

225 et 300 m μ , au spectrophotomètre de Beckman; il ne montre pratiquement pas l'accroissement de l'extinction aux faibles longueurs d'onde que donnent les impuretés protéiques. Des extraits plus concentrés sont chromatographiés sur papier par le solvant propanol-NH₄OH-H₂O¹.

Trois espèces d'anoures et autant d'urodèles ont été étudiées à divers stades. Toutes, au début de leur développement, ont donné des extraits présentant un maximum d'absorption unique vers 250 m μ et non à 260 m μ , comme on aurait pu s'y attendre si le composé purique prédominant avait été de l'acide adénylique ou de l'acide adénosine triphosphorique. L'espèce *Rana fusca* a été étudiée d'une manière plus approfondie que les autres: nous avons pu constater que, jusqu'au stade du bourgeon caudal, l'embryon ne contient que des traces d'acide adénosine-5-phosphorique. Aucun autre nucléotide n'a pu y être décelé, pas plus au moment où se fait l'induction qu'aux autres stades du développement. Par contre, nous avons toujours observé d'importantes quantités d'hypoxanthine et de guanine jusqu'au moment de l'éclosion: ce sont ces bases puriques libres qui sont responsables de l'absorption avec un maximum à 250 m μ . L'hypoxanthine a pu être identifiée avec certitude par oxydation enzymatique selon la méthode de KALCKAR². Ces deux purines ont aussi été caractérisées chez le triton (*Triton alpestris*), et il est probable qu'elles sont des constituants normaux des œufs de tous les batraciens. Ces purines libres se trouvent déjà en quantité maxima dans les oocytes mûrs et elles disparaissent progressivement au cours du développement à partir de la gastrulation. Au moment de l'éclosion, il ne reste que 30 à 40% de la quantité présente dans l'œuf fécondé. Une importante synthèse d'acide adénosine-5-phosphorique commence au stade du bourgeon caudal, phénomène qui pourrait peut-être se trouver en rapport avec l'apparition de l'activité musculaire.

La signification de la présence de l'hypoxanthine et de la guanine dans les œufs de batraciens reste à établir. On peut évidemment supposer qu'il ne s'agit là que de produits du catabolisme de l'oocyte qui seraient lentement éliminés au cours du développement de l'embryon. Une autre hypothèse, beaucoup plus séduisante, serait de considérer ces purines comme des précurseurs des purines nucléiques, adénine et guanine. On sait en effet que l'hypoxanthine³ et la guanine⁴ sont utilisées par certains organismes dans la synthèse des acides nucléiques. De récents travaux, concernant la synthèse *in vitro* des nucléosides et des nucléotides, sont aussi favorables à une telle hypothèse⁵.

MAURICE STEINERT

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 5 juillet 1951.

Summary

It has been shown that frog embryos contain free hypoxanthine and guanine. These purines are present in the mature oocytes and begin to disappear at the following early gastrulation. An appreciable synthesis of ATP begins to take place at the tailbud stage. A hypothesis is formulated as to the probable rôle of free purines in nucleic acid synthesis.

¹ C. S. HANES et F. A. ISHERWOOD, *Nature* 162, 1107 (1949).

² H. M. KALCKAR, *J. Biol. Chem.* 167, 429 (1947).

³ H. K. MITCHELL et M. B. HOULAHAN, *Fed. Proc.* 5, 370 (1946); *Symp. Quant. Biol.* 17 (1946).

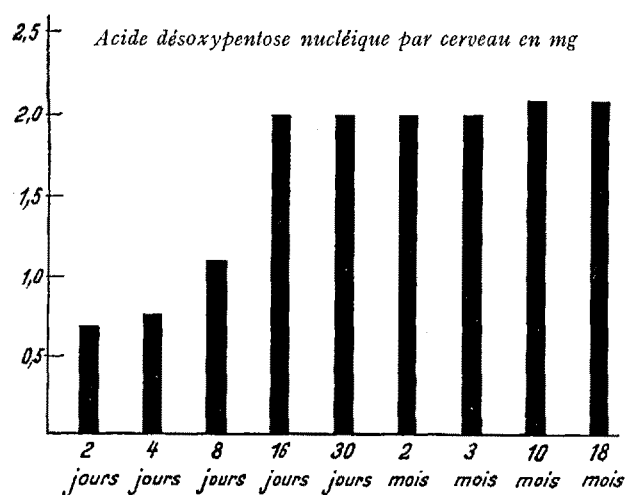
⁴ S. E. KERR, K. SERAIDAN et G. B. BROWN, *J. Biol. Chem.* 188, 207 (1951).

⁵ H. M. KALCKAR, *J. Biol. Chem.* 167, 477 (1947). – M. FRIEDKIN et H. M. KALCKAR, *J. Biol. Chem.* 184, 437 (1950). – J. WAJZER et Fr. BARON, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 31, 750 (1949).

Fixation du terme de la croissance du cerveau chez le Rat par l'étude de l'acide désoxypentose nucléique

Il est actuellement bien admis que l'acide désoxypentose nucléique (ADN) est localisé dans le noyau et représente un des constituants biochimiques essentiels des chromosomes. L'accroissement du nombre de chromosomes, phénomène fondamental de la prolifération des noyaux, se traduit de ce fait par une augmentation de l'ADN du tissu au sein duquel s'effectue une multiplication des noyaux cellulaires.

Contrairement à ce que l'on pensait (BOIVIN¹ et MIRSKY et RIS²) la quantité d'ADN n'est pas identique pour tous les noyaux somatiques de tous les organes à l'intérieur d'une espèce (PASTEELS et LISON³, MANDEL, METAIS⁴ et MANDEL⁵) en raison de la polyplôidie plus ou moins accusée que l'on rencontre dans certains organes. Il est impossible dans ces conditions de conclure d'une augmentation de l'ADN à un accroissement rigoureusement parallèle du nombre de cellules, sauf dans le cas où leurs noyaux sont essentiellement, sinon exclusivement diploïdes tels les leucocytes⁶. Toutefois en dehors des organes dans lesquels on note une proportion importante de cellules polyplôïdes (foie, pancréas) l'accroissement de l'ADN traduit en première approximation le rythme de la multiplication cellulaire.



En partant de ces principes nous avons étudié⁷ l'évolution de l'ADN du cerveau de l'embryon de Poulet et proposé de considérer l'accroissement de l'ADN comme reflet du rythme des multiplications nucléaires. Dans ce même esprit, DAVIDSON et LESLIE⁸ ont étudié le développement embryonnaire du cerveau, du foie et du myocarde du Poulet, accordant également à l'ADN le caractère de témoin de la prolifération cellulaire.

¹ A. BOIVIN, R. VENDRELY et C. VENDRELY, *C. r. Acad. Sci.* 226, 1061 (1948).

² A. MIRSKY et H. RIS, *Nature* 163, 666 (1949); *J. Gen. Physiol.* 33, 125 (1949).

³ J. PASTEELS et L. LISON, *C. r. Acad. Sci.* 230, 780 (1950).

⁴ P. MANDEL, P. METAIS et S. CUNY, *C. r. Acad. Sci.* 231, 1168 (1950).

⁵ P. MANDEL, *Exposés annuels Biochimie Médicale* (sous presse).

⁶ J. PASTEELS et L. LISON, *C. r. Acad. Sci.* 230, 780 (1950). – P. MANDEL, P. METAIS et S. CUNY, *C. r. Acad. Sci.* 231, 1168 (1950).

⁷ P. MANDEL, R. BIETH et R. STOLL, *C. r. Soc. Biol.* 142, 1020 (1948); *Bull. Soc. Chim. Biol.* 31, 1385 (1949).

⁸ J. N. DAVIDSON et J. LESLIE, *Nature* 165, 49 (1950).

L'arrêt de la croissance du cerveau à un âge relativement jeune est un fait bien établi. Il est intéressant dans le cadre de la biochimie comparée du développement cérébral de fixer l'âge auquel s'arrête la multiplication des cellules cérébrales, soit la croissance réelle de cet organe. L'étude des variations de l'ADN cérébral au cours de la croissance permet de fixer cet âge. En effet, même si le parallélisme entre l'augmentation du nombre de cellules et de l'ADN n'est pas rigoureux du fait de la polyploïdie, l'arrêt de l'accroissement de l'ADN indique avec certitude l'absence de toute augmentation du nombre de noyaux et par conséquent de cellules.

Nous cherchons à fixer le terme de la croissance du cerveau chez diverses espèces et rapportons dans la présente note le cas du Rat. Nos essais ont porté sur 294 Rats dont l'âge s'étend entre 2 jours et 18 mois, l'ADN était déterminé par la technique de SCHMIDT et TANNHAUSER¹. Parallèlement, les lipides, les acides gras des phosphatides et l'azote protéique ont été dosés. Le graphique ci-joint montre qu'à partir de 16 jours, l'ADN garde une valeur sensiblement constante et, par conséquent, la multiplication des noyaux et des cellules est arrêtée à cette époque. On constate ainsi que la croissance du cerveau du Rat à l'échelle cellulaire s'arrête, alors que le poids du cerveau va continuer à augmenter passant de 1g200 à cet âge à 1g550 à l'âge adulte et que les lipides vont encore s'accroître de 68 mg à 190 mg, les acides gras des phosphatides de 23 mg à 68 mg, et l'azote protéique va encore passer de 12 à 24 mg (valeurs absolues par cerveau). Remarquons également que l'arrêt de la croissance du cerveau apparaît très précoce, puisqu'elle correspond à 1/70 de la vie moyenne du Rat et précède de loin la puberté et l'arrêt de la croissance d'autres organes.

Résumé et conclusion. L'étude de l'ADN permet de fixer l'âge auquel s'arrête la multiplication des cellules cérébrales. Cet âge représente chez le Rat 1/70 de la vie moyenne et correspond à un stade auquel les lipides et les protéides atteignent environ la moitié seulement de leur valeur chez l'adulte. Nos résultats montrent également qu'il y a lieu de distinguer la croissance à l'échelle cellulaire de celle de l'organe tout entier.

P. MANDEL et R. BIETH

Institut de chimie biologique, Faculté de médecine
Strasbourg, le 18 avril 1951.

Zusammenfassung

Durch Bestimmung des Desoxy-pentosenucleinsäuregehaltes kann im Gehirn das Altersstadium der Beendigung der Zellteilungen erkannt werden. Das Erreichen dieses Stadiums beansprucht etwa 1/70 der mittleren Lebensdauer der Ratte. Im selben Zeitpunkt haben sowohl Lipide wie auch Proteide erst die Hälfte ihres Gesamtwertes erreicht. Die Untersuchungen erlauben die Unterscheidung von Zellwachstum und Gesamtwachstum des Organes.

¹ G. SCHMIDT et S. J. TANNHAUSER, J. Biol. Chem. 161, 83 (1945).

Quelques effets cytologiques et cytochimiques des inhibiteurs des phosphorylations oxydatives

Au cours d'une étude récente sur les oxydations cellulaires dans des fragments nucléés et énucléés d'amibes, nous avons montré que la consommation d'oxygène des deux types de fragments demeure identique pendant

une dizaine de jours¹; au contraire, selon MAZIA et HIRSHFIELD², l'incorporation de P₃₂ dépend fortement de la présence du noyau. Les résultats des auteurs américains ont été confirmés et étendus dans notre laboratoire par THOMASON, qui a constaté que, déjà quelques minutes après l'énucléation, l'incorporation de P₃₂ dans les fragments énucléés n'est que le 1/3 de celle qui se produit dans les fragments pourvus du noyau. 6 à 9 jours après l'opération, l'incorporation du P₃₂ dans les fragments énucléés ne représente plus que 5 % de celle qu'on trouve pour les moitiés nucléées. Nous en avons conclu¹ que l'énucléation interrompt sans doute le couplage entre les oxydations et les phosphorylations et que les amibes énucléées se comportent donc comme des cellules traitées par des poisons tels que le dinitrophénol ou l'acide usnique.

Des expériences destinées à confirmer cette hypothèse ont consisté à placer des amibes dans du dinitrophénol ou de l'usnate de Na: elles ont montré que le dinitrophénol 10⁻³ M et l'usnate (25-50 γ/cm³) provoquent des altérations comparables à celles que cause l'énucléation: les amibes prennent une forme sphérique, elles n'émettent plus que de courts pseudopodes et elles ne se fixent plus au fond des cristallisoirs. Des résultats particulièrement frappants ont été obtenus en micro-injectant dans le cytoplasme d'amibes normales de petites quantités de dinitrophénol 10⁻³ M: déjà 1 ou 2 heures après l'opération, les amibes injectées prennent l'aspect caractéristique des fragments énucléés et elles le conservent pendant plusieurs jours sans se cytolysier³.

On peut légitimement se demander si un mécanisme analogue n'interviendrait pas aussi dans le blocage en fin de segmentation des hybrides létaux entre batraciens anoures: BARTH et JAEGER⁴ ont en effet établi que les gastrulas hybrides bloquées de la combinaison létale *Rana pipiens* ♀ × *Rana sylvatica* ♂ se caractérisent par une respiration et une glycolyse diminuées, ainsi que par une moindre capacité de conserver l'acide adénosinetriphosphorique sous sa forme phosphorylée.

Des tentatives effectuées cette année pour suivre la consommation d'oxygène et la pénétration de P₃₂ dans des gastrulas bloquées de la combinaison *Rana esculenta* ♀ × *Rana fusca* ♂ n'ont pas pu être menées à bien, faute de matériel en quantités suffisantes, et elles devront donc être reprises. Mais il nous a semblé qu'il ne serait pas inutile de comparer les effets de l'hybridation létale d'une part et ceux des inhibiteurs des phosphorylations oxydatives de l'autre sur la répartition cytochimique des acides nucléiques.

Nous avons déjà signalé⁵ que les gastrulas hybrides bloquées se distinguent notamment par une colorabilité très variable des noyaux par le mélange de Unna: alors que certains ne prennent que le vert de méthyle, d'autres acquièrent une teinte lilas ou violacée; certains noyaux ont même un aspect bigarré, se colorant en partie en vert et en partie en rouge. On note aussi une fréquente augmentation du nombre des nucléoles et de leur affinité pour la pyronine. L'examen de matériel nouveau et plus abondant a permis de confirmer entièrement ces observations anciennes et de préciser, par l'emploi conjugué de la réaction de Feulgen, de la ribonucléase et d'extractions à l'acide perchlorique, que les noyaux des hybrides

¹ J. BRACHET, Nature 163, 205 (1951).

² D. MAZIA et H. I. HIRSHFIELD, Science 112, 297 (1950).

³ Nos très vifs remerciements vont au Prof. STOLL qui a bien voulu nous faire un don généreux d'acide usnique et à Mlle S. GOTHÉ qui a exécuté les micro-injections avec une très grande habileté.

⁴ L. G. BARTH et J. JAEGER, Physiol. Zool. 20, 133 (1947).

⁵ J. BRACHET, Ann. Soc. roy. Zool. Belg. 75, 49 (1944).