

L'HÉTÉROGÉNÉITÉ DES GRANULES CYTOPLASMIQUES:
DONNÉES COMPLÉMENTAIRES FOURNIES PAR
LEUR FRACTIONNEMENT EN SOLUTION SALINE CONCENTRÉE

par

R. JEENER

Laboratoire de Physiologie Animale, Université de Bruxelles (Belgique)

Le simple examen ultramicroscopique des particules d'origine cytoplasmique présentes dans les extraits aqueux des tissus animaux, montre clairement qu'elles sont de dimensions fort diverses. Des différences profondes dans la constitution chimique accompagnent ces différences de tailles, ainsi que l'ont prouvé les fractionnements opérés par CLAUDE et ses collaborateurs, d'une part^{1,2}, par CHANTRENNE, d'autre part³. Les auteurs américains ont été conduits à considérer que les particules cytoplasmiques appartiennent à deux catégories seulement. Les plus grosses seraient les mitochondries des cytologistes, les plus petites ou microsomes, différeraient des premières par leur richesse plus grande en acide ribonucléique et leur extrême pauvreté en ferments. Les recherches de CHANTRENNE paraissent indiquer qu'il existe en réalité toute une série d'intermédiaires entre les plus grosses particules et les plus petites aussi bien en ce qui concerne la taille que la constitution. Cette divergence de vues est accessoire au regard de la constatation fondamentale que les particules cytoplasmiques sont de constitutions chimiques diverses. Notons en effet que cette hétérogénéité est un argument nouveau en faveur de l'existence effective des particules dans le cytoplasme normal. Si les particules présentes dans les extraits résultaient d'une précipitation de constituants cytoplasmiques provoqués par l'action du solvant servant à l'extraction, nous comprendrions mal que la constitution des agrégats formés varie avec leur taille.

La présence dans les particules cytoplasmiques de ferments essentiels pour le fonctionnement de la cellule, la grande abondance de l'acide ribonucléique dans les particules les plus petites pauvres en ferments, l'existence de particules intermédiaires entre ces extrêmes par leurs dimensions et leur constitution sont des faits dont nous sentons toute l'importance pour la physiologie cellulaire, mais dont la compréhension paraît encore hors d'atteinte. Par contre, l'étude de l'architecture des particules cytoplasmiques diverses, auxquelles nous réserverons le terme général de "granules", paraît un sujet immédiatement accessible à la recherche et susceptible de conduire à d'intéressantes comparaisons entre les granules et d'autres unités biologiques riches en acides nucléiques telles que les virus ou les chromosomes.

Dans ce domaine, la première question à examiner paraît être celle des relations de l'acide ribonucléique avec les complexes protéiques et phospholipidiques constituant la plus grande partie des granules. Les recherches de CHANTRENNE³ ont permis l'isolement de particules très petites, séparables en 60 minutes sous 100000 g et contenant 10 fois plus d'acide ribonucléique que les particules les plus grosses. Une ultracentrifuga-

tion aussi prolongé ne provoque toutefois pas la sédimentation de la totalité de l'acide ribonucléique. Il était permis de se demander si cet acide ne serait pas l'un des éléments d'un ribonucléoprotéide analogue à la thymonucléohistone et qui se trouverait uni en proportions variables à un complexe lipido-protéique contenant notamment les divers ferments découverts dans les granules. La séparation à partir des granules d'un pareil ribonucléoprotéide par l'action d'une solution saline concentrée, méthode qui a permis à MIRSKY⁴ et à nous-même⁵ de séparer la thymonucléohistone d'autres protéines constituant le noyau cellulaire, pouvait être espérée. La tentative était d'autant plus justifiée que BRACHET ET JEENER⁶ ont montré dès le début de leurs recherches sur les granules que le traitement de ceux-ci par la solution d'Edsall (0.6 M KCl, 0.01 M CO₃Na₂, 0.04 M CO₃NaH), suivie d'une centrifugation de 10 minutes sous 100000 g permettait la séparation d'un culot ne contenant que de très faibles quantités d'acide nucléique, la plus grande partie de ce corps se retrouvant dans le liquide surnageant. Cette même technique a été suivie dans les expériences résumées dans le présent travail.

RÉSULTATS

a. Action de la solution d'Edsall sur les granules de foie recueillis par centrifugation à 100000 g en 10 min

Le matériel le plus fréquemment utilisé a été une fraction des granules de foie de Souris obtenue par broyage du foie dans 10 volumes de tampon phosphate $\frac{M}{200}$ p_H 7.4 contenant ou non 0.85 % Na Cl, élimination des noyaux et cellules intactes par une centrifugation de 20 min sous 1460 g, séparation des granules par une centrifugation de 10 min sous 100000 g et lavages de ceux-ci, répétés trois fois, à l'aide du même tampon. Les granules ainsi obtenus sont mis en suspension dans la solution d'Edsall où ils séjournent de 1 à 3 heures à 2° C. Une centrifugation de 10 min sous 100000 g provoque la séparation d'un culot qui est lavé plusieurs fois à l'aide du liquide d'Edsall et d'une solution surnageante contenant 30 à 40% du poids sec des granules initiaux et 75 à 88% de leur acide ribonucléique (dosé par la méthode de SCHNEIDER⁷). La première méthode employée pour tenter l'isolement d'un ribonucléoprotéide à partir de cette solution surnageante consistait en une dialyse de celle-ci contre de l'eau distillée, technique par laquelle nous avions antérieurement obtenu une précipitation de la thymonucléohistone à partir de noyaux d'érythrocytes de Poule dissous dans la solution d'Edsall. Comme dans le cas de la thymonucléohistone la dialyse provoque la précipitation d'un matériel fortement enrichi en acide nucléique puisqu'il contient de 9 à 15% de ce corps alors que les granules initiaux n'en contenaient que 3% (JEENER)⁸. Cette première technique a cependant été rapidement abandonnée à cause de l'irrégularité de ses résultats due au fait que le précipité formé est souvent extrêmement fin et se sédimente alors très incomplètement. D'autre part la valeur du résultat obtenu nous a paru incertaine à la suite de la publication d'un travail de KLECZKOWSKI⁹, où cet auteur montre qu'un ribonucléoprotéide, le virus de la mosaïque du tabac, donne avec diverses protéines et à un p_H intermédiaire entre le point isoélectrique du virus et celui de chaque protéine, des complexes dont les deux éléments peuvent être séparés par la simple adjonction de sels neutres. Une dialyse comme celle que nous pratiquions aurait donc pu provoquer l'effet inverse et entraîner la formation de complexes artificiels entre ribonucléoprotéides et protéines, indépendants dans la solution surnageante.

Nous avons évité pareille objection et obtenu des résultats très réguliers en soumettant la solution surnageante à une ultracentrifugation sous 100 000 g prolongée pendant 45 à 60 min. Dans ces conditions 60 à 62% de l'acide ribonucléique détaché des granules se sédimentent en un culot contenant 10 à 20% d'acide ribonucléique par rapport à son poids sec. La prolongation de l'ultracentrifugation au-delà d'une heure ne provoque plus la formation d'un culot visible et nous ne pouvons à l'heure actuelle rien préjuger de l'état dans lequel se trouve l'acide nucléique non sédimenté. Le Tableau I résume les résultats d'une fractionnement ainsi réalisé.

TABLEAU I

Fraction	Poids sec mg	Ac. ribonucl. mg	Ac. ribonucl. %
Culot 10 min, 55 000 tm, (10^5 g)	24.5	0.452	1.85
Culot 60 min, 55 000 tm, (10^5 g)	4.3	0.811	18.9
Liqui. surn., 60 min, 55 000 tm (10^5 g) . . .	6.6	0.508	7.7

b. Comparaison entre la constitution chimique et les propriétés thromboplastiques des deux fractions séparées par une centrifugation de 10 min à 100 000 g

Le fait que les particules isolées en 60 min sous 100 000 g contiennent 10 fois plus d'acide nucléique que celles du culot obtenu en 10 min indiquent déjà que la solution d'Edsall n'a pas provoqué une simple fragmentation des granules en unités plus petites, semblables entre elles par leur constitution, mais en a séparé des éléments d'un type caractérisé à la fois par des dimensions et une composition particulière. Beaucoup d'autres différences sont apparues entre les deux fractions. Nous avons déjà signalé antérieurement⁸ que la totalité de la phosphatase alcaline liée aux granules se retrouve après traitement à l'Edsall dans la fraction séparable par une centrifugation de 10 min sous 100 000 g. Ce ferment est donc absent ou extrêmement peu abondant dans la fraction isolée en 60 min. Il semble que la même différence existe en ce qui concerne la cytochrome oxydase. Nous devons en effet à l'amabilité de P. REBUFFAT quelques dosages de ce ferment dont il ressort que la fraction formant un culot en 10 min oxyde 7 fois plus de cytochrome C en 1 min par mg de N protéique que la fraction descendant en 60 min (détermination spectrophotométrique en présence de cytochrome réduit par l'acide ascorbique). Un fait non moins frappant ressort de l'étude de l'activité thromboplastique des diverses fractions séparées par la solution d'Edsall. La technique utilisée pour sa détermination a été la suivante. Les particules isolées sous 100 000 g en 10 et en 60 min sont lavées à plusieurs reprises à l'aide d'un tampon au borate 0.03 M de p_H 8.6 et mises en suspension dans ce même tampon. La suspension obtenue est diluée jusqu'à ce qu'un volume de 30 λ , ajouté à 0.2 ml de plasma de poule en provoque la coagulation à 30° C en un temps aussi voisin que possible de 30 min. Le plasma utilisé avait subi immédiatement après sa préparation une centrifugation de 10 min sous 100 000 g qui le rend incoagulable spontanément, quel que soit le temps pendant lequel il est placé à 30°. Une aliquote de chacune des suspensions initiales de particules sert à la détermination du N protéique total. Les résultats obtenus sont vérifiés au cours de trois essais parallèles pour chaque dilution, le critère permettant de fixer le moment de la coagu-

lation étant l'immobilisation d'une petite bille de verre mise en mouvement toutes les minutes sur le fond plat de chaque tube à coagulation par un dispositif automatique. Il apparaît ainsi que la quantité de particules de la fraction obtenue en 60 min de centrifugation suffisant à provoquer la coagulation du plasma en 30 min est 60 fois plus petite que la quantité de particules de la fraction obtenue en 10 min réalisant la coagulation dans le même temps. L'activité thromboplastique des premières est donc beaucoup plus considérable que celle des secondes.

S'il ressort de ces données que la solution d'Edsall sépare des granules une fraction d'une composition différente de celle du résidu d'extraction, le produit fortement enrichi en acide ribonucléique que nous avons isolé par une ultracentrifugation prolongée, est cependant encore fort éloigné d'un nucléoprotéide simple comme la thymonucléohistone. Il contient en effet 4 à 5 γ de P phospholipidique par mg (dosé par la méthode de SCHNEIDER⁷) et donne une réaction du plasmalogène très nette par la méthode de FEULGEN ET VOIT¹⁰. D'autre part, la teneur en arginine des protéines qu'il contient n'est que de 5 à 6% (dosage suivant DUMAZERT ET POGGY¹¹) et ne nous permet pas de considérer que celles-ci sont particulièrement riches en histones. En somme, si ce "nucléoprotéide" contient 20% d'acide ribonucléique, c'est-à-dire notablement plus que les plus petites particules isolées par CHANTRENNE³ en solutions salines diluées, il rappelle incontestablement celles-ci par sa vitesse de sédimentation, sa pauvreté en phosphatase alcaline, la présence de petites quantités de phospholipides. Enfin nous avons constaté que les particules isolées en une heure sous 100 000 g, à partir d'un extrait de foie dans le phosphate $\frac{M}{200}$ P_H 7.4, ont une activité thromboplastique 7 fois plus grande que les particules formant un culot en 10 min dans les mêmes conditions. La différence est certes moins grande que celle constatée entre les mêmes fractions isolées dans l'Edsall mais cependant encore importante. Il semble donc que nous pouvons nous demander si l'extraction des granules par la solution d'Edsall n'aurait pas pour seul résultat de débarrasser les plus gros d'entre eux de petits granules qui s'y seraient agrégés au cours des manipulations. Aussi avons nous examiné à titre de contrôle les effets de la solution d'Edsall sur les grosses particules assimilées par CLAUDE aux mitochondries et dont la technique de purification a été particulièrement étudiée.

c. Action de la solution d'Edsall sur les mitochondries

La technique suivie par nous a été celle décrite par HOGEBOM, SCHNEIDER ET PALLADE². Le tissu hépatique a été dispersé dans du saccharose 0.88 M et la suspension obtenue débarrassée des noyaux et fragments cellulaires par une centrifugation de 5 min à 2100 t/m. Les mitochondries, recueillies par une centrifugation de 14 min à 11000 t/m sont remises en suspension. Une centrifugation de 5 min à 2100 t/m élimine les derniers noyaux et débris cellulaires. Le liquide surnageant est une nouvelle fois centrifugé à 11000 t/m pendant 14 min et le culot lavé 3 fois. Le produit ainsi obtenu ne contient plus de petites particules comme l'examen au microscope électronique l'a montré (HOGEBOM *et coll.*²). Sa teneur en acide ribonucléique n'est pas modifiée par de nouveaux lavages (HOGEBOM *et coll.*²). Ce matériel purifié est ensuite soumis à l'action de la solution d'Edsall pendant 60 min à 2° C et fractionné par centrifugation comme dans l'expérience pratiquée sur granules isolées en tampon phosphate $\frac{M}{200}$. Chaque culot obtenu est remis deux fois en suspension dans la solution d'Edsall avant d'être analysé.

Les résultats obtenus figurent dans le Tableau II. Ils sont analogues, ainsi qu'on peut le voir, à ceux fournis par la même expérience pratiquée sur un mélange de granules divers préparés à partir d'une suspension en tampon phosphate $\frac{M}{200}$ (Tableau I).

TABLEAU II

Fraction	Poids sec mg	Ac. ribonucl. mg	Ac. ribonucl. %
Culot 14 min, 11 000 tm ($13 \cdot 10^3$ g)	47.0	0.244	0.52
Culot 10 min, 55 000 tm (10^5 g)	5.0	0.106	2.1
Culot 60 min, 55 000 tm (10^5 g)	0.9	0.154	17.1

Ici également la solution d'Edsall détache des granules étudiés une portion minime de leur substance, mais cette fraction contient une partie importante de l'acide ribonucléique. La seule différence est que le culot obtenu en 60 min à 100 000 g à partir des mitochondries est moins riche en acide ribonucléique (10 à 17% au lieu de 18 à 20%).

Ce résultat rendrait intéressante la comparaison des quantités de particules riches en acide ribonucléique et de très petites dimensions qu'il serait possible d'extraire de granules de diverses tailles provenant d'un même foie.

d. *Action de la solution d'Edsall sur les granules de vitesses de sédimentation diverses séparés à partir d'un même extrait*

Le tissu hépatique est mis en suspension dans du tampon phosphate $\frac{M}{200}$ PH 7.4.

Les noyaux sont éliminés par une centrifugation de 7 min à 3000 t/m. Les particules restant en suspension sont séparées en 3 fractions constituées par

1. Le culot obtenu en 20 min à 3000 t/m,
2. Le culot obtenu en 25 min à 11 000 t/m,
3. Le culot obtenu en 10 min à 55 000 t/m.

Chacune des fractions est lavée plusieurs fois, traitée par l'Edsall et soumise à une première centrifugation de 10 min à 55 000 t/m. Les particules restant en suspension sont alors recueillies par une seconde centrifugation de 45 min à la même vitesse. Les culots sont lavés à l'aide de solution d'Edsall et analysés. Les résultats de ces expériences figurent dans le Tableau III. La proportion de particules de très petites dimensions riches en acide ribonucléique extraites des diverses catégories de granules

TABLEAU III

Fraction	Poids sec total en mg	Poids sec culot 55 000 tm, 45 min en mg	Ac. ribonucl. culot 55 000 tm, 45 min %
1	22.3	0.7 (3.1 %)	10.2
2	52.5	2.7 (5.2 %)	12.7
3	9.2	1.8 (19.6 %)	17.3

est donc d'autant plus petite que ces granules sont plus gros. D'autre part, la richesse de ces petites particules en acide ribonucléique est d'autant plus grande qu'elles proviennent de granules plus petits. Ces particules constituant le matériel le plus riche en acide ribonucléique que nous puissions extraire de la cellule, paraissent pouvoir être le point de départ de nouvelles tentatives de purification d'un ribonucléoprotéide cytoplasmique. Aussi croyons-nous utile d'indiquer la méthode de préparation de ces particules dont le rendement nous a paru le plus élevé.

e. Technique de préparation du ribonucléoprotéide extrait des granules par la solution d'Edsall

Un foie de Souris est broyé aussi finement que possible dans 10 volumes de la solution d'Edsall. Après 1 heure, la rigidité de la solution obtenue est détruite mécaniquement par des passages répétés au travers de l'orifice étroit d'une seringue (rigidité due à la thymonucléohistone⁵). Une centrifugation de 20 min à 11 000 tm, suivie d'une seconde de 10 min à 55 000 tm, élimine les débris cellulaires et les particules de grandes dimensions. Le produit final est obtenu par une centrifugation de 60 min à 55 000 tm sous la forme d'un culot qui est remis deux fois en suspension dans l'Edsall et centrifugé. Cette méthode permet la préparation en quelques heures de 13 mg d'un matériel contenant 22% d'ac. ribonucléique et 2.4% de P à l'aide d'une ultracentrifugeuse d'une capacité de 4 ml seulement. Un laboratoire disposant d'une ultracentrifugeuse de grand volume pourrait donc préparer rapidement des quantités permettant l'étude par électrophorèse qui paraît s'imposer.

Signalons encore que les petites particules obtenues, traitées par l'Edsall pendant 30 min dans l'appareil broyeur à vibrations d'HAMMARSTEN¹² sont fragmentées de telle sorte que 65% de l'acide ribonucléique ne se laissent plus sédimer à 55 000 tm en 45 min. La fraction restant en solution dans ces conditions contient 26% d'acide ribonucléique. Il semble donc qu'un traitement énergique par l'Edsall permette de pousser plus avant la mise en solution de la portion des granules détachés par ce solvant.

ESSAI D'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Ainsi que nous le rapellions dans l'introduction, CHANTRENNE³ a montré récemment que les extraits de foie en solution saline diluée contenaient des granules de dimensions fort diverses renfermant une proportion d'autant plus grande d'acide ribonucléique et d'autant plus petite de divers ferments, qu'ils sont plus petits. Notre travail nous paraît compléter cette notion en suggérant les conclusions suivantes.

1. Les granules des diverses catégories se fragmentent en unités plus petites en solution saline concentrée.

2. Les fragments d'un même granule sont d'autant plus riches en acide ribonucléique qu'ils sont plus petits.

3. La proportion des unités de petites dimensions riches en acide ribonucléique présentes dans un granule, est d'autant plus grande que la granule dont elles se sont détachées est lui-même plus petit.

4. Les fragments de chaque granule ont une activité thromboplastique d'autant plus grande et contiennent d'autant moins de cytochromoxydase et de phosphatase alcaline, qu'ils sont plus petits.

5. Les particules les plus petites détachées des diverses catégories de granules par

la solution d'Edsall présentent des analogies avec les granules les plus petits isolés par CHANTRENNE en solution diluée.

Suivant l'hypothèse faite par CHANTRENNE, les granules des diverses fractions représenteraient différents degrés de développement de complexes lipoprotéiques qui s'élaboreraient autour d'un germe riche en acide ribonucléique. Le principal argument qui puisse être invoqué en faveur de cette idée est la constatation de BRACHET ET CHANTRENNE¹³ que, dans les extraits d'œuf vierges et d'embryons jeunes, l'acide ribonucléique n'est pas sédimenté en 10 min à 60000 g, une fraction de plus en plus importante de ce corps devenant sédimentable dans les mêmes conditions à partir d'embryons plus âgés. Nous avons eu l'occasion de faire une constatation semblable en comparant les quantités d'acide ribonucléique présentes dans diverses fractions d'extraits dans le phosphate $\frac{M}{200}$ PH 7.4, de glandes du jabot de pigeons où une brusque croissance avait été provoquée

TABLEAU IV

Fraction	Acide ribonucl. total témoin (a)	Acide ribonucl. total 48 h après inj. (b)	b/a
Culot 10 ⁵ g, 10 min	0.192	0.945	4.9
Culot 10 ⁵ g, 60 min	0.162	0.633	3.9
Liquide surn., 10 ⁵ g, 60 min	0.307	0.560	1.8
Culot 10 ⁵ g, 10 min	0.171	0.881	5.2
Culot 10 ⁵ g, 60 min	0.164	0.554	3.4
Liquide surn., 10 ⁵ g, 60 min	0.613	0.807	1.3
Culot 10 ⁵ g, 10 min	0.321	2.400	7.5
Culot 10 ⁵ g, 60 min	0.190	1.010	5.3
Liquide surn., 10 ⁵ g, 60 min	0.481	1.270	2.6

par l'action de prolactine. Comme le montre le Tableau IV, la croissance du jabot s'accompagne d'une augmentation de l'acide ribonucléique présent dans les diverses fractions de l'extrait d'autant plus rapide que ces fractions sont constituées par des particules plus grosses.

Si l'extraction par la solution d'Edsall de granules des diverses catégories libérait uniquement des particules très petites présentant la concentration la plus élevée en acide ribonucléique, nous aboutirions à la conclusion qu'une solution saline concentrée rompt les liaisons existant entre le germe nucléoprotéique imaginé par CHANTRENNE et les complexes lipoprotéiques élaborés autour de lui. Mais nous avons vu qu'en réalité la solution d'Edsall permet de séparer à partir de granules d'une même catégorie des fragments de dimensions diverses dont la teneur en acide ribonucléique va en diminuant depuis les fragments les plus petits jusqu'aux fragments les plus gros. L'interprétation de ce fait ressortira peut être d'une comparaison entre la structure des granules cytoplasmiques et celle du virus de la mosaïque du tabac.

HOGEBOM, SCHNEIDER ET PALLADE² ont montré récemment que les suspensions de mitochondries et de microsomes isolés dans des conditions qui paraissent conserver particulièrement bien les propriétés que ces organites possèdent dans la cellule, présentent de la biréfringence de flux. Les granules cytoplasmiques étudiés dans notre travail, dont les mitochondries et les microsomes ne sont que des catégories particulières, se rapprocheraient donc des particules du virus de la mosaïque du tabac par leur forme

allongée. Il est intéressant de rappeler à ce propos que MONNÉ¹⁴ avait déjà montré que, dans certaines conditions, les ribonucléoprotéides cytoplasmiques peuvent s'agréger en structures orientées et fibreuses. Enfin signalons que FOLCH ET UZMANN¹⁵ ont isolé à partir du cerveau un liponucléoprotéide biréfringent. D'autre part, SCHRÄMM¹⁶ vient de publier un travail approfondi montrant que les solutions alcalines fragmentent les particules du virus de la mosaïque du tabac en unités plus petites. Cette fragmentation s'opère en plusieurs stades successifs en donnant naissance à des particules qui sont des complexes d'un nombre entier d'unités élémentaires. Aux p_H les plus élevés, ces unités se trouvent séparées les unes des autres. L'auteur est amené à considérer que ces fragments s'accrochent d'une façon parfaitement régulière pour constituer le virus. Divers points envisagés dans ce travail nous intéressent particulièrement ici. L'étude de la constitution des fragments ainsi séparés montre en effet que de l'acide nucléique n'est présent que dans une partie d'entre eux. La particule de virus, tout comme un granule cytoplasmique serait donc le résultat de l'association d'unités plus petites, non identiques entre elles. De plus, diverses raisons existent de croire que les éléments du virus qui contiennent de l'acide nucléique sont disposés exclusivement à sa périphérie. Il semble qu'il en soit de même pour les gros granules cytoplasmiques, puisqu'ils peuvent perdre la plus grande partie de leur acide nucléique sans que leur vitesse de sédimentation, c'est-à-dire leurs dimensions, ne s'en trouve modifiée de façon massive. Enfin le fait mis en évidence par FRIEDRICH-FRESKA que, lors d'une mutation du virus, toutes les unités qui le constituent se trouvent modifiées, trouve son explication la plus simple dans l'hypothèse que ce sont les unités élémentaires du virus qui se multiplient pour s'associer ensuite et constituer de nouvelles particules. De même la grande abondance des granules très petits dans les œufs, les embryons jeunes et les organes de l'adulte susceptibles de présenter de brusques phénomènes de croissance, plaide en faveur de l'idée que ces granules sont le point de départ de l'édification des granules plus gros.

Tous ces rapprochements nous paraissent fort suggestifs et susceptibles de conduire à une hypothèse de travail que nous ne présentons qu'avec les réserves d'usage.

La synthèse des protéines paraissant liée à la présence d'acide ribonucléique, nous sommes amenés à considérer que cette synthèse pourrait s'effectuer par la multiplication des petits granules, qui sont les plus riches en ce corps et ressemblent le plus aux virus par leur pauvreté en ferments. Par analogie avec ce que paraît indiquer l'étude d'un ribonucléoprotéide infiniment mieux connu, le virus de la mosaïque du tabac, nous pourrions considérer que les petites unités ainsi constituées s'accrochent les unes aux autres pour constituer des édifices réguliers de forme allongée (biréfringence de flux des microsomes). Les particules qui s'édifient ainsi devenant de plus en plus volumineuses présentent en leur centre des phénomènes de remaniements moléculaires qui se traduisent par une disparition presque complète de l'acide ribonucléique, l'édification de structures susceptibles de catalyser de multiples réactions chimiques, l'établissement de liaisons nouvelles entre protéines assurant au centre de la particule son insolubilité caractéristique dans les solutions salines concentrées ou les solutions alcalines⁸. Pendant que pareil remaniement s'accomplit, de nouvelles particules nucléoprotéiques viennent s'accrocher à la périphérie et le processus se poursuit jusqu'à ce que soient constituées les énormes mitochondries, terme de toute cette évolution.

La discussion approfondie de pareille hypothèse ne paraît pas justifiée à l'heure actuelle. Notons qu'elle pourrait trouver un aliment dans la remarquable découverte que la centrifugation fractionnée de solutions d'un virus végétal cristallisé (turnip

yellow mosaic virus) permet la séparation d'un nucléoprotéide et d'une protéine cristallisant de manière identique, contenant les mêmes acides aminés et présentant des caractères immunologiques tout voisins. Seul le nucléoprotéide est infectieux. Son inoculation provoque cependant la synthèse de la protéine dépourvue d'acide nucléique¹⁸. De même l'injection au ver à soie du virus de la grasserie entraîne la synthèse du virus lui-même, mais également d'une protéine dépourvue d'acide nucléique, sérologiquement distincte des protéines de l'hôte, et formant 82 % du poids des cristaux nucléaires caractéristiques de la maladie¹⁹. Dans l'un et l'autre cas, l'acide nucléique étant indispensable à la transmission de la maladie et vraisemblablement à la multiplication du virus, il est difficile d'échapper à la conclusion qu'il ne peut disparaître de la molécule qu'une fois celle-ci édifiée.

RÉSUMÉ

En solution saline concentrée les granules ribonucléoprotéiques du cytoplasme se fragmentent en éléments de vitesses de sédimentation diverses, dont la constitution chimique varie avec la taille. Les fragments les plus petits sont caractérisés par leur haute teneur en acide ribonucléique, leur grande activité thromboplastique, leur pauvreté en ferments. Une hypothèse tendant à rendre compte de ces faits est présentée.

SUMMARY

In a concentrated saline solution the ribonucleoproteic granules of the cytoplasm separate into fragments of different sedimentation velocities and of different chemical composition according to their size. The smallest fragments are characterized by a large amount of ribonucleic acid, a considerable thromboplastic activity and a small amount of enzymes. A hypothesis trying to account for these facts is put forward.

ZUSAMMENFASSUNG

In konzentrierter Kochsalzlösung spalten die Ribonukleoproteinkörnchen des Zytoplasmas sich in Teile mit verschiedenen Sedimentationsgeschwindigkeiten, deren chemische Zusammensetzung mit ihrer Grösse variiert. Die kleinsten Fragmente sind durch hohen Ribonukleinsäuregehalt, grosse thromboplastische Aktivität, und Armut an Fermenten gekennzeichnet. Eine Hypothese, die diese Tatsachen erklären könnte, wird dargelegt.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ A. CLAUDE, *J. Exp. Med.*, 84 (1946) 51, 61.
- ² G. HOGEBOOM, W. SCHNEIDER ET G. PALLADE, *J. Biol. Chem.*, 172 (1948) 619.
- ³ H. CHANTRENNE, *Biochim. Biophys. Acta*, 1 (1947) 437.
- ⁴ A. MIRSKY ET H. RIS, *J. Gen. Physiol.*, 31 (1947) 7.
- ⁵ R. JEENER, *Compt. rend. soc. biol.*, 140 (1946) 1103.
- ⁶ J. BRACHET ET R. JEENER, *Enzymologia*, 11 (1944) 196.
- ⁷ W. SCHNEIDER, *J. Biol. Chem.*, 161 (1945) 293.
- ⁸ R. JEENER, *Experientia*, 2 (1946) 458; *Actualités biochimiques*, 10 (1947) 88.
- ⁹ A. KLECZKOWSKI, *Biochem. J.*, 40 (1946) 677.
- ¹⁰ R. FEULGEN ET K. VOIT, *Arch. ges. Physiol.*, 206 (1924) 389.
- ¹¹ C. DUMAZERT ET R. POGGY, *Bull. soc. chim. biol.*, 21 (1939) 1381.
- ¹² E. HAMMARSTEN, *Acta Med. Scand.*, 128, suppl. 196 (1947) 634.
- ¹³ J. BRACHET ET H. CHANTRENNE, *Acta Biol. Belg.*, 2 (1944) 451.
- ¹⁴ L. MONNÉ, *Experientia*, 2 (1946) 153.
- ¹⁵ J. FOLCH ET L. UZMAN, *Federation Proc.*, 7 (1948) 155.
- ¹⁶ G. SCHRAMM, *Z. Naturforsch.*, 2b (1947) 112, 250.
- ¹⁷ H. FRIEDRICH-FRESKA, G. MELCHERS ET G. SCHRAMM, *Biol. Zentr.*, 65 (1946) 188. (Cité d'après SCHRAMM¹⁶).
- ¹⁸ R. MARKHAM, R. MATTHEWS ET K. SMITH, *Nature*, 162 (1948) 88.
- ¹⁹ G. BERGOLD, *Z. Naturforsch.*, 2b (1947) 122.

Reçu le 22 septembre 1948