

Biochimie cellulaire

M. François GROS, professeur

L'étude du fonctionnement chimique des gènes à laquelle nous avons consacré notre première série de cours est essentielle à l'analyse de toute problématique liée à la biologie du développement. La transcription génétique — étape-clé dans le décodage de l'information détenue par les chromosomes au cours de laquelle les gènes voient leur séquence transposée en une séquence d'ARN — ainsi que les mécanismes impliqués dans la régulation de cette étape ont donc fait, cette année, l'objet de notre enseignement.

Organismes procaryotes

Il convenait d'examiner en premier lieu quelles sont les caractéristiques générales du matériel génique chez les procaryotes. Les travaux récents de Worcel et Petitjohn apportent sur ce point des informations qui jettent un jour nouveau sur notre représentation des choses : le matériel génétique d'une bactérie n'est pas, comme on le pensait, assimilable à un simple « ruban d'ADN » en contact direct avec les éléments du cytoplasme. L'obtention récente de chromoïdes bactériens « natifs » et les analyses physicochimiques dont ils ont été l'objet (influence des coupures haplotomiques sur la constante de sédimentation, effets de l'intercalation du bromure d'éthidium, etc.) conduisent à un modèle représentatif selon lequel ces organites revêtiraient une structure circulaire « surplissée » comprenant une cinquantaine de « boucles » dont la cohésion serait assurée par des molécules d'ARN. L'extrême complexité de l'édifice ainsi obtenu n'est pas sans poser des problèmes topologiques d'un grand intérêt pour la cybernétique même de la transcription. Un autre indice de complexité qui paraît avoir échappé jusqu'ici à l'attention des biologistes est la présence de « protéines d'association » ou facteurs H, éléments de faible masse moléculaire, dont nous avons démontré récemment l'existence chez *E. coli*.

Egalement essentielle à notre compréhension des mécanismes moléculaires de la transcription est la notion de « ponctuation génétique ». Les « unités de transcription », segments du chromosome indépendamment copiés en ARN par la polymérase, sont délimités par un *promoteur* ou signal de mise en route (initiation) et par un *terminateur* ou signal d'arrêt. La génétique apporte une excellente définition formelle des *promoteurs*, secteurs chromosomiques dont l'altération, par délétion partielle ou mutation, peut provoquer l'arrêt de synthèse du « messenger ». La Biochimie est venue compléter cette définition : il est désormais possible de purifier les segments du chromosome auxquels sont fixées les molécules d'ARN polymérases au début d'un cycle de copiage, en détruisant par des endonucléases les secteurs « non protégés » et en isolant les fragments combinés à l'enzyme. De l'ensemble des études sur les promoteurs des bactériophages λ ou fd il ressort que ces gènes de ponctuation sont des segments d'une longueur de 30 à 40 paires de bases particulièrement riches en paire AT.

La « reconnaissance » des *promoteurs* et des *terminateurs* par l'ARN polymérase ADN-dépendante a lieu par l'entremise de deux éléments protéiques : le facteur « σ » et le facteur « ρ ». Les recherches fort approfondies qu'a consacré le docteur Chamberlin au mode d'action du facteur « σ » sont d'un grand intérêt en ce qu'elles précisent — dans le cas du bactériophage T₇ — comment la synthèse des ARN messagers peut être « enclenchée » au niveau des promoteurs. L'adjonction de facteur sigma à une polymérase qui en est dépourvue réduit d'environ 100 fois l'affinité pour les sites internes d'attachement au DNA (sites B) et accroît d'environ 10 fois l'affinité pour les promoteurs (sites A). Une fois formés les premiers maillons du « messenger », le facteur sigma est éjecté du complexe, la polymérase voyant son affinité d'autant accrue pour les sites d'élongation (B). Ainsi la conformation de la polymérase *oscille-t-elle* sous l'influence de « sigma » entre deux états de haute affinité pour les sites « initiateurs » et les sites d'« élongation ».

On classe généralement en deux catégories les mécanismes responsables de la *régulation* des processus transcriptionnels chez les organismes procaryotes :

a) La *régulation négative* permet à la cellule de bloquer par des répresseurs la transcription d'un secteur génétique particulier. L'effet de répression peut être levé par des inducteurs métaboliques qui dissocient le répresseur de sa cible (opérateur) et permettent ainsi à la polymérase d'amorcer son activité catalytique au niveau du promoteur adjacent. La biochimie des répresseurs et de leurs opérateurs a enregistré de très grands progrès. Les répresseurs des opérons « lactose », « galactose », « tryptophane », et du bactériophage lambda ont été obtenus à l'état pur. La *séquence complète* du répresseur « lactose » vient d'être établie. La séquence de l'opérateur « lactose » est, elle aussi,

désormais connue après les patientes études de W. Gilbert. C'est un segment d'ADN de 23 paires de bases présentant un axe de symétrie binaire. Ceci rend plausible une distribution également symétrique de 2 sous-unités de répresseur sur chaque « moitié » de l'opérateur. Les travaux de Ptashné apportent également des informations du plus haut intérêt sur les répresseurs et opérateurs du bactériophage lambda. L'étude de la répression en système acellulaire a été rendue possible grâce à l'emploi de matrices provenant de bactériophages transducteurs pour les gènes « lactose » ou « galactose » ou du bactériophage lambda proprement dit. De l'ensemble de ces données, on peut conclure que le répresseur agit en entravant l'attachement primaire de l'ARN polymérase au site promoteur voisin de l'opérateur.

b) La *régulation positive* permet de déclencher à distance une activité de transcription au niveau d'un gène ou groupe de gènes particulier, grâce à l'interaction d'une protéine avec ce gène ou ce groupe de gènes. Des mécanismes de ce type sont mis en œuvre dans des situations très diverses relevant soit du « *contrôle homéostatique* » exercé par les facteurs du milieu, soit de l'*expression de programmes génétiques* au cours du développement d'une cellule ou d'un virus. Parmi les exemples de régulation positive homéostatique, il faut citer : α) l'effet activateur de la protéine CRP et de son cofacteur, l'AMP cyclique, vis-à-vis de la transcription des opérons correspondant aux systèmes enzymatiques inductibles (ex. : opérons « lactose », « galactose », « arabinose », etc.) ; β) l'effet des protéines codées par les gènes *ara C* ou *mal T* au cours de l'induction des opérons « arabinose » et « maltose » ; γ) l'effet des facteurs EF_{Tu} et EF_{Ts} au cours de la transcription des gènes ribosomiques (A. Travers).

Mais c'est le développement programmé des systèmes procaryotes qui révèle les aspects les plus intéressants et les plus saisissants, au plan cybernétique, de la « régulation positive » du génome. Deux modèles biologiques se sont clairement imposés depuis ces dix dernières années : le *développement des bactériophages* et la *sporulation bactérienne*. Les changements survenant dans la région de transcription du bactériophage T_7 lorsque l'on passe de la phase « précoce » à la phase « tardive » du cycle sont dus à la conjonction de mécanismes d'*antiterminaison* fort subtils et de la néoformation d'une « transcriptase » virale possédant l'aptitude à reconnaître les promoteurs des gènes tardifs. Chez le bactériophage T_4 , le régime de transcription « tardive » est déclenché par une *modification* chimique de l'ARN polymérase bactérienne. Cette modification, qui imprime à l'enzyme une nouvelle spécificité de copiage, est sous le contrôle de gènes régulateurs viraux eux-mêmes exprimés à des phases précises du cycle.

C'est de l'étude du bactériophage lambda qu'il est désormais permis de dégager la description la plus complète d'un programme de régulation

positive en « cascade ». Deux éléments protéiques, les protéines N et Q — la première agissant comme un facteur d'antitermination, la seconde comme une transcriptase nouvelle — régissent par leurs effets à distance l'activation du chromosome viral selon une séquence temporelle d'autant plus précise que l'expression du gène régulateur Q est elle-même sous la dépendance du gène régulateur N. L'établissement de la lysogénie qui requiert la synthèse continue du répresseur C1 met également en œuvre un jeu subtil de « régulations positives » commandant la transcription du gène C1.

Les études sur la sporulation sont dans une phase plus délicate et les données obtenues font encore l'objet de quelques controverses. La transition de la phase végétative à la phase de sporulation paraît reposer sur un remodelage chimique précis de la transcriptase cellulaire, sans doute provoqué par des endoprotéases spécifiques.

Organismes eucaryotes

L'étude de la chromatine des eucaryotes supérieurs et de sa transcription a été envisagée dans la seconde partie de notre cours, sous la forme d'une série de séminaires :

SÉMINAIRES

Docteur G. BERNARDI (Paris), *L'ADN des eucaryotes (ADN nucléaire et cytoplasmique)*.

Professeur BRADBURY (Porthsmouth, Grande-Bretagne) et Docteur S. BRAM (Paris), *Structure de la chromatine. Interactions des histones et de l'ADN*.

Professeur J.-P. ZALTA (Toulouse), *Nucléole et transcription des gènes ribosomiques*.

Professeur P. CHAMBON (Strasbourg), *Les transcriptases nucléoplasmiques et nucléolaires*.

Docteur M. YANIV (Paris), *Transcription chez les virus oncogènes à DNA*.

Professeur J. RICARD (Marseille), *La chromatine des cellules végétales. Effet des hormones de croissance*.

ACTIVITÉS DU LABORATOIRE

I. - BIOCHIMIE CELLULAIRE

A. Groupe de recherche de l'Institut Pasteur

1. Mécanismes de transcription génétique

Il y a quelque temps, de nouveaux facteurs protéiques désignés sous le nom de facteurs « H » ont été mis en évidence par certains chercheurs de notre laboratoire, dans la fraction chromoïde des cellules d'*E. coli*. Ces protéines, de faible poids moléculaire, sont capables de stimuler, dans des proportions considérables, la transcription *in vitro* de l'ADN de certains bactériophages tels que $\phi 80$, λ , etc.

Deux sous-fractions avaient déjà fait l'objet, jusqu'ici, de purification poussée : H1, de point iso-électrique 6,5, et la protéine H2, de point iso-électrique supérieur à 10 (50 % de résidus arginine).

Une troisième sous-composante, baptisée H3 (ou U), vient d'être identifiée grâce à la méthode de purification par chromatographie d'affinité sur des colonnes de DNA-cellulose. H3 se distingue de H1 et H2 à la fois par sa masse moléculaire et par ses propriétés immunochimiques. Comme les deux premiers facteurs, elle exerce un pouvoir de stimulation très puissant sur la transcription des phages lambdaïdes.

Nous nous sommes efforcés de préciser, par ailleurs, les niveaux d'interaction des facteurs H avec les systèmes de transcription génétique, utilisant comme matrices des ADN de phages transducteurs pour la région lactose. Nous avons ainsi pu démontrer que la stimulation par le facteur H1 requiert l'intégrité du site fixateur de la protéine CAP. La stimulation exercée conduit à la formation d'un produit symétrique. Enfin, elle s'exerce sur l'enzyme « core » au même titre que sur la polymérase complète. On peut conclure que les facteurs H modifient probablement la conformation des promoteurs.

2. Structure génétique et unités de transcription du virus de polyome

L'absence de carte génétique concernant le chromosome du virus du polyome nous a incités à tenter l'établissement d'une « carte physique » du génome de ce virus, à préciser la nature des unités de transcription et leurs modes d'expression. En collaboration avec F. CUZIN et O. CROISSANT, nous avons réussi à mettre en évidence trois sites spécifiques au sein de la molécule circulaire, grâce à leur aptitude à fixer la protéine 32 du bactéri-

phage T4 (protéine de déroulement). Ces trois sites, riches en AT, ont pu être localisés par rapport au site unique de coupure « reconnu » par l'enzyme de restriction R1 (site R1).

Par ailleurs, les recherches que nous avons menées sur la transcription du génome de polyome indiquent que la RNA polymérase d'*E. coli* peut « initier » son activité de copiage en quatre sites. Ces sites ont également pu être localisés par rapport au « site R1 ».

3. Traduction génétique

Nous avons terminé l'étude, par voie immuno-chimique, du rôle des protéines présentes dans la sous-unité 30 S aux différentes étapes de la traduction. De cette étude on peut dégager un certain nombre de conclusions intéressantes. La plupart des protéines, qui sont directement liées à l'ARN 16 S et que l'on considère comme faisant partie du « core » de la sous-unité 30 S, ne nous paraissent impliquées ni dans le processus d'initiation, ni dans celui d'élongation. En revanche, un certain nombre de protéines détachables par traitement salin (« split proteins ») feraient partie intégrante à la fois du site « P » et du site « A ».

Une troisième classe inclut les protéines S 6 et S 12 qui jouent un rôle dans le positionnement IF2-dépendant du tRNA initiateur en présence du triplet AUG. L'effet le plus manifeste concerne, cependant, la protéine S 12 dont le blocage n'affecte que l'initiation mais pas l'élongation.

Enfin, une quatrième catégorie englobe certaines protéines qu'il paraît raisonnable d'assimiler aux protéines du site « A » (site d'élongation). A ce groupe appartient en particulier la protéine S 9, dont il est montré par ailleurs qu'elle joue un rôle dans l'hydrolyse du GTP.

4. Mécanismes de régulation génétique

Des études ont porté sur le phénomène de coulisage (« read-through ») de transcription chez le bactériophage lambda. Par l'emploi de souches lysogènes *lac*⁻ et *cro*⁻, portant un phage lambda 857 transducteur de la région lactose (phage dont le promoteur *lac* est délété au site fixateur de CAP), nous avons pu montrer que l'AMP cyclique était indispensable à l'expression du gène Z, au cours du processus de thermo-induction.

Puisqu'il est bien établi que le promoteur du phage lambda qui commande l'expression du gène précoce situé à l'extrémité de la région C1 est insensible à l'effet du facteur CAP, on est conduit à postuler deux effets possibles de l'AMP cyclique : ou bien cet effecteur interviendrait dans le processus de

redémarrage de transcription au niveau d'une barrière inter-génique, par exemple entre i et P, ou bien l'AMP cyclique aurait un rôle comme élément régulateur de la traduction proprement dite.

5. *Différenciation*

D'importants résultats ont été obtenus (BUCKINGHAM, CAPUT, COHEN et GROS, 1973) touchant aux modalités d'expression du gène de la myosine au cours de la différenciation des myoblastes *in vitro*. L'ARN « messenger » de cette protéine (ARN 26 S) est activement transcrit dans les myoblastes indifférenciés en cours de division, à une période précédant la formation des myotubes. Or, on sait qu'à ce stade la myosine n'est pas encore synthétisée. Néanmoins, cet ARN messenger est d'une grande instabilité métabolique (durée de vie de 5 à 6 heures). Peu de temps avant l'apparition des premiers myotubes et l'accroissement du taux de synthèse de la myosine, à une phase concomitante avec l'établissement des contacts intercellulaires qui précèdent la fusion, l'ARN 26 S devient métaboliquement stable (durée de vie supérieure à 50 heures). En somme, tout se passe comme si le myoblaste était non seulement génétiquement « déterminé » mais également capable de fabriquer les ARN messagers correspondant aux protéines spécifiques du muscle strié. Peu de temps avant la formation des myotubes, un signal (ou une série de signaux), sans doute lié(s) à l'établissement des contacts intercellulaires, permettrait (en) la traduction des messagers préaccumulés.

B. *Equipe du Collège de France*

I. — DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE

L'équipe du Collège de France a poursuivi ses recherches sur l'étude *in vitro* de l'expression phénotypique de cellules neuroblastiques au cours de leur différenciation en culture.

1. *Etude comparative des propriétés cytologiques et biochimiques des clones et sous-clones du neuroblastome de souris*

Une série de populations clonales ont été isolées. Elles diffèrent par la forme des cellules, la capacité de produire des neurites et le mode d'arborisation de ceux-ci. L'examen des marqueurs enzymatiques spécifiques des cellules neuronales, comme la choline acétylase, la tyrosine hydroxylase, l'acétylcholine estérase, a été pratiqué. On s'est également intéressé à d'autres marqueurs tels que la tyrosinase, caractéristique de certains phénotypes cellulaires dérivés de la crête neurale. La technique fluorimétrique pour la mise en évidence des catécholamines au niveau des cellules, technique inspirée de celle de Falc, a été développée (Y. NETTER, G. MERLIN, C. VIMARD).

2. *Purification et caractérisation d'un « facteur » induisant la différenciation de cellules de neuroblastome*

Nous avons récemment observé que le produit sécrété dans le milieu de culture par une lignée établie de cellules de souris (sans rapport avec le neuroblastome) entraînait l'expression rapide et synchrone du phénotype différencié dans la quasi totalité des cellules neuroblastiques en culture. Cette méthode d'induction de la différenciation est plus efficace et plus fiable que les techniques utilisées jusqu'alors. De surcroît, les cellules maintiennent une excellente viabilité. La différenciation de cellules ganglionnaires en neurones et des cellules de la moelle osseuse en granulocytes est également fortement stimulée par la présence de ce facteur en milieu de culture. Des observations préliminaires laissent supposer que le facteur serait de nature protéique. Nous nous proposons de poursuivre son identification et d'étudier son mode d'action (Y. NETTER).

3. *Etude de la régulation de la synthèse des macromolécules au cours de la différenciation de cellules neuroblastiques*

Nous nous sommes efforcés d'établir un répertoire des principales catégories d'ARN messagers formés au cours de la conversion de cellules blastiques en cellules nerveuses, afin de préciser les changements dans le programme de transcription génétique susceptible d'accompagner l'apparition des enzymes de synthèse de transmetteurs et la formation des neurites. Les ARN totaux et cytoplasmiques marqués à l'uridine ont été extraits à intervalles définis et analysés sur des gradients de saccharose, une fois débarrassés des ARN ribosomiaux. Les principales fractions d'ARN rapidement marquables ont ainsi pu être identifiées et leurs constantes de sédimentation déterminées. Ces travaux seront poursuivis au sein du Collège de France (Y. NETTER, M. FIZMAN, C. JEANTET).

4. *Etudes comparatives des composants de surface dans divers clones de neuroblastome phénotypiquement différents*

Le marquage par la concanavaline A examiné par microscopie électronique, dans trois types de cellules, n'a pas montré de différences significatives quant à la distribution des récepteurs pour cette lectine. (Cette observation résulte d'une collaboration avec M. C. HUET, de l'équipe de M. W. BERNARD, de l'Institut de Recherche sur le Cancer).

Des récepteurs histotypiques sont étudiés par la méthode d'agrégation en culture de cellules marquées. Les premiers résultats semblent indiquer que l'on peut, grâce à cette approche, révéler des différences au sein des composés membranaires parmi divers clones étudiés.

II. - ENZYMOLOGIE

Le groupe de recherche du C.N.R.S. dirigé par M. NGUYEN VAN THOAI a poursuivi ses travaux sur la structure et le mécanisme de réactions des protéines isolées et associées.

1. *Recherches sur les ATP-phosphotransférases*

a) L'étude du centre actif de la créatine kinase a été complétée : 1) par la démonstration que les deux groupes cystéinyle réputés essentiels peuvent être bloqués par ^{14}CN sans perte d'activité (E. DER TERROSSIAN, R. KASSAB et L.-A. PRADEL) ; 2) par l'isolement et la détermination de la structure covalente du peptide renfermant l'histidine essentielle marquée par le chlorure de tosyloxy ^{35}S (L.-A. PRADEL, R. KASSAB et J. FEINBERG).

b) Une étude comparative du centre actif des phosphagènes, de la phosphoglycérate kinase, de l'hexokinase et de la pyruvate kinase montre que le site de fixation des nucléotides comme celui de l'accepteur ont conservé une certaine homologie de structure au cours de l'évolution (C. ROUSTAN, A. BREVET et L.-A. PRADEL).

c) Le peptide renfermant le résidu glutamyle essentiel de la 3-phosphoglycérate kinase a été isolé et la structure covalente déterminée (L.-A. PRADEL, C. ROUSTAN, A. BREVET et G. DESVAGES).

d) Des réactions immunochimiques croisées entre la créatine kinase de lapin et l'arginine kinase de homard ont été obtenues après déroulement des protéines par oxydation performique (Y. ROBIN et Y. BENYAMIN).

2. *Octopine déshydrogénase*

a) Le rôle du résidu histidyle dont le caractère essentiel a été démontré précédemment a été étudié en résonance magnétique nucléaire (A. OLOMUCKI, en coopération avec M^{me} RØUX du Commissariat à l'Énergie Atomique, Saclay). La présence de groupement carboxyle en relais de charges avec le résidu histidyle a été recherchée par modification chimique spécifique (C. HUC et A. OLOMUCKI).

b) L'interaction enzyme-coenzyme-substrats a été étudiée en spectrophotométrie différentielle (F. THOMÉ-BEAU et A. OLOMUCKI) et en spectrofluorimétrie (A. OLOMUCKI, en coopération avec le Professeur LUISI du Polytechnicum de Zürich).

3. *Interaction des protéines musculaires*

La capacité d'interaction de la myosine a été étudiée après blocage soit de résidus lysyle (G. LACOMBE et N. v. THIEM) soit de résidus carboxyle (L.-A. PRADEL et R. KASSAB). L'isolement des protéines de la ligne M a été entrepris avec succès (C. ORIOL et F. LANDON).

III. - CHIMIE ORGANIQUE BIOLOGIQUE

L'équipe dirigée par M. OLOMUCKI, sous-directeur du laboratoire, se consacre à des recherches sur des réactifs polyfonctionnels destinés à la modification chimique des macromolécules biologiques.

Les études antérieures sur les halogénoacétimidates ont montré que ces composés sont capables de ponter un résidu lysyle et un histidyle dans le centre actif de la ribonucléase et que la lysine impliquée dans cette réaction est la Lys 41. Pour identifier les résidus histidyle modifiés (His 119 ou His 12), l'enzyme traité par le réactif a été soumis à l'action du bromure de cyanogène ; l'étude des fragments peptidiques ainsi obtenus a montré que le pontage affecte à 85 % l'histidine 119 et à 15 % l'histidine 12.

Poursuivant les recherches sur les réactifs alkylants contenant en plus un fragment organomercuriel, on examine les réactions modèles de ces composés avec différents thiols contenant éventuellement une autre fonction ; on étudie en particulier la stoechiométrie des réactions et la nature des produits formés.

La substitution des deux fonctions dans les maléimides possédant un groupement alkylant, autre type de produits étudié, a conduit à des composés modèles des pontages réalisables à l'aide de ces réactifs. Leur stabilité a été testée pour préciser les conditions de rupture des « crosslinks » introduits dans les protéines par ces réactifs. On cherche par ailleurs à illustrer les applications possibles des maléimides halogénées en les utilisant pour essayer de relier les résidus cystéinyle et histidyle dans la papaïne.

La structure de la N-chloroacétylamino isomaléimide a été étudiée à l'aide des rayons X, en collaboration avec le Professeur R. GAY à Bordeaux, pour préciser la forme de la molécule et la distance entre ses fonctions. Le squelette de ce composé est plan, du type « anti », allongé au maximum, avec une distance moyenne de 7,2 Å entre le chlore et les carbones doublement liés.

Une maléimide substituée sur l'azote par un groupement arylant chromophore, le chloro-4 dinitro-3,5 benzoate de la N-hydroxyméthylmaléimide, a été obtenue ; les propriétés de ce produit sont à l'étude.

IV. - ENDOCRINOLOGIE

Le groupe de recherche dirigé par le Professeur R. MICHEL (Endocrinologie, Université René-Descartes) a poursuivi ses travaux sur les effecteurs des oxydophosphorylations et le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes.

1. *Effecteurs des oxydations phosphorylantes mitochondriales*

Les recherches ont consisté à étudier l'influence de nouveaux composés iodés sur la respiration et la phosphorylation de mitochondries isolées.

Le 3,5-diiodo-4-hydroxybenzoate de n-butyle (DIBB) stimule la consommation d'oxygène des mitochondries hépatiques placées dans l'état 4 et l'inhibe dans l'état 3. L'inhibition est de type compétitif en présence de β -hydroxybutyrate et non compétitif avec le succinate. Le phénol iodé provoque le gonflement actif des mitochondries. Dans le cas des mitochondries de la corticosurrénale, le DIBB active la respiration mais freine les mécanismes de la 11 β hydroxylation de la désoxycorticostérone. Ces faits permettent de rapprocher l'influence du DIBB à la fois de celle du 2,4-dinitrophénol sur les mitochondries corticosurréaliennes et de celle des iodothyronines sur les particules hépatiques, ce qui pourrait expliquer son activité antithyroxinienne.

Une autre série de travaux a consisté à étudier les effets sur les fonctions mitochondriales de dix dérivés des acides hydroxybenzoïques appartenant à deux séries chimiques.

2. *Mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes*

Les recherches sur le mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes ont été poursuivies d'une part par l'analyse des protéines membranaires mitochondriales de rats normaux et thyroïdectomisés et, d'autre part, par la caractérisation d'une enzyme impliquée dans la synthèse des RNA des mitochondries musculaires.

La séparation par électrophorèse sur gel de polyacrylamide des protéines mitochondriales de foie de rat a permis de préciser la structure des divers compartiments de l'organite. La thyroïdectomie diminue la teneur en un constituant protéique fortement lié à la membrane interne et associé aux cytochromes structurés (a, a₃, b, c₁). Cette fraction fait partie des composants dont certains sont sous le contrôle des acides nucléiques mitochondriaux.

La tRNA-nucléotidyltransférase a été caractérisée dans les mitochondries de muscle squelettique de rat. Cette enzyme est vraisemblablement localisée dans la matrice mitochondriale, comme l'enzyme hépatique dont elle possède

les propriétés ; le pH optimum est de 9,5 ; Mg^{2+} et ATP sont indispensables à son activité. La thyroïdectomie abaisse l'activité de l'ARN polymérase mitochondriale, alors que l'enzyme qui assure la réparation de la séquence terminale CCA des tRNA reste inchangée.

COLLOQUES, MISSIONS DIVERSES

Le Professeur GROS a participé au Colloque international sur les Mécanismes d'initiation de la traduction génétique (organisé par l'E.M.B.O.), qui s'est tenu à Leyde en mars 1974, et il y a donné une conférence de clôture devant paraître d'ici peu dans le journal « Nature ». Un colloque (également sous l'égide de l'E.M.B.O.) et portant sur la Chromatine a eu lieu à Strasbourg en mars 1974 ; une conférence y a été prononcée sur la Structure de la chromatine et l'effet des histones dans la transcription (en collaboration avec M. BRADBURY, G. JOHN, S. BRAM et M. CREPIN).

Le Professeur GROS a également été invité à donner l'« Annual Boerhaave Lecture » par la Société européenne de Recherches biomédicales (European Society for Clinical Investigation) et a été nommé « emeritus member » de la dite société (Rotterdam, avril 1974).

Une conférence sur les Mécanismes de transfert de l'information génétique a été donnée, dans le cadre du Colloque de Roscoff (C.N.R.S.) sur le Code génétique et son évolution (avril 1974).

Enfin, plusieurs participations à des colloques, écoles d'été (Strasbourg, Erice) ou à des missions scientifiques dans le cadre de l'O.T.A.N. (Istanbul) ou des Relations culturelles (Moscou) sont prévues pour la période de juin à septembre.

M^{lle} L.-A. PRADEL a fait une communication au « F.E.B.S. meeting » à Amsterdam.

M. NGUYEN VAN THOAI a fait une communication à l'« European Muscle Club » à Zürich et il a dirigé la Table ronde sur la Cristallogénèse des protéines, organisée par le Groupe français de croissance cristalline à Lille.

M. C. ROUSTAN a fait une communication au 9^e Congrès international de Biochimie à Stockholm.

M^{me} C. ORIOL et M^{lle} M.-F. LANDON ont fait chacune une communication à l'« European Muscle Club » à Zürich.

M^{me} A. OLØMUCKI a présenté une communication à la Table ronde sur les Déshydrogénases organisée sous les auspices du C.N.R.S. à Roscoff.

THÈSES, DIPLÔMES

M^{lle} M.-O. DOUBLET, D.E.A. de Biochimie : *Etude cinétique de l'octopine déshydrogénase.*

M^{me} A. BREVET, Thèse de doctorat d'Etat ès sciences physiques : *Stratégie pour l'étude du centre actif des ATP : phosphotransférases.*

M. A. FATTOUM, Thèse de doctorat d'Etat ès sciences physiques : *Site actif des ATP : guanidinophosphotransférases. Propriétés fonctionnelles des résidus tyrosyle dans l'arginine kinase du muscle de homard et la créatine du muscle de lapin.*

PUBLICATIONS

F. BERTHELOT, D. BOGDANOVSKY, G. SCHAPIRA et F. GROS, *Interchangeability of factors and tRNA's in bacterial and eukaryotic translation initiation systems (Mol. Cell. Biochem., t. 1, 1973, p. 63-72).*

M.-E. BUCKINGHAM, D. CAPUT et F. GROS, *Synthèse de RNA dans les cultures primaires de myoblastes (Colloque international sur la Synthèse normale et pathologique des protéines chez les animaux supérieurs, Rueil-Malmaison, mai 1973).*

M.-E. BUCKINGHAM, D. CAPUT, A. COHEN, R.-G. WHALEN et F. GROS, *The synthesis and stability of cytoplasmic mRNA during myoblast differentiation in culture (Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., t. 71, 1974, p. 1466-1470).*

M. CREPIN, J.-C. LELONG et F. GROS, *Early step in the formation of a translation initiation complex on newly transcribed messenger RNA (Karolinska Symposium on Research methods in reproductive endocrinology, 6th Symposium, 21-23 mai 1973, p. 33-53).*

P. KOURILSKY, *Lysogenization by bacteriophage lambda. I. Multiple infection and the lysogenic response. (Mol. Gen. Genet., t. 122, 1973, p. 183-195).*

P. KOURILSKY et F. GROS, *Genetic control of transcription (Fogarty Meeting, avril 1973)*.

M. LAZAR et F. GROS, *Translation initiation defects in ribosomes from streptomycin dependent strains (Biochimie, t. 55, 1973, p. 171-181)*.

L. LEGAULT-DEMARE, C. JEANTET et F. GROS, *Metabolic fate of initiation factors after inhibition of protein synthesis in E. coli (Mol. Gen. Genet., t. 125, 1973, p. 301-318)*.

J.-L. LELONG, G. STÖFFLER, A. BOLLEN, M. LAZAR et F. GROS, *30 S protein as element of the ribosomal decoding site (Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1973, Abstract)*.

J.-C. LELONG, D. GROS, F. GROS, A. BOLLEN, R. MASCHLER et G. STÖFFLER, *Function of individual 30 S subunit proteins of E. coli (Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., t. 71, 1974, p. 248-252)*.

F. GROS, *Control of gene expression in prokaryotic systems (FEBS Letters, t. 40, 1974, p. S 19 - S 27)*.

C. ROUSTAN, A. BREVET, L.-A. PRADEL et N. v. THOAI, *Yeast 3-phosphoglycerate kinase. Interaction of enzyme with substrates studied by partial isotopic exchange and difference spectrophotometry (Eur. J. Biochem., t. 37, 1973, p. 248-255)*.

A. BREVET, C. ROUSTAN, G. DESVAGES, L.-A. PRADEL et N. v. THOAI, *Yeast 3-phosphoglycerate kinase. Evidence for a glutamyl residue in the phosphoryl transfer (Eur. J. Biochem., t. 39, 1973, p. 141-147)*.

C. ROUSTAN, A. BREVET et L.-A. PRADEL, *Structural properties of the creatine kinase active site by chromophoric reagent labelling (Eur. J. Biochem., t. 39, 1973, p. 371-379)*.

C. ROUSTAN, A. BREVET, L.-A. PRADEL et N. v. THOAI, *Interaction de l'hexokinase de levure avec ses substrats (Compt. Rend. Acad. Sc., t. 277, série D, 1973, p. 117-120)*.

C. ROUSTAN, A. BREVET, L.-A. PRADEL et N. v. THOAI, *Yeast phosphoglycerate kinase. Evidence for a glutamyl residue in the phosphoryl transfer (Abstr. 9th Internatl. Congr. Biochem., Stockholm, 1973, p. 90, 2m4)*.

R. KASSAB, F. REGNOUF, A. FATTOUM et L.-A. PRADEL, *Primary structure of lobster muscle arginine kinase : characterization of the cyanogen bromide fragments isolated by ion exchange chromatography and gel filtration (Abstr. 9th Internatl. Congr. Biochem., Stockholm, 1973, p. 71, 2j1)*.

F. REGNOUF, R. YASSAB and A. FATTOUM, *Primary structure of lobster muscle arginine kinase. Isolation and characterization of the fragments produced by cyanogen-bromide cleavage* (*Eur. J. Biochem.*, t. 44, 1974, p. 67-79).

Y. BENYAMIN, Y. ROBIN et N. v. THOAI, *Immunochemistry of lobster arginine kinase. Effect of chemical modifications of the essential amino acid residues on the antigenic reactivity* (*Eur. J. Biochem.*, t. 37, 1973, p. 459-466).

J.-F. BIELLMAN, G. BRANLANT et A. OLOMUCKI, *Stereochemistry of the hydrogen transfer to the coenzyme by octopine dehydrogenase* (*FEBS Letters*, t. 32, 1973, p. 254-256).

A. OLOMUCKI, C. HUC, F. THOMÉ-BEAU et N. v. THOAI, *A new enzyme terminating the glycolysis pathway : the single chain octopine dehydrogenase* (*Abstr. 9th Internatl. Congr. Biochem.*, Stockholm, 1973, p. 60, 2e5).

F. THOMÉ-BEAU et A. OLOMUCKI, *Presence of a single essential histidyl residue in octopine dehydrogenase as shown by photooxidation* (*Eur. J. Biochem.*, t. 39, 1973, p. 557-562).

P.-L. LUISI, A. OLOMUCKI, A. BAICI et D. KARLOVIC, *Fluorescence properties of octopine dehydrogenase* (*Biochemistry*, t. 12, 1973, p. 4100-4106).

J. BOUHNİK, O. MICHEL, A. LEBLANC et R. MICHEL, *Influence du diiodo-3,5-hydroxy-4-benzoate de n-butyle sur les fonctions des mitochondries hépatiques et corticosurrénales de rat* (*Biochem. Pharmacol.*, t. 23, 1974, p. 411-420).

J.-P. CLOT, M. BAUDRY et R. MICHEL, *Analyse électrophorétique des protéines mitochondriales de foie de rats normaux et thyroïdectomisés* (*Compt. Rend. Acad. Sc.*, t. 277, 1973, p. 1953-1955).

J. BOUHNİK, O. MICHEL et R. MICHEL, *Caractérisation de la tRNA-nucléotidyltransférase dans les mitochondries musculaires de rat normal et thyroïdectomisé* (*Biochimie*, t. 55, 1973, p. 1179-1181).