiennent un noyau Feulgen-positif. Mais le gros noyau est Feulgen-négatif et n'incorpore pas de thymidine. On ne peut donc pas affirmer de façon formelle que ce noyau contient de l'ADN. Il est probable que la très petite quantité d'ADN présente dans le zygote est diluée dans l'énorme noyau de l'algue; il n'y a, en tous cas, pas de phénomènes d'endopolyploïdie.

P. ALEXANDER: Is there any evidence for nuclear phosphorylation in the amoeba?

J. BRACHET: Nous n'avons pas travaillé sur les noyaux isolés d'amibes et seulement sur les fragments nucléés; il n'a donc pas été possible de démontrer chez l'amibe les mécanismes mis en évidence dans le noyau des thymocytes par ALLFREY, MIRSKY et OSAWA et dans d'autres tissus à croissance rapide par ORD et STOCKEN.