

## CONTRIBUTION À L'ÉTUDE BIOCHIMIQUE COMPARÉE DE DIVERSES DÉSOXYRIBONUCLÉOPROTÉINES D'ORIGINE ANIMALE

par

COLETTE VENDRELY, ALICE KNOBLOCH ET ROGER VENDRELY

*Centre de Recherches sur les Macromolécules, Strasbourg (France)*

Les travaux sur les mutations dirigées chez les bactéries ont mis l'accent sur le rôle important de l'acide désoxyribonucléique comme substratum chimique des caractères héréditaires. La conception du gène-désoxyribonucléique a pu être opposée à celle du gèneprotéine à cette occasion. Cependant l'étude de la nature et du rôle de la fraction protéique constamment associée à l'ADN présente un intérêt considérable. Depuis KOSSEL, les travaux de nombreux chercheurs ont donné des indications sur la composition chimique de nombreuses protéines nucléaires, isolées tant des cellules somatiques que des spermatozoïdes chez de nombreuses espèces animales. Mais, les méthodes d'extraction utilisées sont en général assez brutales (emploi de solution acides) et ne permettent pas de connaître ces protéines dans leur rapport avec l'ADN, telles qu'elles se trouvent dans les cellules vivantes. Les méthodes d'extraction à forte concentration saline ont marqué un progrès considérable à cet égard, en permettant l'isolement du complexe nucléoprotéique. Des deux éléments de ce complexe, l'ADN apparaît dans la cellule comme un élément stable, sa quantité par noyau est une constante caractéristique de l'espèce étudiée<sup>6</sup>; d'autre part, les expériences de mutation dirigées indiquent que la molécule d'ADN porterait la spécificité du gène. Il apparaît donc logique d'étudier, *en fonction de l'ADN*, les variations possibles de la protéine qui lui est associée et les modalités de la liaison de ces éléments. La partie protéique du complexe, en effet, apparaît bien moins stable que la partie nucléique. Si l'ADN, par ses propriétés de constance et de spécificité d'action, se présente comme l'élément *conservateur* des propriétés héréditaires, la protéine plus mobile pourrait représenter l'élément actif, tourné vers la *réalisation* des caractères héréditaires.

L'arginine est un constituant hautement caractéristique de la protéine liée à l'acide désoxyribonucléique, puisque, d'après les données de la littérature les histones renferment en moyenne 13 à 15 % de cet acide aminé et certaines protamines jusqu'à 90 %. Le dosage de l'arginine dans des nucléoprotéines isolées dans un état aussi proche que possible de l'état naturel peut donc donner d'utiles indications sur la composition de ces nucléoprotéines et sur les variations possibles de cette composition, lorsque l'on passe d'une espèce animale à une autre espèce animale ou des cellules somatiques aux spermatozoïdes dans la même espèce. Pour essayer d'atteindre ce but, nous avons envisagé deux méthodes dont aucune n'est absolument précise, mais dont la confrontation des résultats peut permettre, pensons nous, de définir autant que possible la composition réelle des nucléoprotéines.

La première méthode consiste en l'analyse de *nucléoprotéines isolées*; la seconde méthode est indirecte: on dose l'ADN et l'arginine de *noyaux isolés*. Nous avons déjà rapporté un certain nombre de résultats obtenus par cette seconde méthode et nous les rappellerons dans cette note. Dans le premier cas, on peut penser que les techniques d'isolement des nucléoprotéines risquent de modifier dans une certaine mesure ces macromolécules qui pourraient perdre une fraction de leurs constituants. Dans le second cas, au contraire, on dose tout l'ADN et toute l'arginine de la chromatine, puisque l'on s'adresse à des noyaux entiers. L'ADN, ainsi mesuré, répond exactement à l'ADN de la désoxyribonucléoprotéine, puisqu'il est exclusivement localisé dans la chromatine des chromosomes. Par contre, il peut se trouver de l'arginine hors de la chromatine. Le choix du matériel d'étude permet de minimiser cette cause d'erreur par excès.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel

Nous avons étudié plusieurs échantillons de désoxyribonucléoprotéines isolées de thymus, foie et rein de veau et de testicule de taureau, des nucléoprotéines d'érythrocytes et de foie de coq, et enfin des nucléoprotéines de poissons provenant d'érythrocytes et de sperme.

Pour les études sur noyaux entiers, nous avons choisi des noyaux pour lesquels l'erreur provenant de l'arginine extra-chromatique doit être aussi petite que possible. Cette arginine peut être contenue dans le nucléole, dans le suc nucléaire ou dans des résidus cytoplasmiques qui pourraient adhérer encore aux noyaux isolés. Les noyaux d'érythrocytes de poissons, isolés par laquage du sang, sont facilement séparés du cytoplasme; ils sont denses, riches en chromatine et pauvres en suc nucléaire. En ce qui concerne le sperme de poisson, la chromatine est également dense dans la tête du spermatozoïde, mais il est possible que la pièce intermédiaire contienne un peu d'arginine. Enfin les noyaux de thymus de Veau ont été isolés en ayant recours à la technique à l'acide citrique<sup>6</sup>, mais en utilisant une solution d'acide citrique ( $M/18$ ) plus diluée que pour l'étude du seul ADN, et en opérant le plus rapidement possible afin d'éviter une solubilisation possible des protéines basiques par contact avec l'acide. Les noyaux ainsi obtenus risquent évidemment d'être moins bien débarrassés de leur cytoplasme que les noyaux isolés par la technique habituelle.

### 2. Méthodes d'isolement des désoxyribonucléoprotéines

Nous avons utilisé pour l'isolement des DNP la méthode d'extraction saline utilisée par MIRSKY ET POLLISTER<sup>5</sup>, nous bornant à y adjoindre l'emploi d'inhibiteurs de dépolymérasées, citrate ou fluorure. Les purifications ont été menées rapidement, afin d'éviter autant que possible une modification quantitative des composants de la DNP. En général nous avons effectué 3 ou 4 dissolutions et reprécipitations successives. Dans certains cas, que nous indiquerons au passage la purification a été plus poussée afin de nous rendre compte dans quelle mesure un tel traitement pouvait affecter sensiblement les résultats. Toutes les manipulations et centrifugations ont été effectuées à basse température ( $0^{\circ}$  à  $+2^{\circ}$  C).

### 3. Méthodes d'analyse

L'azote total a été déterminé par micro-Kjeldahl, le phosphore par la méthode de Briggs. L'ADN a été dosé par son phosphore et par son sucre (méthode colorimétrique de DISCHE<sup>1</sup>). L'arginine a été dosée par la technique colorimétrique de DUMAZERT ET POGGI<sup>2</sup> dérivée de la méthode de Sakaguchi.

## RÉSULTATS

### 1. Etude des noyaux somatiques

a. *Nucléoprotéines*. L'examen du Tableau I montre qu'en ce qui concerne les nucléoprotéines extraites de thymus, de foie et de rein de veau, de testicule de taureau, les teneurs en acide désoxyribonucléique et en arginine sont remarquablement constantes. Pour ces produits le rapport des quantités moléculaires entre l'arginine

TABLEAU I  
ÉTUDE ANALYTIQUE DE DÉSOXYRIBONUCLÉOPROTÉINES ANIMALES

| Espèce animale  | Matériel étudié         | En % du poids sec |          | Molécule d'arginine par atome de P | N total % du poids sec |
|-----------------|-------------------------|-------------------|----------|------------------------------------|------------------------|
|                 |                         | ADN               | Arginine |                                    |                        |
| Veau<br>Taureau | Thymus 2 précipitations | 39.8              | 7.12     | 0.32                               | 16.8                   |
|                 | Thymus 3 précipitations | 44.0              | 6.88     | 0.28                               | 16.6                   |
|                 | Thymus 8 précipitations | 50.0              | 6.56     | 0.24                               | 16.2                   |
|                 | Thymus 2 précipitations | 43.7              | 6.68     | 0.27                               | 16.9                   |
|                 | Thymus 4 précipitations | 47.9              | 7.10     | 0.26                               | 16.6                   |
|                 | Thymus 7 précipitations | 49.1              | 6.82     | 0.25                               | 16.7                   |
|                 | Thymus 4 précipitations | 47.3              | 6.10     | 0.23                               | 16.1                   |
|                 | Thymus 8 précipitations | 48.1              | 6.05     | 0.22                               | 15.4                   |
|                 | Foie                    | 47.0              | 6.94     | 0.26                               | 16.6                   |
| Coq             | Rein                    | 49.5              | 6.46     | 0.23                               | 16.8                   |
|                 | Testicule               | 43.9              | 6.71     | 0.27                               | 16.3                   |
|                 | Testicule               | 47.0              | 6.60     | 0.25                               | —                      |
|                 | Erythrocytes            | 43.9              | 8.26     | 0.34                               | 16.5                   |
| Saumon          | Erythrocytes            | 48.0              | 5.40     | 0.20                               | 14.6                   |
|                 | Foie                    | 39.8              | 7.60     | 0.34                               | 16.0                   |
|                 | Sperme                  | 61.6              | 27.20    | 0.79                               | 19.2                   |
|                 | Erythrocytes            | 54.5              | 6.93     | 0.23                               | 15.7                   |
|                 | Erythrocytes            | 50.3              | 6.47     | 0.23                               | 15.2                   |
| Truite          | Sperme                  | 66.0              | 26.30    | 0.72                               | 18.7                   |
|                 | Sperme                  | 67.0              | 25.00    | 0.67                               | 19.0                   |
|                 | Sperme                  | 65.5              | 27.30    | 0.75                               | 20.2                   |
|                 | Erythrocytes            | 46.1              | 5.41     | 0.21                               | 16.5                   |
|                 | Erythrocytes            | 48.6              | 5.91     | 0.21                               | 14.8                   |
| Brochet         | Sperme                  | 66.8              | 17.30    | 0.46                               | 16.8                   |
|                 | Sperme                  | 60.7              | 16.23    | 0.48                               | 17.4                   |
|                 | Erythrocytes            | 50.0              | 7.96     | 0.28                               | 16.2                   |
|                 | Erythrocytes            | 50.0              | 6.84     | 0.25                               | 15.2                   |
| Carpe           | Sperme                  | 47.0              | 7.30     | 0.28                               | 16.2                   |
|                 | Erythrocytes            | 47.8              | 5.45     | 0.20                               | 14.7                   |
|                 | Sperme (non mur)        | 41.4              | 7.00     | 0.30                               | 16.0                   |

et le phosphore avoisine 0.25, on aurait donc très sensiblement 1 molécule d'arginine pour 4 atomes de phosphore (1 tétranucléotide). La cohésion de ces résultats semble indiquer une stabilité du complexe nucléoprotéique beaucoup plus grande qu'on ne l'admet généralement et l'on peut imaginer une liaison possible entre l'ADN et la partie protéique par l'intermédiaire de l'arginine et du phosphore. Cette valeur du rapport Arginine/P de 0.25 est atteinte, semble-t-il, lorsque la purification est suffisante. La première nucléoprotéine qui figure au Tableau I n'a été purifiée que deux fois et le rapport obtenu: 0.32, semble trop élevé. Par contre une purification très poussée (8 précipitations successives) ne semble pas modifier très sensiblement le rapport 0.25. Tout se passe comme si les premiers stades de la purification éliminaient l'arginine cytoplasmique et l'arginine nucléaire non chromosomique. Après trois

centrifugations et précipitations le produit semble un complexe relativement stable que les purifications ultérieures ne semblent pas affecter beaucoup. Nous nous proposons dans une publication prochaine de discuter de la vraie nature de ce complexe et de sa stabilité.

L'étude des nucléoprotéines extraites d'érythrocytes de coq et d'érythrocytes de plusieurs espèces de poissons révèle chez ces substances un rapport arginine phosphore, également proche de 0.25. Les différences rencontrées dans ce rapport pour des nucléoprotéines bien purifiées pourraient s'expliquer par une fragilité plus ou moins grande des DNP suivant l'espèce considérée: C'est le cas notamment d'un échantillon de DNP provenant d'érythrocytes de coq dont la purification a été très poussée, et d'un autre échantillon provenant d'érythrocytes de tanche (Rapports: 0.20). On pourrait penser ici à un début de dégradation de la molécule. Il est possible d'imaginer aussi que les différences observées décèleraient des différences spécifiques des diverses molécules nucléoprotéiques constituant l'ensemble de l'édifice génique de chaque espèce animale. La position et le nombre de liaisons entre l'acide nucléique et la protéine, où interviendrait l'arginine, pourraient dépendre d'une structure spécifique de la macromolécule d'acide nucléique. Dans l'état actuel de nos connaissances il n'est pas possible de trancher la question.

b. *Noyaux isolés*. Si nous considérons les résultats obtenus sur les noyaux somatiques isolés (Tableau II), nous voyons que le rapport des quantités moléculaires, Arginine/Phosphore, est constamment plus élevé que le rapport moyen 0.25 obtenu généralement pour les nucléoprotéines isolées. Puisque l'ADN est confiné strictement dans la chromatine, sa teneur par noyau doit correspondre exactement à la quantité d'ADN contenue dans la nucléoprotéine de ce noyau, l'élévation du rapport est donc due à

TABLEAU II  
ETUDE ANALYTIQUE DE NOYAUX ET SPERMATOZOIDES ISOLÉS

| <i>Espèce animale</i> | <i>Matériel étudié</i> | <i>ADN par noyau (<math>\times 10^{-6}\gamma</math>)</i> | <i>Arginine par noyau (<math>\times 10^{-6}\gamma</math>)</i> | <i>Molécule d'arginine par atome de phosphore</i> |
|-----------------------|------------------------|--|---|---|
| Truite                | Erythrocyte            | 4.90   | 0.96  | 0.35  |
|                       | Sperme                 | 2.45   | 1.50  | 1.10  |
| Brochet               | Erythrocyte            | 1.70   | 0.34  | 0.36  |
|                       | Sperme                 | 0.85   | 0.53  | 1.12  |
| Carpe                 | Erythrocyte            | 3.20   | 0.60  | 0.34  |
|                       | Sperme                 | 1.60   | 0.35  | 0.39  |
| Tanche                | Erythrocyte            | 1.70   | 0.34  | 0.36  |
|                       | Sperme                 | 0.85   | 0.18  | 0.38  |
| Perche                | Erythrocyte            | 2.00   | 0.37  | 0.33  |
| Barbeau               | Erythrocyte            | 3.40   | 0.64  | 0.34  |
| Gardon                | Erythrocyte            | 1.90   | 0.36  | 0.34  |
| Veau                  | Thymus                 | 6.40   | 1.49  | 0.41  |
| Taureau               | Sperme                 | 3.20   | 2.16  | 1.21  |
| Coq                   | Erythrocyte            | 2.20   | 0.45  | 0.37  |
|                       | Sperme                 | 1.10   | 0.78  | 1.27  |

une certaine proportion d'arginine présente dans le noyau et qui s'ajoute ici à l'arginine liée à l'ADN. Cette arginine non chromosomique est probablement localisée en partie dans le nucléole, elle semble être d'importance à peu près égale dans tous les noyaux d'érythrocytes étudiés car le rapport arginine/phosphore pour ces noyaux reste à peu près constant dans toutes les espèces étudiées, malgré des variations assez considérables de l'ADN par noyau (de  $1.7 \cdot 10^{-6} \gamma$  chez le Brochet à  $4.9 \cdot 10^{-6} \gamma$  chez la Truite par exemple). Dans le cas du thymus de veau, l'isolement des noyaux ayant été effectué très rapidement pour les raisons indiquées précédemment, il restait certainement un peu de cytoplasme adhérent aux noyaux. Il s'ajoute donc ici une cause d'erreur possible due à la présence d'arginine cytoplasmique.

## 2. Etude du sperme

a. *Nucléoprotéines*. Si nous envisageons à présent les nucléoprotéines extraites de spermatozoïdes de poissons (Tableau I), les résultats sont bien différents d'une espèce à l'autre. Chez la Carpe, le rapport arginine/phosphore est le même pour les nucléoprotéines d'origine somatique (érythrocytes) que pour la nucléoprotéine du sperme (approximativement 1 molécule d'arginine pour 4 atomes de Phosphore). Chez la Truite, on assiste à un accroissement considérable de la teneur en arginine par rapport à l'ADN. La relation entre les quantités moléculaires d'arginine et de phosphore est complètement modifiée. Au lieu d'une molécule d'arginine pour 4 atomes de P, on a 3 molécules d'arginine pour 4 atomes de Phosphore. FELIX<sup>3</sup>, qui a isolé la désoxyribonucléoprotéine du sperme de trois espèces de Truite par dissolution des têtes de spermatozoïdes dans du ClNa à 10% et précipitation par dilution sans purification ultérieure, a trouvé dans ces produits une quantité d'arginine encore plus élevée donnant un rapport de quantités moléculaires, 4 molécules d'arginine pour 4 atomes de phosphore. Il est donc vraisemblable qu'une purification un peu poussée élimine une fraction d'arginine du matériel initial, soit que cette fraction soit une portion intégrante mais labile de la DNP, soit qu'elle représente une impureté adsorbée sur le précipité initial et dont on se débarrasse au cours des purifications ultérieures. Enfin chez le Brochet le rapport est également changé. Il y a accroissement de l'arginine, mais dans une proportion moindre que dans le cas de la Truite. on aurait 2 molécules d'arginine pour 4 atomes de phosphore.

b. *Spermatozoïdes entiers*. Si nous considérons les résultats obtenus sur les spermatozoïdes entiers (Tableau II), nous voyons que chez la Carpe, comme chez la Tanche, lorsqu'on passe de la cellule somatique au spermatozoïde la teneur du noyau en ADN diminue de moitié et la teneur absolue en arginine subit une diminution parallèle. Le rapport arginine/phosphore est donc le même dans les érythrocytes et dans les spermatozoïdes, comme dans le cas des DNP isolés de ces mêmes cellules. La valeur trouvée pour les érythrocytes et spermatozoïdes, entiers est seulement un peu plus élevée que pour les nucléoprotéines isolées, vraisemblablement à cause de l'arginine en excès dosée dans les noyaux entiers.

Chez la Truite, les résultats sur spermatozoïdes isolés font apparaître une synthèse très marquée d'arginine. Alors que la teneur absolue en ADN de ces spermatozoïdes est la moitié de celle des érythrocytes, leur teneur absolue en arginine devient, par contre, supérieure à la teneur en arginine des érythrocytes. On atteint ici le rapport 4 molécules d'arginine pour 4 atomes de phosphore. Ce rapport, concernant le spermatozoïde entier, est en accord avec les résultats de FELIX<sup>3</sup> obtenus

sur les noyaux de spermatozoïdes de Truite séparés dans l'eau distillée. Rappelons que cet auteur retrouve également la même relation (4/4) dans le précipité fibreux qu'il extrait des spermatozoïdes.

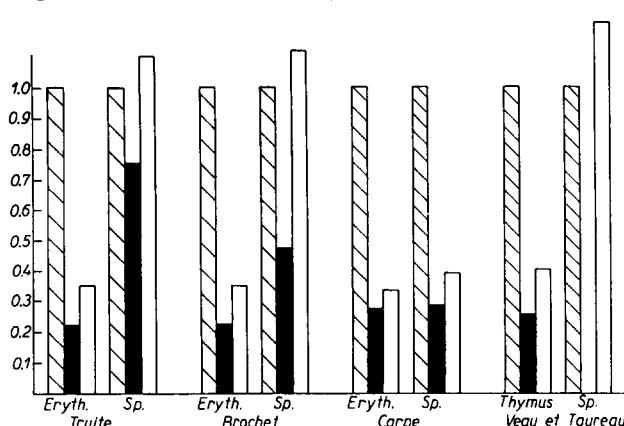


Fig. 1. Histogramme indiquant les variations de l'arginine (en molécules) par rapport à 1 atome de phosphore dans la cellule somatique (érythrocyte) et le sperme de quelques espèces animales. Phosphore; Arginine (valeur obtenue par étude de la DNP); Arginine (valeur obtenue par étude du noyau entier).

thérocytes 1 molécule d'arginine pour 4 atomes de phosphore, on trouve pour les DNP isolées des spermatozoïdes, 3 molécules d'arginine pour 4 atomes de phosphore dans le cas de la Truite, et seulement 2 molécules d'arginine pour 4 atomes de phosphore dans le cas du Brochet.

Cette différence dans les résultats entre DNP isolées et noyaux ou spermatozoïdes isolés peut être interprétée de deux façons différentes. Dans les spermatozoïdes de Brochet, l'arginine non génique (non liée à l'ADN) serait bien plus importante que chez la Truite, ou bien, on pourrait penser que la DNP de sperme de Brochet contiendrait effectivement la même proportion d'arginine que la DNP de Truite, mais que, plus fragile, elle perdrait une partie de cette arginine au cours de l'isolement. On devrait alors admettre que cette fraction labile qui serait ainsi perdue est une fraction bien déterminée de la molécule car la proportion d'arginine dans la DNP de sperme de Brochet s'est montrée exactement la même dans les deux expériences d'isolement que nous avons effectuées.

KOSSEL<sup>4</sup> a classé la protamine de Brochet dans la catégorie des monoprotamines comme celles du Saumon et de la Truite. Or, bien que les résultats analytiques obtenus sur spermatozoïdes entiers soient tout à fait comparables chez la Truite et le Brochet, les DNP, que nous avons isolées du sperme de Brochet, ont une teneur en arginine nettement inférieure à celle du sperme de Truite. Aucun travail, à notre connaissance n'a eu pour objet l'examen comparé de produits isolés par la méthode aux acides de KOSSEL, livrant directement des protamines et de produits isolés par la méthode d'extraction saline livrant le complexe nucléoprotamine. Dans le cas du sperme de Brochet, les fractions protéiques isolées par les deux méthodes semblent nettement différentes l'une de l'autre.

Considérons enfin le cas du sperme de Taureau. La méthode d'extraction saline ne permet pas d'en extraire la moindre trace de DNP. Nous pouvons néanmoins

qu'il extrait des spermatozoïdes. Nous avons discuté plus haut ce résultat. D'autre part, nous voyons que pour les spermatozoïdes entiers la synthèse d'arginine est aussi élevée chez le Brochet que chez la Truite. Le rapport 4 molécules d'arginine pour 4 atomes de Phosphore est ici également atteint.

Or nous avons vu par l'étude des nucléoprotéines isolées que les deux espèces Truite et Brochet se comportaient différemment. Alors que chez la Truite et le Brochet le rapport Arginine/Phosphore indique dans les DNP d'éry-

tirer quelques renseignements sur cette nucléoprotéine de l'examen des résultats quantitatifs obtenus par analyse de spermatozoïdes entiers. Pour le veau et le taureau, la relation arginine/phosphore est du même ordre que pour la Truite et le Brochet tant dans les noyaux somatiques (thymus) que dans les spermatozoïdes, ce qui décèle une synthèse d'arginine du même ordre quand on passe des cellules somatiques aux cellules sexuelles. Tout porte donc à croire que la nucléoprotéine du sperme de taureau est très comparable, (au moins en ce qui concerne sa teneur en acide aminé basique, arginine), à la nucléoprotéine du sperme de Truite ou à celle du sperme de Brochet.

Nous avons pensé enfin que la nucléoprotéine isolée du testicule de taureau pourrait présenter un certain intérêt, notamment en ce qui concerne la formation de la nucléoprotéine du sperme à partir de la nucléoprotéine somatique. En effet, les spermatozoïdes contenus dans le testicule ne sont pas atteints par l'extraction saline. Nous l'avons vérifié en colorant au Feulgen des résidus de tissu testiculaire extrait par une solution saline. Tous les noyaux sont devenus Feulgen négatifs à l'exclusion des têtes de spermatozoïdes qui sont seules colorées. Tout se passe donc comme si l'on extrayait la nucléoprotéine, d'une part des cellules somatiques du testicule (cellules interstitielles, cellules de Sertoli, *etc.*...), d'autre part des cellules de la lignée spermatogénétique jusqu'aux spermatides. Comme tout porte à penser que la nucléoprotéine se transforme au cours de la spermatogénèse, on pouvait espérer que la nucléoprotéine extraite du testicule pourrait faire apparaître un aspect de cette transformation. Or, il n'en est rien. La nucléoprotéine extraite du testicule est identique à la nucléoprotéine extraite du thymus en ce qui concerne les teneurs en ADN et en arginine. Il faut donc admettre, soit que l'enrichissement en arginine se fait à la fin du processus de formation du spermatozoïde, au moment où l'extraction saline ne l'atteint plus, soit que la fraction d'arginine qui vient s'ajouter à la DNP somatique reste particulièrement labile durant la spermatogénèse et soit éliminée au cours de l'extraction.

#### RÉSUMÉ

L'étude de la teneur en ADN et en arginine de désoxyribonucléoprotéines de diverses origines et de noyaux isolés et la considération du rapport: molécules d'arginine/atomes de phosphore, nous ont conduits aux constatations suivantes: (*cf. Histogramme*).

1. Le rapport arginine/phosphore est du même ordre de grandeur dans toutes les nucléoprotéines somatiques étudiées et dans certaines nucléoprotéines du sperme (Carpe). Ce rapport est d'environ 0.25 et correspond à 1 molécule d'arginine pour 4 atomes de phosphore.

Dans les noyaux isolés, ce rapport est également du même ordre de grandeur pour tous les noyaux somatiques étudiés et pour certains spermatozoïdes (Carpe, Tanche), mais sa valeur est constamment plus élevée que dans le cas des nucléoprotéines isolées du même matériel.

2. Lorsque l'on passe des cellules somatiques aux spermatozoïdes, deux types de processus apparaissent en ce qui concerne l'évolution de la teneur en arginine des DNP.

a. pour certaines espèces animales (Carpe), la relation arginine/phosphore ne change pas. Dans la nucléoprotéine du spermatozoïde comme dans celle du noyau d'érythrocyte le rapport 1 molécule d'arginine pour 4 atomes de phosphore reste le même.

b. chez d'autres espèces (Truite, Brochet et vraisemblablement Taureau), la relation est modifiée, la proportion d'arginine augmente considérablement. On a par exemple 3 molécules d'arginine (et peut être 4) pour 4 atomes de phosphore dans le spermatozoïde de Truite.

Chez le Brochet, l'augmentation de la proportion d'arginine apparaît moindre. On aurait ici seulement 2 molécules d'arginine pour 4 atomes de phosphore.

Si l'on considère les noyaux d'érythrocytes et spermatozoïdes entiers, au contraire, l'augmentation de la proportion d'arginine est la même chez la Truite et le Brochet, on passe de la relation 1/4 (érythrocyte) à la relation 4/4 (spermatozoïde). La signification possible de ces résultats est discutée.

## SUMMARY

The amounts of DNA and of arginine in deoxyribonucleoproteins from various sources and in isolated nuclei were studied. With regard to the ratio, molecules of arginine: atoms of phosphorus the authors report the following data.

1. The ratio arginine: phosphorus is of the same order of magnitude in all the somatic nucleoproteins thus studied and also in some of the nucleoproteins of sperm (Carp sperm for instance). This ratio is about 0.25 and corresponds to the proportion of 1 molecule of arginine per 4 atoms of phosphorus.

In entire isolated nuclei, this ratio is also of the same order of magnitude for all the somatic nuclei studied so far and for some sperms (carp, tench), but it is constantly higher than in the case of the nucleoproteins isolated from the same material.

2. When one passes from the somatic cells to spermatozoa, two different process appear for the evolution of the amount of arginine of the DNP.

a. In certain animal species (carp) the ratio arginine/phosphorus remains unchanged. In the sperm nucleoprotein as well as in the nucleoprotein of the erythrocyte nucleus, the relation is 1 molecule of arginine for 4 atoms of phosphorus.

b. In other species (trout, pike and very likely bull) this ratio is markedly modified, the amount of arginine increased considerably. There are, for instance 3 mol. of arginine (and perhaps 4) for 4 atoms of phosphorus in Trout.

In pike, the increase of the amount of arginine seems to be less important. There would be only 2 mol. of arginine for 4 atoms of phosphorus.

On the contrary, when entire erythrocyte nuclei and spermatozoa are considered the increase of the amount of arginine is the same in trout and pike. The relation found here is 1 mol. of arginine/4 atoms of P in erythrocyte and 4 mol. of arginine for 4 atoms of phosphorus in spermatozoa. The possible significance of these datas is discussed.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung des DNS- und Arginingehaltes von Desoxyribonukleoproteinen verschiedenen Ursprungs, sowie von isolierten Zellkernen, — einerseits, und die Betrachtung des Quotienten Arginin-Moleküle/Phosphoratom, andererseits, haben zu folgenden Feststellungen geführt: (cf. Histogramm).

1. Der Quotient Arginin/Phosphor ist für alle untersuchten somatischen Nukleoproteine und für bestimmte Nukleoproteine aus Karpfensperma von der gleichen Größenordnung. Dieser Quotient beträgt ungefähr 0.25 und entspricht 1 Molekül Arginin für 4 Phosphoratome.

Was die isolierten Zellkerne betrifft, so ist dieser Quotient bei allen untersuchten somatischen Zellkernen und bei bestimmten Spermatozoiden (Karpfen, Schleie) ebenfalls von der gleichen Größenordnung: in diesem Falle ist jedoch der Quotientwert ständig höher als bei den aus demselben Material isolierten Nukleoproteinen.

2. Wenn man somatische Zellen mit Spermatozoiden vergleicht, stellt man zwei verschiedene Entwicklungstypen des Arginingehaltes der Desoxyribonukleoproteine fest:

a. bei bestimmten Tiergattungen (Karpfen) bleibt das Arginin/Phosphor-Verhältnis unverändert. Im Nukleoprotein des Spermatozoiden, sowie des Erythrozytenkernes finden wir denselben Quotient: 1 Molekül Arginin für 4 Phosphoratome.

b. Bei anderen Gattungen (Forelle, Hecht und wahrscheinlich Stier) stellt man ein verändertes Verhältnis fest, indem nämlich die Argininproportion wesentlich ansteigt. So hat man z.B. 3 Arginin-Moleküle (vielleicht sogar 4) für 4 Phosphoratome bei Forellenspermatozoiden.

Im Falle des Hechtes scheint die Erhöhung der Argininproportion geringer zu sein. Man soll hier nur 2 Argininmoleküle für 4 Phosphoratome gefunden haben.

Wenn man nun im Gegenteil die Erythrozytenkerne und vollständigen Spermatozoiden betrachtet, ist die Erhöhung der Argininproportion bei Forelle und Hecht die gleiche: das Verhältnis 1/4 (Erythrozyt) ändert sich auf 4/4 (Spermatozoid).

Die mögliche Bedeutung dieser Ergebnisse wird erörtert.

## BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> Z. DISCHE, *Mikrochemie*, 8 (1930) 4.
- <sup>2</sup> C. DUMAZERT ET R. POGGI, *Bull. soc. chim. biol.*, 21 (1939) 1381.
- <sup>3</sup> K. FELIX, *Experientia*, 8 (1952) 312.
- <sup>4</sup> A. KOSSEL, *Protamine und Histone*, Leipzig und Wien, 1929.
- <sup>5</sup> A. E. MIRSKY ET A. W. POLLISTER, *J. Gen. Physiol.*, 30 (1946) 117.
- <sup>6</sup> C. VENDRELY, *Bull. biol. France et Belg.*, 86 (1952) 1.
- <sup>7</sup> R. VENDRELY ET C. VENDRELY, *Nature*, 172 (1953) 30.

Reçu le 26 juillet 1955