

Biochimie cellulaire

M. François GROS, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

Biochimie du cytosquelette et information transmembranaire

La biologie moléculaire est venue apporter, durant ces trois dernières décennies, des données d'une grande importance sur la structure, le fonctionnement et la régulation des gènes, en même temps qu'elle éclairait d'un jour nouveau les relations structure-fonction intervenant dans l'activité catalytique des protéines. D'autres phénomènes biologiques fondamentaux à l'échelon cellulaire sont longtemps demeurés à l'écart de ses préoccupations s'agissant, par exemple : de la motilité cellulaire, des mécanismes d'adhésion aux surfaces, ou encore des phénomènes de réarrangements membranaires, voire du transfert de l'information du milieu ambiant vers le milieu intracellulaire.

Depuis quelques années toutefois, un faisceau de données nouvelles ont pu être accumulées qui établissent l'existence, au sein de toute cellule eucaryote, d'un « réseau » complexe de nature filamentaire, le *cytosquelette*, réseau dont l'étude permet d'avoir accès à l'ensemble des phénomènes évoqués ci-dessus. Notre cours a donc été consacré cette année à la Biochimie des éléments intervenant dans la constitution du cytosquelette et aux phénomènes d'information transmembranaire.

A) *Biochimie du cytosquelette*

Nous nous sommes intéressé à la morphologie ultrastructurale et aux propriétés biochimiques des principaux éléments du cytosquelette. Celui-ci comprend en gros trois classes de réseaux :

a) *Un réseau microfilamentaire* composé pour une large part d'actine (formes β et γ distinctes de la forme « α » exclusivement présente dans le tissu musculaire). Dans ces microfilaments l'actine existe rarement à l'état non combiné : elle est le plus souvent associée à des molécules ou fibres de myosines et de tropomyosines dites « cytoplasmiques » (pour les distinguer des protéines contractiles trouvées dans le sarcomère).

Ces microfilaments d'actine, dont on peut suivre la distribution intracellulaire, soit après qu'ils aient été amenés à former des complexes artificiels (décoration) avec la fraction lourde de la myosine (HMM), soit après fixation d'anticorps anti-actine fluorescents, peuvent exister sous deux états : un état « diffus » de localisation sous-membranaire, ou un état « organisé ». Dans ce dernier cas les filaments fins d'actine (diamètre 60 Å) s'assemblent latéralement en câbles d'épaisseur variable, câbles dénommés « stress fibers » par les auteurs anglo-saxons. En effet si l'état diffus s'observe principalement dans les cellules à morphologie arrondie possédant la propriété d'être motiles et en phase de division, les câbles épais se forment après que les cellules, généralement en fin de mitoses, adhèrent à d'autres cellules pour former des assemblages tissulaires, ou s'accrochent à des substrats artificiels. Les facteurs régissant la conversion des microfilaments en câbles ont été analysés en détail. Nous avons notamment passé en revue les principales interactions qui peuvent intervenir entre l'actine cytoplasmique et diverses protéines capables d'en modifier l'état conformationnel (prophylline, myosine, tropomyosine, désoxyribonucléase, filamine, etc.). Les propriétés moléculaires des actines cytoplasmiques et musculaires ont également été comparées en ce qui concerne leurs aptitudes à stimuler l'activité ATPasique Mg^{++} dépendante de la myosine, leurs structures primaires ou d'autres paramètres physicochimiques et biochimiques.

L'interaction des filaments d'actine avec les couches internes de la membrane plasmique a également été décrite en se référant aux travaux d'immunologie ultrastructurale qui démontrent l'importance privilégiée de protéines telles que l' α -actinine et la composante 32 K dans l'ancrage des filaments à la membrane. Les cellules épithéliales présentes dans la bordure en brosse des villosités intestinales constituent pour ce type d'étude un modèle d'un intérêt particulier.

L'actine (et d'ailleurs également la tubuline) n'intervient pas seulement en tant qu'élément modulateur de la motilité et de l'adhésion cellulaires ou pour assurer des déformations de la membrane plasmique au cours des processus sécrétoires. Elle joue également un rôle, perçu depuis peu, dans l'état de compaction de la chromatine. Outre qu'elle semble intervenir dans la conversion de l'euchromatine en hétérochromatine, on peut en démontrer la présence dans les chromosomes en « écouvillons » des ovocytes de pleurodèles. Des expériences démontrent notamment que la rétraction de ces chromosomes est probablement assurée par un complexe acto-myosinique particulier (Karsenti ; Bornens).

b) *Réseau des microtubules.* De localisation plus profonde, les microtubules sont des assemblages rigides composés de sous-unités, les *tubulines*, protéines

comprenant elles-mêmes deux classes distinctes, les α et les β tubulines. Les α et β tubulines représentent à leur tour des familles de polypeptides apparentés quoique séparables d'après leurs propriétés isoélectriques. Des études extrêmement poussées ont été menées depuis quelques années dans différents laboratoires tant aux Etats-Unis (Kirschner) qu'en France (Nunez ; Pantaloni, etc.), études visant à préciser la périodicité d'assemblage des sous-unités dans les polymères, ou les mécanismes d'élongation de ces derniers. Le GTP, les ions Ca^{++} , la température et divers facteurs protéiques spécifiques (facteurs « tau », MAPS, etc.) règlent de façon précise le degré et la vitesse de polymérisation des tubulines.

Les réseaux microtubulaires n'interviennent pas seulement en tant qu'éléments de rigidification permettant l'assemblage de plusieurs câbles d'actine ; ils jouent comme l'on sait un rôle privilégié au cours de la mitose pour assurer le mouvement des chromosomes de la plaque équatoriale vers les « asters ».

c) *Filaments intermédiaires*. On range dans cette catégorie des filaments dont la section a une dimension intermédiaire entre celle des microfilaments d'actine et celle des microtubules. Si la diversité des éléments de ce réseau est grande, leur rôle physiologique demeure encore mal connu. Ils ont des morphologies variables présentant souvent des embranchements plus ou moins complexes. Ces filaments sont constitués de sous-unités ayant des masses molaires, des structures primaires et des propriétés antigéniques très différentes selon la nature des tissus d'origine, ex. :

- les tonofilaments, formés de *prékératines* dans les cellules épithélioïdes,
- les filaments formés de *vimentine* dans les cellules mésenchymateuses,
- les gliofilaments des cellules gliales, formés de la *protéine fibrillaire acide*,
- les filaments intermédiaires du muscle, composés d'assemblages de *desmine*,
- les neurofilaments comprenant des sous-unités de masse molaire élevée, etc.

Certaines cellules peuvent néanmoins comporter deux, voire trois types de réseaux distincts de filaments intermédiaires, les réseaux à vimentine étant les plus fréquents.

Le rôle des neurofilaments et des neurotubules dans le transfert du flux axoplasmique et dans la mécanique de régénération du neurone a été discuté.

B) *Influence de la transformation oncogène sur le système de câblage cytoplasmique*

Un second aspect général de ce cours a concerné le devenir des éléments du cytosquelette dans des cellules animales transformées par un virus cancérogène. On sait en effet que de telles cellules perdent les propriétés de « topoinhibition », redeviennent motiles, et ceci s'accompagne, entre autres conséquences, de modification dans leur capacité de transporter les hexoses et de la disparition d'un cytosquelette organisé. On connaît encore assez mal les bases moléculaires de ces effets pléiotropes. On sait néanmoins que tous les virus cancérogènes, qu'ils soient à RNA (ex. : virus sarcomatogènes ou leucémogènes) ou à DNA (SV₄₀, polyome, adénovirus, etc) doivent leur propriété transformante à la présence d'un gène particulier (ex. : gène « sarc » des virus cancérogènes à RNA), codant pour une phosphoprotéine douée d'activité phosphorylante vis-à-vis d'un ensemble de protéines.

L'un des mécanismes supposés de la transformation maligne viro-induite pourrait donc consister dans une phosphorylation d'un des éléments du cytosquelette conduisant à la désorganisation de l'ensemble. Cette situation aurait notamment pour conséquence un arrêt dans le transfert d'information transmembranaire, conduisant par exemple à la topoinhibition.

Une partie importante de notre cours a été consacrée aux propriétés du gène « sarc » et à la nature des « kinases » viro-induites.

C) *Information transmembranaire*

La membrane plasmique commence à être mieux appréhendée tant du point de vue biochimique que physico-chimique : le rôle des glycoprotéines de surface, comme celui des protéines dites « intégrales » qui traversent les deux feuillettes parallèles de la membrane, enfin celui des micelles lipidiques orientés, fait l'objet de nombreuses études. De nombreuses interactions : glucides-glucides ; protéines-protéines ; lipides-lipides ou encore glucides-protéines et lipides-protéines, se font jour au cours des phénomènes de déformations membranaires ou pendant la fixation d'un ligand externe à son récepteur.

Que la membrane plasmique soit l'objet de remaniements cinétiques permanents est d'ailleurs révélé par les phénomènes bien connus de « patching » et de « capping » observés lorsqu'un anticorps ou une lectine multivalente sont fixés à leurs récepteurs de surface. Ces récepteurs s'assemblent d'abord en « amas » plus ou moins réguliers, qui sont concentrés en un pôle particulier de la cellule constituant une « calotte » caractéristique.

Ces phénomènes de « capping » peuvent être notamment inhibés dans des conditions où l'organisation des câbles d'actine et les microtubules se trouvent

affectés, par exemple sous l'influence d'agents tels que la cytochalasine B ou les dérivés de la colchicine. Une telle observation (et d'autres de même nature) a conduit Edelman et ses collaborateurs à proposer l'existence chez les organismes eucaryotiques d'un complexe d'assemblage intervenant dans la modulation des phénomènes de surface (ou « surface modulating assembly », SMA). Ce système SMA permettrait une communication — et partant, un transfert d'information — entre les récepteurs de surface et l'intérieur de la cellule, du moins les régions cytosoliques sous-plasmiques ainsi d'ailleurs, peut-être aussi, que les régions péri-nucléaires. A l'inverse, ce sont les remaniements des câbles d'actine et leur interaction avec les microtubules d'une part, avec certaines protéines de surface telles que la protéine X d'autre part, qui assureraient les mouvements translationnels des récepteurs au cours des processus de « capping ».

L'existence de la protéine X a été proposée par l'Ecole de Singer, à la suite d'ingénieuses et patientes études sur le phénomène d'« alignement » des récepteurs des lectines, alignement qui, dans certaines conditions, semble se produire à la surface cellulaire, par rapport à certains « méridiens » lesquels représenteraient les points d'affleurement des câbles d'actine, cet affleurement étant assuré par une protéine encore non identifiée (d'où le nom de protéine X). La protéine X pourrait contracter des associations privilégiées avec plusieurs récepteurs de surface et servirait d'élément de jonction transmembranaire entre récepteurs et réseau filamentaire d'actomyosine.

F. G.

SÉMINAIRES

Les séminaires ont directement porté sur les thèmes développés au cours : Biochimie du cytosquelette ; isoformes des protéines contractiles ; gliofilaments, neurotubules, rôle des câbles d'actine dans la compaction des chromosomes ; rôle des microtubules dans le centriole et dans l'orientation des plans de division de la cellule ; nature des gènes « transformants », etc.

M^{me} D. PAULIN (Paris), *Développement des réseaux cytoplasmiques au cours de la différenciation cellulaire.*

M. R. WHALEN (Paris), *Biochimie des protéines contractiles cytoplasmiques.*

M. M. BORNENS (Paris), *Cytosquelette et organisation cellulaire.*

M. E. KARSENTI (Paris), *Protéines contractiles du noyau d'ovocyte.*

M. J. NUNEZ (Paris), *Sur les neurotubules.*

M^{me} N. BAUMANN (Paris), *Sur les gliofilaments.*

M. D. STEHELIN (Lille), *Structure et origine des rétrovirus des leucémies aiguës aviaires.*

ACTIVITÉS DU LABORATOIRE

BIOCHIMIE CELLULAIRE

Apport des marqueurs membranaires à l'étude du développement neuronal
(Y. BERWALD-NETTER, A. KOULAKOFF, E. HOUZET)

L'orientation principale de notre programme de recherche porte sur l'étude des composants de surface de la membrane plasmique des neurones. Dans cette optique nous avons tout d'abord élaboré des antisérums réagissant spécifiquement avec des antigènes de surface neuronaux. La caractérisation détaillée de ces antisérums a fait l'objet des rapports précédents. Nous insisterons donc plus particulièrement sur l'utilisation que nous avons pu faire, au cours de l'année écoulée, de ces anticorps ainsi que d'autres marqueurs (tels que des neurotoxines connues) en tant que sondes moléculaires permettant de suivre l'évolution et la maturation neuronale au cours de l'ontogenèse *in vivo* et en fonction du temps en culture. Trois ligands marqueurs de surface, spécifiques du neurone ont été employés :

- i - les antisérums anti-neuroblastome (α -Nb),
- ii - la toxine tétanique (Tt),
- iii - une toxine de scorpion (ScTx).

L'examen de la liaison spécifique de ces ligands sur des cellules dérivées du cerveau fœtal de la souris, à divers stades de l'ontogenèse, démontra que tous les trois détectent des sous-populations de cellules très précocement i.e. dès le 11^e ou le 12^e jour de gestation. La quasi-totalité des cellules liant la Tt sont aussi α -Nb⁺ ; leur abondance absolue et relative s'accroît au cours du développement de sorte que l'on trouve $\sim 3\%$ des cellules liant les anticorps α -Nb et/ou la toxine Tt à 11 jours de gestation et $\geq 60\%$ vers 18 jours. Cependant à tous les stades on trouve de l'ordre de 10% de cellules α -Nb⁺/Tt⁻. La possibilité qu'il s'agit d'une population de cellules précurseurs de neurones est en cours d'étude.

La toxine de scorpion a été employée puisqu'on sait qu'elle se fixe spécifiquement à un site récepteur associé au canal Na⁺ des cellules excitables. (Cet aspect de notre travail est le fruit d'une collaboration avec le D^r F. Cou-

RAUD et M^{me} N. MARTIN du laboratoire de Biochimie de la Faculté de Médecine Nord de Marseille.) Deux questions ont été abordées : le récepteur de cette neurotoxine est-il un marqueur membranaire spécifique du neurone ? Si oui, peut-on l'utiliser pour suivre la maturation neuronale ? La réponse à la première de ces questions provient de l'examen de la fixation de la toxine marquée par l'iode 125 sur une série de cellules (lignées clonales ou cultures primaires) de phénotypes variés (neuronal, glial, musculaire, fibroblastique) : seules les cellules excitables de phénotype neuronal sont capables de lier la toxine spécifiquement et avec une haute affinité ($K_D \simeq 0,2$ nM). L'étude de sa liaison au cours du développement du système nerveux central de la souris a conduit aux constatations suivantes :

1) la fixation spécifique de la ScTx devient détectable à partir du 12^e jour de gestation de la souris ;

2) le nombre des sites récepteurs et leur densité par cellule croît avec l'âge fœtal, lentement jusqu'au 16^e jour et considérablement ensuite, passant de 120/cellule ou $0,6/\mu\text{m}^2$, au 12^e jour, à 20 000/cellule ou $100/\mu\text{m}^2$, au 19^e jour de gestation.

3) la toxine se fixe à une seule classe de sites indépendants dont les caractéristiques varient peu avec l'âge mais dont l'affinité dépend du potentiel de la membrane ;

4) la présence et l'évolution des sites de liaison spécifiques de la ScTx est systématiquement corrélée avec l'apparition *in vivo* et le maintien en culture des cellules liant la toxine tétanique ;

5) dans des cultures de cellules gliales, seule une fixation non spécifique de faible niveau est décelable.

Il apparaît donc très clairement que le récepteur à haute affinité de la toxine de scorpion constitue un nouveau marqueur spécifique du neurone. Ainsi les anticorps et la toxine Tt nous ont permis, grâce à l'abondance des récepteurs membranaires correspondants, d'identifier et d'énumérer les neurones à des phases très précoces de l'organogenèse ; la toxine de scorpion a permis, par un test radiométrique sensible, de mesurer le degré relatif de maturation des neurones, dont la densité de récepteurs par cellule constitue un index quantitatif.

Régulation de certaines protéines du cytosquelette sous l'effet d'un agent inducteur de la morphogenèse neuronale

(B. CROIZAT, M.M. PORTIER, F. BERTHELOT, C. SAHUQUILLO)

Nous avons montré que l'acide 1-méthyl-1-cyclohexane carboxylique (CCA) induit la différenciation morphologique des cultures de neuroblastome.

L'analyse, en électrophorèse bidimensionnelle, des protéines cellulaires montre que le CCA modifie les proportions relatives des isotubulines α et β . Il stimule fortement la synthèse d'un filament intermédiaire du cytosquelette, la vimentine, lorsque les cellules adhèrent au substrat. L'action du CCA est également marquée au niveau d'autres protéines liées aux membranes. Ces protéines sont en cours d'identification et pourraient, pour certaines, être des neurofilaments.

Des modifications relatives des isotubulines et des filaments intermédiaires ont été décrites au cours de la différenciation neuronale et dans le cadre de la physiologie du neurone. Avec le CCA, nous disposons à ce niveau d'un puissant moyen d'investigation.

Expression génétique de la tubuline

(C. JEANTET, M.M. PORTIER, P. DENOULET, A. WOLFF, B. EDDÉ,
C. SAHUQUILLO)

La tubuline, protéine majeure des microtubules, participe à une pluralité de fonctions cellulaires. Elle est présente dans la cellule sous plusieurs isoformes ; cette microhétérogénéité varie d'un organe à un autre.

Nous avons recherché l'évolution de cette microhétérogénéité au cours de la différenciation morphologique de neuroblastomes murins, ce qui nous a permis de conclure à une modulation de certaines isoformes β -tubulines au cours de la transition cellulaire.

Cette évolution de la microhétérogénéité est plus marquée au cours du développement du cerveau de souris. Nous avons mis en évidence l'apparition de deux α -tubulines et trois β -tubulines au cours de l'ontogenèse du cerveau embryonnaire et postnatal. La mise au point d'une technique très résolutive permettant l'analyse des isoformes nous conduit à préciser l'existence de onze isotubulines dans le cerveau de souris adulte. L'étude ontogénique du foie aux mêmes stades de développement nous permet de conclure à une plus faible microhétérogénéité des tubulines hépatiques et à l'existence d'une sous-unité qui ne s'exprime pas dans le cerveau.

Parallèlement nous avons procédé à la purification du RNA messager spécifique de la tubuline par gradient de formamide sucrose. Ceci nous a permis d'obtenir une population de RNA messagers au sein de laquelle la séquence codante de la β -tubuline est largement majoritaire.

Expression génétique d'une protéine marqueur de développement du tissu nerveux : l'énolase spécifique du neurone ou protéine 14-3-2

(L. LEGAULT, N. LAMANDÉ, Y. ZEITOUN)

Nous avons poursuivi l'analyse de l'expression qualitative et quantitative de la protéine 14-3-2 au cours de la différenciation neuronale.

Dans le tissu nerveux adulte coexistent deux formes émolase : une forme E_1 , ubiquitaire, présente dans les cellules gliales, et une forme E_3 ou 14-3-2 spécifique du tissu nerveux, qui est trouvée seulement dans les neurones. L'étude de l'expression de ces formes au niveau d'un seul type cellulaire a été rendue possible grâce aux cultures homogènes de neuroblastomes. Au cours de la différenciation de ces cellules les formes émolase E_1 et E_3 sont successivement exprimées dans une même cellule de type neuronal, dans laquelle elles peuvent transitoirement coexister. La différenciation privilégie l'expression du gène E_3 et réduit partiellement celle du gène E_1 . L'extinction totale de l'expression du gène E_1 exige sans doute la présence d'autres signaux absents dans les cultures de neuroblastomes et qu'il conviendra de rechercher.

L'existence d'une éventuelle modulation qualitative de la molécule 14-3-2 au cours du développement a été suggérée par des expériences utilisant la technique de fixation du complément pour déterminer le niveau de cet antigène dans les cellules. Les protéines 14-3-2 embryonnaire et adulte apparaissent comme deux antigènes légèrement différents. L'étude d'une telle hétérogénéité de la molécule est en cours.

En ce qui concerne l'expression quantitative de la protéine, la détermination du taux de synthèse relatif de la protéine 14-3-2 *in vivo* et celle du niveau de l'ARN messager cytoplasmique spécifique de cette protéine suggèrent que l'accumulation de cette protéine au cours de la différenciation des neuroblastomes est probablement due à une stabilisation de la molécule, ce qui va être vérifié.

Cependant, une étude plus fine des mécanismes moléculaires de l'expression de cette protéine au cours du développement et de l'organisation du gène correspondant demande de disposer d'une sonde moléculaire représentée par la séquence DNA correspondant à la protéine. L'obtention d'une telle sonde exige le clonage du gène de structure de la protéine. Des expériences exploratoires sont en cours pour décider si une telle démarche, justifiée au point de vue théorique, est raisonnablement réalisable dans le cas d'une protéine minoritaire telle que la 14-3-2.

Expression de l'acétylcholinestérase (AChE) chez le neuroblastome

(M. LAZAR et C. SAHUQUILLO)

L'AChE joue un rôle essentiel dans les mécanismes cholinergiques en hydrolysant rapidement l'ACh. Les divers clones de neuroblastome que nous avons analysés produisent les formes monomériques (G1), dimériques (G2) et tétramériques (G4) de l'AChE mais pas les formes asymétriques possédant un élément collagénique. Nous avons pu montrer que chez les cellules en division comme chez les cellules différenciées la forme G4 est associée à la membrane plasmique et constitue le support de l'activité AChE dosable sur des cellules entières (ectoactivité). Lors de la transition de l'état blastique à l'état différencié l'activité AChE totale augmente mais la forme de surface G4 s'accumule préférentiellement. Au cours de ce processus un variant soluble de chacune des formes G1, G2 et G4 est sécrété par les cellules dans leur milieu de culture. Le neuroblastome apparaît donc comme un modèle expérimental très utile pour rechercher les mécanismes qui contrôlent la maturation et la localisation des formes globulaires de l'AChE. Dans ce but nous procédons actuellement à la mise au point de techniques de séparation des diverses formes néosynthétisées en présence d'isotopes lourds. Cette méthodologie devrait permettre d'élucider les relations métaboliques entre l'enzyme cellulaire et sécrété ainsi que de déterminer les taux de synthèse et de dégradation de l'AChE dans les cellules blastiques ou différenciées. Ce travail est effectué en collaboration avec l'équipe de J. MASSOULIÉ (Ecole Normale Supérieure).

Structure et régulation de la tyrosine hydroxylase

(J. THIBAUT, R. DRISSI DAUDI, S. EL MESTIKAWY)

A partir de phéochromocytome de rat il a été possible d'extraire deux chaînes polypeptidiques porteuses de l'activité tyrosine-hydroxylase (TH).

Par centrifugation sur gradient de saccharose, l'enzyme sédimente avec une constante de sédimentation de 9S. Par électrophorèse en condition dénaturante, la TH se présente sous forme d'un doublet, colorable par le bleu de Coomassie de masse moléculaire 60 000 et 62 000.

La TH est protéolysable par action de la trypsine ; elle conduit à des peptides inactifs. Au cours de l'action de l'enzyme protéolytique on assiste tout d'abord à une activation de la TH puis l'activité décroît jusqu'à la disparition simultanée d'une forme protéolysée de masse moléculaire 58 000, mesurée par électrophorèse en gel d'acrylamide et en présence de SDS. La

forme native de la TH déterminée sur gradient a révélé que l'activité est seulement portée par le tétramère.

L'étude de l'interaction de l'enzyme avec son antisérum a montré que l'enzyme était activable par le sérum sans qu'une protéolyse n'ait pu être détectée. L'activité accrue de l'enzyme s'explique par une augmentation de l'affinité pour son cofacteur ptéridique.

Synthèse de la tyrosine-hydroxylase

(J. THIBAUT, D. VIDAL)

L'obtention d'un antisérum spécifique de la tyrosine hydroxylase (TH) a ouvert la voie à l'étude de la synthèse de l'enzyme, quelle que soit son activité spécifique. Des expériences préliminaires ont montré que, par immunoprécipitation, il était possible de doser quantitativement la TH dans un surnageant brut de phéochromocytome.

La mesure du taux de synthèse de la TH dans des tumeurs placées en cultures primaires en présence d'acides aminés radioactifs va nous permettre de connaître le niveau d'expression de ce gène. Si le taux relatif est élevé, la traduction *in vitro* des messagers extractibles de ces tumeurs nous permettra d'atteindre le taux de transcription du messenger codant pour cette enzyme.

Effet de la colchicine sur la synthèse et la sécrétion des protéines

(J. THIBAUT, A. MARKS, en collaboration avec R. WHALEN, de l'Institut Pasteur)

La colchicine à la concentration de 1 μ molaire inhibe de 80 % la synthèse de la protéine S100 dans les cultures de cellules gliales C6. La drogue n'a d'effet ni sur la synthèse protéique totale, ni sur la synthèse relative de la même protéine S100 dans un système de traduction acellulaire des messagers extraits des cellules C6. L'examen par la technique d'électrophorèse bidimensionnelle a révélé que la colchicine ne modifiait pas de façon significative la qualité et la quantité des protéines nouvellement synthétisées mais qu'elle avait un effet sélectif sur la sécrétion de certaines protéines en inhibant la plupart et en stimulant un petit nombre de protéines faiblement représentées.

PROTÉINES CONTRACTILES

Au cours de cette année l'Equipe de Recherche du C.N.R.S. n° 230 a développé principalement les sujets concernant l'étude des protéines contractiles cytoplasmiques et musculaires.

I. - *Protéines contractiles de la plaquette sanguine humaine*

Nous avons continué d'étudier les propriétés de polymérisation de l'actine plaquettaire et de rechercher des facteurs protéiniques cellulaires susceptibles de modifier son état d'agrégation.

1. Les résultats de l'étude de l'actine purifiée de plaquette montrent une analogie de propriétés avec l'actine de muscle strié en ce qui concerne le degré d'activation de la Mg^{2+} -ATPase de la myosine ainsi que la concentration critique et le rendement de la polymérisation. Par contre, la viscosité réduite de l'actine-F plaquettaire s'est avérée beaucoup plus faible que celle de l'actine musculaire.

En modifiant la méthode de purification, nous avons obtenu une actine de plaquette dont la viscosité et l'image des filaments au microscope électronique sont très proches de ceux de l'actine sarcomérique.

(M. COUÉ, A. OLOMUCKI et F. LANDON)

2. Une fraction protéinique composée principalement d'un polypeptide de 100 000 daltons a pu être isolée des extraits de plaquettes. Cette fraction a la propriété d'empêcher l'augmentation de la viscosité de l'actine-G de muscle, placée dans des conditions de polymérisation, et de diminuer fortement la viscosité de l'actine-F. Ce polypeptide semble former des complexes aussi bien avec l'actine de plaquette qu'avec l'actine de muscle. Sa purification est actuellement en cours.

(F. LANDON et A. OLOMUCKI)

3. Le développement de l'étude du système de régulation par le calcium de la Mg^{2+} -ATPase de l'actomyosine de plaquette sanguine nous a amenés à rechercher la présence de la troponine de cette cellule. Nous avons réussi à isoler des extraits plaquettaires une fraction protéinique ayant, en commun avec la troponine I musculaire, les propriétés suivantes :

- caractère basique et stabilité vis-à-vis de l'éthanol ;
- capacité d'inhiber la Mg^{2+} -ATPase de l'actomyosine mais inefficacité vis-à-vis de celle de la myosine. Cette inhibition est indépendante de la pré-

sence du Ca^{2+} ; elle est renforcée par la présence de la tropomyosine et notablement diminuée par l'addition de la troponine-C et du Ca^{2+} .

(F. THOMÉ, C. HUC et A. OLOMUCKI)

4. Nous avons abordé un autre aspect de la relation entre les protéines contractiles et l'activité des plaquettes sanguines. Il s'agit des effets produits par différents activateurs au niveau de la membrane plaquettaire. L'ADP étant l'un des plus spécifiques, nous avons entrepris de caractériser son site récepteur sur la membrane. Pour cela, des analogues de l'ADP capables de produire sur la plaquette les mêmes effets stimulants que l'ADP lui-même ont été synthétisés. La fixation covalente de ces analogues sur la plaquette intacte permet un marquage d'affinité du récepteur membranaire de l'ADP. Ces résultats constituent le point de départ d'une étude des relations de ce récepteur avec les constituants membranaires et cytoplasmiques et, en particulier, avec les filaments d'actine sous-membranaires.

(D.B. PHO et A. OLOMUCKI)

II. - Cytokinèse

Les résultats de nos travaux précédents sur la polymérisation de l'actine par les polyamines biologiques nous avaient amenée à proposer un mécanisme pour l'induction de la cytokinèse. Nous avons émis l'hypothèse que les filaments d'actine qui constituent l'anneau contractile sont formés par l'action des polyamines, spermidine et spermine. La contraction de cet anneau induit la cytokinèse. Cette hypothèse a été confirmée *in vivo* par des chercheurs américains et allemands.

(C. ORIOL-AUDIT)

III. - Myosine

En collaboration avec le Professeur Reisler (U.C.L.A., U.S.A.) qui a synthétisé des filaments homogènes de myosine, nous avons utilisé ces filaments comme modèle pour étudier *in vitro* le mécanisme de formation et de dissociation des filaments de myosine dans les cellules musculaires et non-musculaires.

(C. ORIOL-AUDIT)

IV. - *Octopine déshydrogénase (ODH)*

1. *Caractérisation des formes multiples*

Les différentes études entreprises sur les deux formes de l'ODH de Pecten isolées au laboratoire montrent que, malgré une apparente homologie de structure et un mécanisme catalytique semblable, ces deux formes préexistent chez les animaux vivants et sont bien distinctes.

(M.-O. MONNEUSE, F. LEFÉBURE et A. OLOMUCKI)

2. *Etude des interactions enzyme-ligands*

Cette étude a été poursuivie par la mesure du déclin de la fluorescence intrinsèque de l'enzyme. La méthode employée met en œuvre une excitation impulsionnelle très brève des résidus tryptophanyles. L'analyse de la cinétique d'émission et l'étude du déclin de l'anisotropie de fluorescence donne des renseignements sur des changements conformationnels de l'enzyme lors de la fixation des substrats.

(M.-O. MONNEUSE et A. OLOMUCKI, en collaboration avec J.-C. BROCHON, LURE, Orsay)

V. - *Cristallogénèse des protéines*

1. Des paracristsaux d'actine ont été obtenus par l'action des polyamines biologiques. L'étude de ces paracristsaux est réalisée par diffraction optique par le D^r Dickens au King's College, à Londres.

(C. ORIOL-AUDIT)

2. L'étude de la croissance cristalline des actines sarcomérique et plaquettaire est poursuivie.

(C. DUBORD, C. ORIOL-AUDIT et A. OLOMUCKI)

CHIMIE BIOORGANIQUE

L'équipe de M. OLOMUCKI a poursuivi des recherches sur la mise au point de nouveaux réactifs de pontage acides nucléiques - protéines destinés aux études de la structure de divers systèmes biologiques composés de ces macromolécules. L'un des produits ainsi obtenus, l'azido-4 benzoylaminoacetimidate d'éthyle, s'est montré particulièrement bien adapté à l'étude de l'agencement protéines - acides nucléiques dans les ribosomes. Dans une première étape, la

fonction imidoester de ce composé réagit avec les groupements $-NH_2$ des protéines ribosomales ; une irradiation UV provoque ensuite une photolyse de l'azide qui attache l'autre extrémité du réactif à l'ARN voisin. L'étude du ribosome procaryote, effectuée à l'aide de ce composé par J.P. Ebel, B. Ehresmann et leurs collaborateurs à l'I.B.M.C. de Strasbourg, a montré que l'action du réactif sur la sous-unité 30S intacte permet de déceler des zones de contact entre l'ARN 16S et les protéines S3, S4, S5, S9, S17 et S18. Dans un autre travail, la protéine S1 isolée a été d'abord traitée par le réactif, puis réassociée avec la sous-unité 30S dépourvue de protéine S1. L'irradiation a alors induit un pontage de cette protéine avec l'ARN 16S dans une région comprise entre les nucléotides 861 et 889 ; ainsi, pour la première fois un pontage a pu être effectué dans ce cas dans une zone autre que la région 3'-OH.

Par ailleurs, l'étude de la structure du ribosome d'*Escherichia coli* à l'aide d'un autre réactif récemment synthétisé au laboratoire et comprenant un fragment intercalant azidoacridine s'attachant spécifiquement aux acides nucléiques, est actuellement poursuivie au Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik à Berlin (R. Brimacombe et coll.). Parallèlement nous cherchons à mettre au point un nouveau réactif de cette famille combinant un dérivé photoactivable de l'acridine avec une fonction imidoester.

Les essais en vue d'élaborer une méthode générale de modification chimique des bases des acides nucléiques ont donné des résultats encourageants. L'action des composés acétyléniques polyfonctionnels sur l'adénosine, choisie comme premier exemple, conduit à des dérivés comportant un groupement alkylant et dont certains sont fluorescents. Ces travaux sont actuellement développés dans diverses directions.

ENDOCRINOLOGIE

Les travaux sont relatifs à l'étude des mécanismes des hydroxylations des oxycholestérols en présence de mitochondries de diverses origines et à des recherches sur les effets des hormones thyroïdiennes au niveau subcellulaire.

I. - Mécanisme des hydroxylations des oxycholestérols

L'influence de la thyroïdectomie sur les vitesses de consommation d'oxygène est déterminée lorsque le cholestérol et ses dérivés hydroxylés en 20R et en 22R ainsi que son isomère synthétique en 22S sont ajoutés à des préparations mitochondriales de corticosurrénales et de tissu interstitiel testiculaire.

En présence de malate-isocitrate comme substrat pour les mitochondries corticosurréaliennes, les vitesses d'utilisation de l'oxygène exprimées en nmoles de O_2 par min par mg de protéines sont, pour les animaux normaux de 26, 152, 73 et 41 avec le cholestérol, le 22R, le 20R et le 22S respectivement. Pour les rats thyroïdectomisés, les valeurs correspondantes sont de 10, 112, 45 et 25. En présence de malate comme substrat pour les mitochondries testiculaires de rats normaux, les vitesses d'utilisation de l'oxygène sont de 12,5, 9,7 et 9,2 avec le 22R, le 20R et le 22S respectivement. Pour les rats thyroïdectomisés, les valeurs correspondantes sont de 8,8, 7,8 et 7,3. Dans les deux types de préparation surrénalienne et testiculaire, la quantité totale d'oxygène fixée sur le 20R ou le 22R pour former le dérivé dihydroxylé en 20R, 22R est la même pour les rats normaux et thyroïdectomisés. Ainsi la thyroïdectomie entraîne une diminution de la vitesse de consommation d'oxygène avec les dérivés hydroxylés naturels du cholestérol, mais n'a aucun effet avec le 22S ou avec le cholestérol.

Le NADPH, énergie nécessaire pour les réactions d'hydroxylation, est fourni par deux enzymes mitochondriales, d'une part les transhydrogénases et, d'autre part, l'enzyme malique. L'activité transhydrogénase pour les corticosurrénales de rats normaux et thyroïdectomisés est de 8,2 et 5,6 nmoles de NADPH formé par min par mg de protéine et 1,6 et 1,2 pour les testicules de rats normaux et thyroïdectomisés.

En conclusion, la thyroïdectomie ralentit l'étape limitante de la synthèse des stéroïdes aussi bien dans les corticosurrénales que dans les testicules, et ceci essentiellement à cause de la réduction du gradient de protons. Une partie de ce travail a été présentée au Congrès International sur la glande thyroïde, Melbourne, février 1980.

II. - Désiodation périphérique de la thyroxine (T_4) et effet précoce de la thyroïdectomie sur les mitochondries hépatiques de rat

Des recherches ont été entreprises pour étudier la désiodation de la thyroxine chez le rat. Dans une première série d'essais on a utilisé une minipompe osmotique, implantée chez des rats immédiatement après thyroïdectomie, délivrant 2 $\mu\text{g}/100$ g/jour de T_4 . Cette technique permet le maintien d'une concentration sérique normale de T_3 par désiodation périphérique de T_4 . Dans une deuxième série d'expériences, on a comparé des souris génétiquement obèses, ob/ob, à leurs témoins de même souche (Ob/—). Les obèses présentent un taux de 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T_3) sérique élevé qui est vraisemblablement dû à une désiodation périphérique accrue de T_4 en T_3 . Au cours du jeûne on observe une inversion du métabolisme périphérique de T_4 en 3,3',5'-triiodo-L-thyronine (rT_3) chez le 2^e groupe d'animaux.

Les mitochondries isolées de rats thyroïdectomisés et normaux recevant de la T_3 six jours après la thyroïdectomie ont été utilisées. Les activités des deux enzymes de la membrane interne, les succinate- et β -OH butyrate cytochrome c réductases sont diminuées respectivement de 32 et 50 % alors que l'activité de la NADH-cytochrome c réductase insensible à la roténone de la membrane externe n'est pas changée. La baisse d'activité des enzymes de la membrane interne suit étroitement la disparition de la T_3 et de la T_4 du sérum. Dix heures après l'administration de 25 μ g/100 g de T_3 à des rats thyroïdectomisés, l'activité des deux réductases de la membrane interne et la vitesse de consommation de l'oxygène en présence de succinate ou de β -OH butyrate sont nettement augmentées. Par contre, l'activité de la monoamine oxydase et de la NADH cytochrome c réductase de la membrane externe n'est pas modifiée.

Chez le rat thyroïdectomisé, l'incorporation *in vivo* de 3 H-1-leucine est diminuée dans toutes les protéines mitochondriales séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, et spécialement dans deux constituants de poids moléculaire 19 000 et 28 000. La radio-activité de ces deux composants est également abaissée chez le rat normal traité par du chloramphénicol, un inhibiteur spécifique de la synthèse protéique mitochondriale.

L'incorporation de 14 C-1-leucine par des mitochondries isolées est nettement augmentée chez le rat thyroïdectomisé dix heures après le traitement par T_3 .

Ainsi, il semble que les hormones thyroïdiennes aient une action précoce et préférentielle sur le système synthétisant les protéines mitochondriales et sur les activités des enzymes de la membrane interne.

PUBLICATIONS

A. PLET et Y. BERWALD-NETTER, *The relative contribution of somatomedin to the serum-stimulated growth of human fibroblasts* (Biochem. Biophys. Res. Commun., 1980, sous presse).

B. CROIZAT, F. BERTHELOT, A. FELSANI et F. GROS, *Poly (A) - containing RNA sedimentation profiles and sequences complexity in neuroblastoma : immature and differentiated cells in culture* (Gaslini, 1979, 11, p. 148-156).

B. CROIZAT, F. BERTHELOT, B. FERRANDES, P. EYMARD et C. SAHUQUILLO, *Différenciation morphologique du neuroblastome par l'acide 1-méthyl cyclohexane carboxylique (CCA) et certains dérivés en C_1* (C.R. Acad. Sci. Paris, série D, 1979, 289, p. 1283-1286).

A. MARKS, M.-M. PORTIER, Y. ZEITOUN, L. LEGAULT-DEMARE, J. THIBAUT, N. LAMANDÉ, C. JEANTET et F. GROS, *Identification of rat brain polysomes synthesizing the brain specific enolase (14-3-2 protein), S100 protein and α - and β -tubulin subunits* (Biochimie, sous presse).

P. DENOULET, B. EDDÉ, A. WOLFF, M.-M. PORTIER et C. JEANTET, *Microheterogeneity of brain and liver tubulin during mouse development* (13th FEBS Meeting, Jérusalem, 24-29 août 1980).

B. EDDÉ, P. DENOULET, A. WOLFF, M.-M. PORTIER et C. JEANTET, *Isotubulin evolution during neuroblastoma cell differentiation* (Ist Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Strasbourg, 30 juin-4 juillet 1980).

L. LEGAULT-DEMARE, Y. ZEITOUN, D. LANDO, N. LAMANDÉ, A. GRASSO et F. GROS, *Expression of a specific neuronal protein, 14-3-2, during in vitro differentiation of neuroblastoma cells* (Exptl. Cell Res., 1980, 125, p. 233-239).

J. SECCHI, D. LECAQUE, M. COUSIN, D. LANDO, L. LEGAULT-DEMARE, J.-P. RAYNAUD, *Detection and localisation of 14-3-2 protein in primary cultures of embryonic rat brain* (Brain Res., 1980, 184, p. 455-466).

M. LAZAR et M. VIGNY, *Modulation of the distribution of acetylcholinesterase molecular forms in a murine neuroblastoma x sympathetic ganglion cells hybrid cell line* (J. Neurochem., sous presse).

F. THOMÉ, C. HUC, M. COUÉ et A. OLOMUCKI, *Protein from human blood platelets inhibiting actomyosin Mg^{2+} -ATPase* (Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 1979, 360, p. 1370).

F. LANDON, M. COUÉ et A. OLOMUCKI, *Comparison of polymerization properties of β/γ human platelet and α muscle actins* (J. Muscle Res. Cell Motility, 1980, sous presse).

A. OLOMUCKI, C. HUC, F. LANDON et F. THOMÉ, *Association de l'actine de plaquette sanguine avec les protéines cellulaires* (Colloque de la D.G.R.S.T. sur l'action concertée « Mécanisme de reconnaissance à l'échelle moléculaire », 1979, Abstracts p. 179).

C. ORIOL-AUDIT, *Possible inducers of actin polymerization in the cell* (Acta Protozool., 1979, 18, p. 187-188).

C. ORIOL-AUDIT, *The polyamine metabolism and its relation to actin polymerization and cell proliferation* (Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 1979, 360, p. 1374).

S. ODA, C. ORIOL-AUDIT et E. REISLER, *Effects of actin and Ca^{2+} on chymotryptic digestion of skeletal myosin and their implications to the function of light chains* (Biochemistry, 1980, sous presse).

M.-O. MONNEUSE-DOUBLET, F. LEFÉBURE et A. OLOMUCKI, *Isolation and characterization of two molecular forms of octopine dehydrogenase from Pecten maximus L.* (*Eur. J. Biochem.*, 1980, sous presse).

M. OLOMUCKI, M. JERRAM et J.-Y. LE GALL, *Réactifs photoactivables de pontage ARN-protéines* (Colloque D.G.R.S.T., Bombannes, 1979 ; Rés. comm. p. 182).

J. DIPOH et M. OLOMUCKI, *Ethyl bromoacetimidate, a NH₂-specific heterobifunctional reagent. Model reactions with ribonuclease* (*Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1979, 360, p. 1257-1262).

B. EHRESMANN, R. MILLON, C. BACKENDORF, B. GOLINSKA, M. OLOMUCKI et J.P. EBEL, *Interactions RNA-protéines dans le ribosome des procaryotes* (Colloque « Biosynthèse des Protéines », Lyon, 1980 ; Rés. comm. p. 22).

M. OLOMUCKI, M. JERRAM, R. PARFAIT, A. BOLLEN et F. GROS, *A new intercalating nucleic acid - protein cross-linking reagent* (Conference on Biological Implications of Protein - Nucleic Acid Interactions, Poznan, Pologne, 1980).

J. BOUHNİK, J.-P. CLOT, M. BAUDRY et R. MICHEL, *Early effects of thyroidectomy and triiodothyronine administration on rat liver mitochondria* (*Mol. Cell. Endocrinol.*, 1979, 15, p. 1-12).

J.-P. CLOT, J. BOUHNİK, M. BAUDRY et R. MICHEL, *Utilisation d'une mini-pompe osmotique pour l'étude de la désiodation de la thyroxine chez le rat* (*C.R. Acad. Sc. Paris*, 1980, 290, p. 235-237).

C. BENELLI-NÉGRÉ, S.N. PAVLOU, P. DURBIN, O. MICHEL et R. MICHEL, *Cholesterol hydroxylations in adrenal cortex and testis of the thyroidectomized rat* (8th International Thyroid Congress, Sydney, 1980, Abstract n° 74).

S. DURBIN-NALTCHAYAN, J. BOUHNİK et R. MICHEL, *Concentration des iodothyronines sériques au cours du jeûne chez la souris génétiquement obèse* (*C.R. Soc. Biol.*, 1980, sous presse).

DIPLOMES

M. S. EL MESTIKAWY a obtenu un D.E.A. de Microbiologie, option : Virologie, intitulé : *Etude de l'activité tyrosine hydroxylase de phéochromocytomes de rat*, Université Paris VI (septembre 1979).

M. B. EDDÉ a obtenu un D.E.A. de Microbiologie, option : Virologie, intitulé : *Evolution des formes de la tubuline au cours de la différenciation morphologique du neuroblastome murin*, Université Paris VI (septembre 1979).

M^{lle} M. COUÉ a obtenu un D.E.A. de Biophysique des Membranes Biologiques intitulé : *Etude de l'actine de plaquettes sanguines humaines* (septembre 1979).

M^{me} V. LECOMTE a obtenu un Diplôme de l'E.P.H.E. intitulé : *Etude de l'actine musculaire de fœtus de veau* (septembre 1979).

M^{me} S. COLINART a obtenu un D.E.A. de Chimie Organique intitulé : *Etude d'une nouvelle méthode de modification des bases nucléiques par des dérivés propargyliques*, Université Paris VI (septembre 1979).

MANIFESTATIONS SCIENTIFIQUES, COLLOQUES

Le P^r F. GROS a prononcé des conférences à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, à la Fondation Louis Rapkine de Londres, au symposium organisé pour le 10^e anniversaire de la création de l'I.R.B.M. (Université Paris VII), à l'Institut de Biophysique de Pékin et à l'Institut de Biologie cellulaire de Shangaï lors d'une mission culturelle sous l'égide des Affaires Etrangères ; au symposium de Biologie moléculaire organisé dans le cadre des rencontres Franco-Maghrébines (C.N.R.S.-Université), au colloque Pasteur-Weizmann sur l'organisation du génome (Institut Weizmann des Sciences à Rehovot, Israël). Il prendra également part au Congrès International de Physiologie à Budapest pour présider la session sur la Biochimie des protéines contractiles, ainsi qu'à la rencontre internationale de la Fédération Européenne des Sociétés de Biochimie (F.E.B.S.), à Jérusalem.

M^{me} Y. BERWALD-NETTER a présenté deux communications : 1) *A neurite stimulating factor (NSF) secreted by a fibroblastic cell line : effect on mouse DRG neurons and C1300 neuroblastoma cells*, avec G. MERLIN et A. KOULAKOFF, Bat Sheva Seminar on Biochemical Development of Nervous Tissue in Culture, Rehovot, Israël, 1979, Abstracts p. 89. 2) *Neuronal surface antigenic markers revealed by rabbit anti-mouse C1300 neuroblastoma sera*, avec A. KOULAKOFF, Seventh Meeting of the International Society of Neurochemistry, Jérusalem, 1979, Abstract p. 323.

M. B. CROIZAT a présenté une communication au 1st Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Strasbourg (janvier 1980).

M. C. JEANTET a donné des conférences à l'Ecole Normale Supérieure et au colloque « Neurosciences » organisé par la D.G.R.S.T.

M^{me} L. LEGAULT a présenté un poster intitulé « Comparative changes in isozymic forms of neuron specific enolase (NSE) during brain develop-

ment and *in vitro* differentiation of neuron cells lines » (A. KELLER, H. SCARNOV, L. LEGAULT-DEMARE, Y. ZEITOUN, D. LANDO, M. COUSIN) au VIIth Meeting of the International Society of Neurochemistry, Jérusalem (septembre 1979), Abstracts p. 412.

M^{me} D. LAZAR a présenté deux communications : 1) *Maturation of AChE molecular forms in neuroblastoma cells*, avec M. VIGNY et L.A. GREENE, Seventh Meeting of the International Society for Neurochemistry, Jérusalem, 1979, Abstract book p. 634 ; 2) *Polymorphisme de l'AChE dans les cellules de neuroblastome murin*, Colloque « Membranes Biologiques » de la D.G.R.S.T., Les Arcs, 1980, Résumé p. 187-189.

M^{me} A. OLOMUCKI a donné un cours intitulé « Le système contractile plaquettaire », dans le cadre de l'A.E.A. de Physiologie et Biochimie de l'Hémostase.

M^{me} C. ORIOL-AUDIT a donné deux conférences au Molecular Biology Institute à l'U.C.L.A. (U.S.A.).

M. M. OLOMUCKI a participé à la 9^e réunion du Groupe d'Etudes Structure-Activité à Ajaccio (mai 1979), et aux colloques sur les « Mécanismes de reconnaissance à l'échelle moléculaire » à Bombannes (mai 1979) et sur l'Evolution structurale et fonctionnelle du ribosome à Lyon (mai 1980), au cours desquels il a présenté des communications. Il a donné un séminaire à l'Institut Pasteur (décembre 1979).

M^{lle} C. NÉGRÉ, M^{me} O. MICHEL et M. R. MICHEL ont présenté une communication, *Effects of thyroidectomy on the limiting step of corticosteroid synthesis*, au 10th Annual Meeting of the European Thyroid Association, Newcastle, 1979, *Annales Endocrinol.*, 1979, Abstract n° 19 .

MM. S.N. PAVLOU et P. DURBIN, M^{me} O. MICHEL et M. R. MICHEL ont présenté une communication, *Activité respiratoire des cellules de Leydig et propriétés hydroxylantes des mitochondries interstitielles du rat hypothyroïdien*, à la 15^e Réunion des Endocrinologistes de Langue Française, Athènes, 1979, *Annales Endocrinol.*, 40, p. 13.

M^{lle} C. NÉGRÉ, M^{lle} N. TRIADOU, MM. S.N. PAVLOU, P. DURBIN et R. MICHEL ont présenté une communication aux Journées Scientifiques de la Fondation de Recherche en Hormonologie, Fresnes (1979).