

Biochimie cellulaire

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

Notre cours a porté, cette année, sur certains aspects nouveaux des recherches concernant les bases moléculaires de l'expression génétique et de la différenciation dans les systèmes eucaryotiques.

Des progrès très marquants ont en effet été enregistrés dans la connaissance de la structure fine du matériel héréditaire des organismes supérieurs (chromatine), dans la compréhension des particularités inhérentes à l'activation des régions chromosomiques impliquées dans le développement d'une cellule et dans celle de leurs mécanismes de transcription.

En ce qui concerne la structure de la chromatine, les travaux des équipes de A. Klug en Grande-Bretagne et de Mirzabekhov (U.R.S.S.) apportent des éclairages décisifs sur la conformation et la structure tridimensionnelle de l'organisation octamérique d'un nucléosome. En combinant les données issues de la cristallographie à haute résolution et celles résultant de l'emploi des agents de pontage, on est désormais en mesure de proposer un modèle tridimensionnel précis rendant compte de la disposition de chacune des 8 histones dans l'assemblage nucléosomique. Ce modèle met en lumière l'existence d'un core central d'histones riches en arginine, entourées par des combinaisons d'histones riches en lysine, les paramètres de l'assemblage étant compatibles avec l'enroulement de deux anneaux très rapprochés d'ADN entourant le nucléosome.

Les caractéristiques de l'activation des régions de la chromatine qui sont transcrites en ARN messagers, qui sont appelées à l'être ou qui l'ont été à un stade particulier du développement commencent à être appréhendées avec précision. En effet, prolongeant les premières observations de Weintraub et Groudine montrant que les régions activées manifestent une sensibilité accrue vis-à-vis de la DNase, on a mis en lumière l'existence de classes de protéines nucléaires paraissant susceptibles de conférer à certains nucléosomes cette sensibilité particulière. Il s'agit notamment des protéines dites

« à haute mobilité électrophorétique » (protéines HMG) découvertes il y a quelques années par Jones. Ces protéines, en s'associant de façon stoechiométrique à certains nucléosomes (sans doute préactivés) provoquent à leur niveau des changements conformationnels entraînant une sensibilité accrue vis-à-vis de la DNase. Agissant comme des transconformeurs généraux, ces protéines n'ont cependant ni spécificité tissulaire ni spécificité d'espèce. A côté de ces protéines à effet « activateur » réversible figure une autre catégorie de protéines dont le représentant le plus caractéristique est la protéine IP₂₅ identifiée et étudiée dans le laboratoire d'H. Eisen (Institut Pasteur). Se fixant au niveau des régions internucléosomiques, cette protéine paraît apte à entraîner une condensation de certaines régions chromatiniennes. L'acquisition d'un degré accru de compacité va de pair avec une diminution ou une disparition dans l'activité transcriptionnelle de ces régions. Puisque les protéines IP₂₅ paraissent s'accumuler dans la chromatine des tissus peu avant l'expression des phénotypes qui leur sont propres, on a tout lieu de croire qu'elles serviraient au verrouillage de régions impliquées dans des fonctions généralement mises en sommeil (fonctions de maintenance) peu avant l'activation de gènes spécifiques.

Alors que les protéines HMG ou IP₂₅ ne manifestent aucune spécificité vis-à-vis de régions particulières de l'ADN (mais plutôt vis-à-vis de certains nucléosomes ou des régions qu'ils encadrent), on connaît des protéines nucléaires de très haute affinité pour des *séquences* particulières de l'ADN des eucaryotes. De telles protéines ont été mises en évidence chez la drosophile (Gehring). On a réussi à cloner les séquences auxquelles elles se fixent et à préciser, par hybridation *in situ*, les régions du chromosome polyténique où résident ces séquences.

Si l'on joint à ces données celles qui résultent de l'analyse des protéines NHP par les techniques d'électrophorèse bidimensionnelle ou par les techniques d'imprégnation (« protein blotting »), on mesure les progrès enregistrés dans la connaissance du rôle des protéines nucléaires dans le fonctionnement de la chromatine.

Le dernier volet de ce cours a été consacré aux mécanismes de transcription proprement dits. D'une part ont été discutés les travaux récents permettant d'apprécier l'étendue des *domaines* de la chromatine qui, lors du développement ontogénique d'une cellule, subissent une activation (cas des « régions » comportant les gènes qui codent pour les α et β globines ; cas des gènes dits du « heat shock » chez la drosophile).

D'autre part, on a passé en revue les données relatives aux signaux intervenant dans le démarrage spécifique de la transcription des régions de codage par la polymérase II. Ces données sont issues tant d'études *in vivo* qui mettent en parallèle les activités transcriptionnelles d'une cellule normale

ou porteuse d'une mutation, que d'études *in vitro* dans lesquelles on précise les produits de transcription résultant de l'action de la polymérase II sur des régions génomiques définies, amplifiées par clonage. Trois conclusions paraissent s'en dégager :

1) Il existe, à une distance correspondant à 20 paires de bases du point de démarrage effectif de la transcription (site du « capping »), une séquence particulière appelée « TATA box » qui présente les caractéristiques d'un promoteur, ou « signal de reconnaissance » pour « l'initiation ».

2) Ce promoteur ne suffit sans doute pas à assurer une initiation fidèle dans la mesure où des séquences situées en amont, souvent à des distances importantes de la « TATA box », sont également requises. Cette situation pourrait s'expliquer en supposant que la polymérase II ne « reconnaît » pas seulement une séquence linéaire d'ADN mais une région repliée et particulière de la chromatine.

3) Comme cela est abondamment illustré par les travaux de Reuter, Gefter, Chambon et ceux de leurs collaborateurs, des facteurs protéiques solubles, dont la nature demande à être précisée, sont requis pour assurer une « initiation » correcte lors de la transcription d'une séquence génétique donnée par la RNA polymérase II.

Ainsi se rapproche-t-on peu à peu d'une connaissance beaucoup plus précise des règles qui président à l'activation et à la transcription d'une région génétique déterminée au cours de la différenciation somatique d'une cellule ou d'un tissu.

F. G.

SÉMINAIRES

M. M. YANIV (Paris), *Polyome et SV40 : Chromatine et régulation de la transcription dans la cellule différenciée et dans la cellule embryonnaire.*

M. K. SCHERRER (Paris), *La définition des unités de transcription chez les eucaryotes.*

M. M. CREPIN (Paris), *Gène β -globine : transcription spécifique et interaction avec les protéines non-histones.*

M. A. MINTY (Paris), *Les gènes actines de la souris : une famille multi-génique.*

M^{me} M. JACOB (Strasbourg), *Les structures susceptibles d'intervenir dans les mécanismes d'excision et de ligation des RNA pré-messagers.*

ACTIVITÉS DU LABORATOIRE

BIOCHIMIE CELLULAIRE

Marqueurs de surface et neurogenèse : le cas des récepteurs de la toxine tétanique (A. KOULAKOFF, E. HOUZET et Y. BERWALD-NETTER)

Nous avons décrit précédemment nos résultats sur l'emploi de marqueurs de la surface neuronale sur des cellules dérivées du cerveau total de la souris au cours du développement prénatal. Les marqueurs étaient des anticorps neurone-spécifiques présents dans les sérums anti-neuroblastome, une neurotoxine de scorpion et la toxine tétanique. La chronologie d'apparition des récepteurs correspondants et leur évolution quantitative au cours de la gestation ont été rapportées.

Cette année, afin de préciser s'il y a une corrélation entre l'apparition de cellules liant ces marqueurs et la neurogenèse, nous nous sommes adressés à des aires définies du système nerveux pour lesquelles la chronologie du développement des neurones est connue. En particulier, nous avons étudié la liaison de la toxine tétanique — révélée à l'aide d'anticorps antitoxine — à des cellules du cortex cérébral, du cervelet, de la moelle épinière et des ganglions rachidiens. Les profils d'apparition et d'accumulation des cellules (10-19 jours de gestation) liant la toxine ont été comparés d'une part avec les données sur l'apparition et l'accumulation des neurones post-mitotiques, établies par l'incorporation de la ^3H -thymidine (d'après J.B. Angevine ; R. Sidman ; S. Fujita) et, d'autre part, avec les données sur la « mort histogénétique » des neurones des aires correspondantes.

Une excellente corrélation temporelle a été mise en évidence entre la cinétique d'apparition et d'accumulation de cellules liant la toxine tétanique et la neurogenèse, définie par la chronologie d'émergence et d'accumulation des neurones post-mitotiques.

Les récepteurs sérotoninergiques couplés à une adényl-cyclase : étude in vitro sur des neurones et des cellules gliales du système nerveux central (D. BEAUDOIN et Y. BERWALD-NETTER)

Des travaux antérieurs (D. BEAUDOIN et G. FILLION ; M. HAMON et J. BOCKAERT) ont montré l'existence d'une diversité de sites récepteurs à la sérotonine (5-HT) sur des préparations cellulaires ou membranaires faites à partir du système nerveux central. Cette diversité est définie par des différences d'affinité de liaison de la 5-HT ($K_{D1} = 1 \text{ nM}$ et $K_{D2} = 10 \text{ nM}$) et

des différences dans la stimulation du système adényl-cyclasique qui suit la liaison ($K_{D1} = 1 \text{ nM}$ et $K_{D2} = 0.5 \text{ } \mu\text{M}$).

La question s'est posée de l'appartenance cellulaire de ce système récepteur et de la spécificité des sites. Nous avons étudié l'activation par la 5-HT de l'adényl-cyclase sur des cultures primaires de cellules provenant de cerveaux de fœtus ou de nouveau-nés de souris. Dans des cultures composées de $\geq 95 \%$ de cellules neuronales, l'activation correspond à une liaison de l'amine avec une constante d'affinité apparente élevée : $K_D = 1,3 \text{ nM}$. Cette affinité est très similaire à celle observée dans la fraction des membranes synaptosomales. Par contre, l'activation adényl-cyclasique induite par la 5-HT dans des cultures de cellules gliales correspond à une constante d'affinité plus faible : $K_D \simeq 0,5 \text{ } \mu\text{M}$. Elle est similaire à celle observée dans des fractions enrichies en membranes de cellules gliales. Deux lignées établies de cellules à phénotype astrocytaire montrèrent également une activation adényl-cyclasique correspondant à une affinité du même ordre.

Ces résultats, mis en évidence sur des populations cellulaires dérivées du système nerveux central, à phénotype neuronal ou glial bien défini, indiquent l'existence de systèmes de récepteurs sérotoninergiques sur les deux types cellulaires mais dont les propriétés sont différentes.

L'induction neuronale dans les cultures de neuroblastome (B. CROIZAT, M.M. PORTIER, F. BERTHELOT, C. SAHUQUILLO)

Nous avons poursuivi l'étude de la différenciation neuronale des cultures de neuroblastome par l'acide 1 méthyl cyclohexane carboxylique (CCA). Nous avons montré que le CCA produit les effets suivants :

1) Induction d'une différenciation morphologique caractérisée par de longs neurites branchés et par une très large adhésion de la membrane cellulaire au substrat.

2) Stimulation de la synthèse de vimentine et de certaines protéines membranaires associées au cytosquelette. Cet effet n'est observé que lorsque les cellules adhèrent au substrat.

3) Stimulation de différents « marqueurs neuronaux » (l'activité de la tyrosine hydroxylase (TH), par exemple, est multipliée par 5,3).

4) Stimulation de l'énergétique cellulaire ($\times 4$), mesurée par l'accumulation de ^{14}C -2-deoxyglucose. Parallèlement, les cellules traitées par le CCA montrent une forte densité de mitochondries.

5) Irréversibilité des effets produits par le CCA. Les effets sur la morphogénèse, les paramètres biochimiques et l'utilisation du glucose persistent au moins 5 jours après l'enlèvement de la drogue. On observe, au contraire, une

dédifférenciation après l'enlèvement des autres agents inducteurs (DMSO...) ou l'addition de sérum dans le milieu de culture.

Nous estimons que le CCA induit une neurogenèse plus complète que le DMSO ou la déprivation de sérum parce qu'il assure une meilleure adhésion de la membrane au substrat.

Nous allons tester l'effet du CCA sur l'activité physiologique neuronale (potentiel d'action membranaire...) puis, grâce à l'utilisation de sondes purifiées, étudier la régulation de l'expression génétique au niveau des séquences d'ARN messagers et des protéines au cours de la neurogenèse induite par la drogue.

Expression génétique de la tubuline (C. JEANTET, B. DE NÉCHAUD, P. DENOULET, B. EDDÉ, A. LE GUERN, V. MOURA NETTO, C. WEILL, A. WOLFF, D. CHILLET, C. SAHUQUILLO)

L'existence de fonctions cellulaires multiples de la tubuline et la découverte notamment, par notre équipe, d'un polymorphisme moléculaire de cette protéine autorisent à rechercher les relations existant entre la particularité structurale de chaque isoforme et sa fonction biologique. Cette étude se poursuit selon trois axes :

1) Cartographie des isoformes : cet inventaire se fait au sein de fonctions cellulaires (myéline, flagelle de spermatozoïde), de populations cellulaires (neuroblastome, phéochromocytome, gliales), de tissus (cerveau, moelle épinière, cervelet, noyau caudé, mésencéphale, testicule, foie).

2) Evolution des isoformes au cours de modifications du programme génétique : ontogenèse du cerveau et du foie de souris, développement de l'oocyte de Xénope, transformation virale de fibroblaste de poulet, différenciation de cellules de neuroblastome et de phéochromocytome.

3) Purification de sondes moléculaires : hybridome, clonage génique. Nous avons montré :

— L'existence d'un haut degré de microhétérogénéité des isoformes spécifiques au cerveau dont l'accroissement est sous contrôle ontogénétique.

— La formation d'isoformes liées à la croissance des neurites, isoformes dont l'accumulation est sous contrôle post-traductionnel.

Nous avons obtenu le clonage de 9 hybridomes reconnaissant la traduction et la purification d'une trentaine de sondes cDNA hybridant avec le mRNA codant pour la tubuline.

Ces résultats permettent la poursuite de notre programme relatif à la découverte des mécanismes réglant l'expression génétique des isotubulines.

Expression génétique d'une protéine marqueur de la différenciation terminale du neurone (énolase $\gamma\gamma$ ou protéine 14-3-2) dans des cellules en culture
(L. LEGAULT, Y. ZEITOUN, N. LAMANDÉ, C. SAHUQUILLO)

Une analyse biochimique a permis de confirmer que l'antigène neuronal 14-3-2 précédemment étudié et l'unique énolase présente dans le neurone fonctionnel étaient une seule et même protéine. Il y a identité entre les formes énolases exprimées dans les cellules en culture et celles du tissu cérébral, et la transition isozymique entre l'énolase embryonnaire et l'énolase du neurone adulte est un index sensible du niveau de maturation susceptible d'être atteint par ces cellules après différenciation.

Au cours de l'ontogenèse du tissu nerveux et dans les cultures en voie de maturation on observe une augmentation parallèle entre le niveau relatif de l'ARN messager cytoplasmique de l'antigène γ et le taux de synthèse de cette protéine. Cependant, le niveau d'accumulation de cet antigène dans les mêmes conditions conduit à supposer qu'il y a également une stabilisation de cette molécule.

La recherche de conditions permettant une maturation plus achevée du système énolase en culture et une analyse plus complète de l'expression génétique de l'énolase $\gamma\gamma$ sont en cours.

Expression de l'acétylcholinestérase (AChE) dans les cellules nerveuses en culture (M. LAZAR)

L'AChE, protéine quantitativement très minoritaire dans le tissu nerveux, joue un rôle fonctionnel important dans la transmission synaptique cholinergique. Je m'intéresse, en collaboration avec l'équipe de J. MASSOULIÉ à l'Ecole Normale Supérieure, au contrôle de l'expression des diverses formes actives de cet enzyme au cours de la différenciation terminale du neurone. Ce projet nous a conduits à élaborer une méthode (fondée sur l'emploi d'acides aminés marqués par des isotopes lourds) permettant d'identifier les molécules d'AChE néosynthétisées sans immunoprécipitation ni purification. Cet outil, qui nous a déjà donné des informations intéressantes sur les taux de dégradation respectifs des formes monomériques et tétramériques de l'AChE dans les cellules de neuroblastome induites, devrait être directement transposable à l'étude du métabolisme de l'AChE dans d'autres types cellulaires. Dans cette optique nous avons initié, en collaboration avec Y. Berwald-Netter, une analyse de l'expression de l'AChE dans des cultures primaires de cerveau embryonnaire de souris.

Etude de la phosphorylation de la tyrosine hydroxylase (R. DRISSI DAUDI, J. THIBAUT)

L'enzyme, extraite et purifiée à partir de phéochromocytomes de rat, a été phosphorylée en présence de protéine kinase cyAMP dépendante. La tyrosine hydroxylase (TH) incorpore dans nos conditions 1 molécule de phosphate par unité de masse moléculaire (240 000) ; cette phosphorylation s'accompagne d'une stimulation de 60 % de l'activité enzymatique. Par électrophorèse en gel d'acrylamide, en milieu non dénaturant, la tyrosine hydroxylase, phosphorylée en utilisant de l'ATP- γ - ^{32}P , est repérée par sa radioactivité et son activité enzymatique ; elle migre avec une seule bande colorable au bleu de Coomassie ; sa position sur le gel est indiscernable de la protéine non phosphorylée. Dans des conditions dénaturantes (SDS) l'électrophorèse montre la TH dissociée en deux monomères, de 62 000 et 60 000, auxquels la radioactivité ^{32}P est associée. Une protéolyse très ménagée de la TH par la trypsine transforme l'enzyme en un polypeptide, toujours actif, de masse moléculaire 58 000, mais qui ne porte plus le phosphate radioactif. L'étude plus poussée de cette protéolyse et des peptides obtenus permettra de préciser la structure de la tyrosine hydroxylase.

Synthèse de la tyrosine hydroxylase (J. THIBAUT, D. VIDAL)

Par immunoprécipitation, il a été possible de mesurer le taux de synthèse de la tyrosine hydroxylase (TH) de phéochromocytomes de rat placés en culture cellulaire dans un milieu contenant de la méthionine radioactive. La TH est synthétisée rapidement dans les cellules pour atteindre un niveau voisin de 2 % des protéines solubles.

La synthèse *in vitro* de la TH, réalisée par la traduction des RNA messagers extraits de phéochromocytomes, dans un système acellulaire de lysat de réticulocyte, a permis de mesurer le taux d'expression du messenger de cette enzyme, qui est de l'ordre de 0,1 pour cent du RNA polyadénylé. Le produit de traduction est un polypeptide de masse moléculaire 62 000, immunoprécipitable par l'anti-sérum anti-TH.

PROTÉINES CONTRACTILES ET CYTOSQUELETTIQUES

Au cours de cette année, l'Equipe de Recherche du C.N.R.S. n° 230 s'est occupé principalement des problèmes du cytosquelette et, tout particulièrement, des facteurs cellulaires impliqués dans différents événements motiles.

I. - Régulation de l'état structural de l'actine

1. Facteurs protéiniques

Nous avons cherché à mettre en évidence les protéines qui, dans la plaquette sanguine humaine, sont susceptibles de modifier l'état conformationnel de l'actine.

a) « α -actinin-like protein » (F. LANDON et A. OLOMUCKI)

Nous avons obtenu, à partir des plaquettes sanguines humaines, une protéine ayant de nombreuses propriétés en commun avec l' α -actinine musculaire. En effet, les deux protéines se laissent purifier dans des conditions comparables et comigrent au cours de l'électrophorèse dans le dodécylsulfate de sodium. La protéine plaquettaire donne une réaction croisée positive avec l'anticorps anti α -actinine de muscle lisse ; ceci a été mis en évidence par une révélation immuno-enzymatique à la peroxydase.

De plus, l'« α -actinin-like protein » plaquettaire, utilisée dans la proportion d'environ 1 % par rapport à l'actine F, augmente beaucoup sa viscosité. Cette action de gélification dépend de la température de la même façon que celle exercée par l' α -actinine musculaire.

b) Protéine 65 K (M. COUÉ et A. OLOMUCKI)

Une autre protéine des plaquettes a été mise en évidence récemment par nous. Elle a un poids moléculaire d'environ 65 000 et elle agit sur l'actine de manière semblable à celle de la cytochalasine, c'est-à-dire qu'elle diminue la vitesse de polymérisation de l'actine en bloquant les nuclei et les fragments de filaments. Sa purification est très avancée.

2. Polyamines (C. ORIOL-AUDIT)

Les études physicochimiques sur l'interaction actine-polyamines nous ont amené à mettre en évidence la capacité des polyamines biologiques à induire de nombreuses formes de polymérisation connues dans la cellule (filaments isolés, « bundles », paracristaux, gel). Ces formes sont dissociables par l'ATP. Trois formes structurales différentes de paracristaux d'actine ont été obtenues et leur étude par diffraction optique est réalisée actuellement par le D^r DICKENS (Department of Biophysics, King's College, Londres).

II. - Etude de l'octopine déshydrogénase (M.-O. MONNEUSE, L. FORT et A. OLOMUCKI)

1) Nous avons proposé un schéma réactionnel pour l'ODH basé sur les résultats des études cinétiques et qui tient compte de deux possibilités de

régulation, dont l'une s'opère par l'interconversion de deux formes de l'enzyme libre. Nous avons cherché un moyen de confirmer ce mécanisme en désensibilisant l'enzyme par des traitements chimiques. L'action du chlorhydrate de guanidine ou de l'urée utilisés à des concentrations non dénaturantes a permis de modifier l'enzyme de façon telle que sa cinétique de réaction devienne michaëlienne. Actuellement nous essayons, à l'aide de méthodes physiques et immunologiques, de vérifier si cette désensibilisation de l'enzyme s'accompagne de changements conformationnels.

2) Ayant obtenu précédemment des anticorps dirigés contre les deux isoformes de l'octopine déshydrogénase, nous avons pu vérifier à l'aide de la technique ELISA (en collaboration avec P. ROUZÉ et A. GOLDMANN, de l'I.N.R.A.) que les deux formes présentent une parenté immunologique. Au contraire, l'enzyme extrait des tumeurs végétales (« crown-gall ») ne possède pas de déterminants antigéniques en commun avec l'enzyme de *Pecten maximus*.

CHIMIE BIOORGANIQUE

L'équipe de M. OLOMUCKI a poursuivi des recherches sur de nouvelles méthodes de modification chimique des bases des acides nucléiques.

1. *Adénine* (S. COLINART, J.-Y. LE GALL, avec la collaboration de L. LACOMBE, Laboratoire de Chimie, Collège de France)

L'action d'un ester acétylénique chloré sur l'adénosine transforme la base purique en composé tricyclique, pouvant exister sous forme de deux isomères dont la nature dépend des conditions de la synthèse. On obtient ainsi des dérivés alkylants de l'adénosine dont les propriétés chimiques, spectrales, chromatographiques, etc., sont assez différentes.

a) *Propriétés de l'adénosine modifiée* (S. COLINART, J.-Y. LE GALL, avec la collaboration de C. DUBORD et de J.-C. BROCHON et F. MEROLA, Lure, Orsay)

Les réactivités des groupements chlorométhyle présents dans chaque isomère sont inégales. Les propriétés alkylantes de ces dérivés ont été étudiées sur des réactions modèles avec de petites molécules et avec une protéine, l'alcool déshydrogénase de levure, dans laquelle on peut substituer quatre groupements SH. L'un des isomères est fluorescent et ses paramètres de fluorescence ont été examinés ; il est également photolabile et la nature des photoproduits obtenus par irradiation UV est à l'étude.

b) *Extension de la réaction* (I. DOBO, J.-Y. LE GALL, S. COLINART)

Des essais d'application de la réaction de modification décrite ci-dessus à des nucléotides (AMP, ADP ATP) et au poly(A) sont en cours.

2. *Cytosine* (S. COLINART)

La cytosine subit la même réaction de modification dans des conditions douces, identiques à celles de la réaction de l'adénosine. L'isolement et l'étude des dérivés formés sont en cours.

ENDOCRINOLOGIE

Le groupe de recherche dirigé par le professeur R. MICHEL a poursuivi ses travaux sur la biochimie thyroïdienne.

Rat génétiquement obèse

Les recherches ont été consacrées à étudier l'incidence sur la croissance pondérale de l'administration au rat obèse (fa/fa) de l'acide 3,5,3'-triiodo-thyroacétique (Triac), métabolite de la 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T_3) ou d'un anorexigène synthétique, le fenproporex. Le traitement par ce dernier provoque un ralentissement dans la prise de poids des témoins normaux, alors qu'il est inactif chez les obèses. Les réponses à l'administration du Triac sont inversées, c'est-à-dire qu'il s'oppose à la croissance pondérale du rat fa/fa, alors qu'il n'affecte pas celle des témoins. Les deux produits ne modifient pas sensiblement les diverses classes de lipides sériques. Il est probable que le traitement par le Triac a pour rôle essentiel d'assurer la dégradation de l'excès alimentaire des animaux obèses hyperphagiques.

ARN polymérase musculaire

Nos travaux ont consisté à étendre aux noyaux préparés à partir du muscle squelettique du rat thyroïdectomisé les recherches réalisées antérieurement avec ceux d'origine hépatique. La méthode mise au point permet l'obtention de noyaux musculaires intacts et très faiblement contaminés. L'activité de l'ARN polymérase nucléaire est similaire à celle du foie et l'hypothyroïdie la diminue d'environ 40 %. Le muscle squelettique constituant un tissu cible pour la T_3 , l'influence de cette hormone sur l'ARN polymérase nucléaire constituerait donc un mécanisme d'action général.

Biosynthèse de la prégnénone et de la progestérone

La thyroïdectomie ralentit la coupure oxydative de 20R,22R dihydroxy-cholestérol en présence de mitochondries isolées des corticosurrénales de rat.

La prégnénone apparue est l'intermédiaire qui donne naissance à la progestérone dans les mitochondries et les microsomes. Le système enzymatique impliqué dans ce mécanisme, dont le cofacteur est le NAD^+ , renferme à la fois la 3- β -ol déshydrogénase et la $\Delta^{4,5}$ isomérase. L'activité du complexe enzymatique ne semble pas affectée par la thyroïdectomie. En effet, lorsqu'on mesure l'activité de chaque enzyme, c'est-à-dire la 3- β -ol déshydrogénase, en utilisant comme substrat la 4-prégnène,3- β -ol,20-one et la $\Delta^{4,5}$ isomérase avec le substrat 5-prégnène,3,20-dione, on constate que les activités ne sont pas changées par la thyroïdectomie. De plus, nos recherches établissent que l'étape limitante du complexe enzymatique responsable de la biosynthèse de la progestérone est la déshydrogénation. L'ensemble de notre travail permet de considérer que les réactions d'hydroxylations mitochondriales dans la corticosurrénale dépendant du cytochrome P-450 et du NADPH , telles que les 20R, 22R, 11 β ou 18 hydroxylations, sont diminuées en l'absence d'hormones thyroïdiennes, alors que les réactions de déshydrogénation, ne faisant intervenir ni le cytochrome P-450 ni le NADPH , sont insensibles à la thyroïdectomie.

PUBLICATIONS

Y. BERWALD-NETTER, B. BIZZINI, F. COURAUD, A. KOULAKOFF et N. MARTIN-MOUTOT, *Three neurone-specific surface markers as probes for neuronal evolution in vivo and in vitro* (*Neurosci. Lett.*, suppl. 5, 311, 1980).

Y. BERWALD-NETTER, N. MARTIN-MOUTOT, A. KOULAKOFF et F. COURAUD, *Na^+ -channel-associated scorpion toxin receptor sites as probes for neuronal evolution in vivo and in vitro* (*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 78, 1245-1249, 1981).

Y. BERWALD-NETTER, F. COURAUD et A. KOULAKOFF, *Surface membrane markers as probes for neuronal development* (in : « Antibodies to Neural Antigens », Cold Spring Harbor Laboratory Monograph, 1981, sous presse).

B. CROIZAT et F. GROS, *Effects on the cytoskeleton of a new inducer of the neuroblastoma morphological differentiation* (*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 96, 1610-1618, 1980).

F. BERTHELOT, F. GROS et B. CROIZAT, *Complexity of polysomal poly(A)*

RNA in different developmental stages of a non-differentiating neuroblastoma clone (F.E.B.S. Lett., 122, 109-112, 1980).

M.M. PORTIER, C. JEANTET et F. GROS, *Partial purification of the α -tubulin and β -tubulin messenger RNAs from rat brain (Eur. J. Biochem., 112, 601-609, 1980).*

J. THIBAULT, D. VIDAL et F. GROS, *In vitro translation of mRNA from rat pheochromocytoma tumors, characterization of tyrosine hydroxylase (Biochem. Biophys. Res. Commun., 99, 960-968, 1981).*

C.W. HEIZMANN, G. MÜLLER, E. JENNY, K.J. WILSON, F. LANDON et A. OLOMUCKI, « Myalbumin » *in chicken skeletal muscle (J. Muscle Res. Cell Motility, 1, 475, 1980).*

C.W. HEIZMANN, G. MÜLLER, E. JENNY, K.J. WILSON, F. LANDON et A. OLOMUCKI, *Muscle β -actinin and serum albumin of the chicken are indistinguishable by physico-chemical criteria (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78, 74-77, 1981).*

F. LANDON et A. OLOMUCKI, *α -actinin-like protein from human blood platelets (1st Eur. Cytoskeletal Club, Changins-Nyon [Suisse], 1981, Abstr, p. 58).*

M. COUÉ, F. LANDON et A. OLOMUCKI, *Comparison of properties of two different preparations of human blood platelet actin (J. Muscle Res. Cell Motility, 1, 478, 1980).*

C. ORIOL-AUDIT, *Induction of cytokinesis by interaction between actin and polyamines (Biochimie, 62, 713-714, 1980).*

C. ORIOL-AUDIT, J.A. LAKE et E. REISLER, *Structural changes in synthetic myosin minifilaments and their dissociation by adenosine triphosphate and pyrophosphate (Biochemistry, 20, 679-686, 1980).*

C. ORIOL-AUDIT et M.J. DICKENS, *A possible actin-polyamines interaction involved in cytokinesis and capping phenomena (2nd Int. Congress on Cell Biology, Berlin-Ouest, 1980, Abstr. C 967).*

A. MRAKOVIC, C. ORIOL-AUDIT et E. REISLER, *Subunit interactions in heavy meromyosin subfragment-1 (Pacific Slope Biochem. Conf., San Diego, U.S.A., 1980).*

M.J. DICKENS et C. ORIOL-AUDIT, *The structure of actin polymers formed in the presence of polyamines (9th European Congress on Muscle and Motility, Salzburg, 1980).*

M.-O. MONNEUSE, F. LEFÉBURE et A. OLOMUCKI, *Isolation and characterization of two molecular forms of octopine dehydrogenase from Pecten maximus (Eur. J. Biochem., 108, 261-269, 1980).*

A. OLOMUCKI, *Structure and function of octopine dehydrogenase of Pecten maximus* (*Biochem. Soc. Transactions*, 1981, sous presse).

M.-O. MONNEUSE et A. OLOMUCKI, *A proposed kinetic mechanism for octopine dehydrogenase* (*Biochem. Soc. Transactions*, 1981, sous presse).

R. MILLON, M. OLOMUCKI, J.Y. LE GALL, B. GOLINSKA, J.P. EBEL et B. EHRESMANN, *Synthesis of a new reagent, ethyl 4-azidobenzoylaminoacetimidate and its use for RNA-protein cross-linking within Escherichia coli ribosomal 30S subunit* (*Eur. J. Biochem.*, 110, 485-492, 1980).

B. EHRESMANN, R. MILLON, C. BACKENDORF, B. GOLINSKA, M. OLOMUCKI, C. EHRESMANN et J.P. EBEL, *Study of RNA-protein neighbourhoods within Escherichia coli ribosomal 30S subunits by the use of crosslinking reactions* (in : *Biological Implications of Protein-Nucleic Acid Interaction*, J. Augustyniak, ed., 63-75, Elsevier, Amsterdam, 1980).

B. GOLINSKA, R. MILLON, C. BACKENDORF, M. OLOMUCKI, J.P. EBEL et B. EHRESMANN, *Identification of a 16S RNA fragment crosslinked to protein S1 within Escherichia coli ribosomal 30S subunits by the use of a crosslinking reagent : ethyl 4-azidobenzoylaminoacetimidate* (*Eur. J. Biochem.*, 115, 479-484, 1980).

J.P. EBEL, R. MILLON, B. GOLINSKA, M. OLOMUCKI et B. EHRESMANN, *New results in the study of ribosomal RNA-protein interaction* (13th F.E.B.S. Meeting, Jerusalem, 1980, Abstracts p. 279).

M. OLOMUCKI, M. JERRAM, R. PARFAIT, A. BOLLEN et F. GROS, *Synthesis and properties of a new cleavable nucleic acid-protein crosslinking reagent* (*Bioorg. Chem.*, sous presse).

N. AUTISSIER, P. DUMAS, A. LOIREAU et R. MICHEL, *Thyroid status and effects of 3,5,3'-triiodothyroacetic acid and fenproporex in genetically and obese female rats* (*Biochem. Pharmacol.*, 29, 1612, 1980).

C. BENELLI, P. DURBIN, S. PAVLOU, O. MICHEL et R. MICHEL, *Effets de la thyroïdectomie sur l'étape limitante de la biosynthèse des stéroïdes dans la corticosurrénale et le testicule chez le rat* (*Pathologie et Biologie*, 28, 371, 1980).

J.P. LAYAC, J.P. CLOT et R. MICHEL, *Influence de la thyroïdectomie sur l'activité ARN polymérasique des noyaux isolés de muscles squelettiques de rat* (*C.R. Soc. Biol.*, 175, 19-22, 1981).

THÈSES, DIPLÔMES

M^{lle} D. BEAUDOIN a soutenu une thèse de Doctorat 3^e Cycle : *Les récepteurs sérotoninergiques des cellules gliales* (Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, juin 1981).

M. N. LAMANDÉ a obtenu un D.E.A. de Biochimie fondamentale : *Expression de la protéine 14-3-2, énoïase spécifique du neurone, durant la différenciation in vitro de cellules de neuroblastomes* (Université Paris VII, septembre 1980).

M^{me} F. LEFÉBURE a obtenu un diplôme de l'E.P.H.E. intitulé : *Isolement et caractérisation de deux formes de l'octopine déshydrogénase de Pecten maximus L.*

M^{me} S. DURBIN-NALTACHAYAN a soutenu une thèse de Doctorat ès-Sciences Pharmaceutiques : *Activité hormonale thyroïdienne au cours de la sénescence et de l'obésité* (Université R. Descartes, octobre 1980).

M. P. DURBIN a soutenu une thèse de Doctorat 3^e Cycle : *Propriétés des cellules de Leydig et des mitochondries testiculaires du rat thyroïdectomisé* (Université R. Descartes, septembre 1980).

M^{me} L. LUCIANI a soutenu une thèse de Doctorat 3^e Cycle : *Effets physiologiques et mitochondriaux de l'administration en continu des hormones thyroïdiennes et de la 3,5-diméthyl,3'-isopropyl-L-thyronine chez le rat thyroïdectomisé* (Université R. Descartes, novembre 1980).

DISTINCTIONS

Le Professeur F. GROS a été fait Chevalier des Palmes Académiques, Commandeur de l'Ordre du Mérite Ivoirien et vient d'être élu membre associé de l'Académie d'Athènes.

MANIFESTATIONS SCIENTIFIQUES, COLLOQUES

Le Professeur F. GROS a prononcé des conférences au Symposium de Neurobiologie qui s'est tenu dans le cadre de la réunion organisée par la F.E.B.S. (Jerusalem, août 1980), au Colloque Franco-Indien organisé par le C.N.R.S. (Delhi, mars 1981), au Cercle Culturel Français de la Côte-d'Ivoire (avril

1981), au Colloque de Neurobiologie qui s'est tenu sous l'égide du N.S.P. (Woods Hole, U.S.A., mai 1981), ainsi qu'à la Société de Chimie Industrielle et à l'Ecole des Mines de Paris.

Il a présidé, en outre, les Tables rondes Roussel dont le thème concernait la Biochimie des protéines du cytosquelette.

M^{me} Y. NETTER a participé au 4th European Neuroscience Meeting, Brighton, U.K. (1980), au 13th F.E.B.S. Meeting, Jerusalem, Israël (1980), au Workshop on « Antibodies to Neuronal Antigens », Cold Spring Harbor Laboratory (1980), au 1st Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience, Strasbourg (1980) où elle a présenté des communications : *Specific surface membrane markers as probes for neuronal evolution in vivo and in vitro*, avec B. BIZZINI, F. COURAUD, A. KOULAKOFF et N. MARTIN-MOUTOT, Abstr. p. 279 ; *Interaction of 5-hydroxytryptamine with cultured glia and neurones*, avec D. BEAUDOIN et G. FILLION, Abstr. p. 283 ; ainsi qu'au 2nd Int. Congr. on Cell Biology, Berlin (septembre 1980), où elle a présenté une communication : *Differential interaction of rabies virus with cultured neurons and glia*, avec H. TSIANG et B. BIZZINI, Abstr. p. 621.

M. B. CROIZAT a présenté un poster : *Effets sur le cytosquelette d'un nouvel inducteur de la différenciation morphologique du neuroblastome*, avec M.M. PORTIER, F. BERTHELOT et F. GROS au Cercle Français de Biologie Cellulaire, 5^e Colloque annuel, Paris, octobre 1980. Il a présenté trois communications : 1) *Modulations of the cytoskeleton components by a new inducer of the neuroblastoma morphological differentiation*, avec M.M. PORTIER, F. BERTHELOT et F. GROS au 13th F.E.B.S. Meeting, Jerusalem, août 1980. 2) *Modulations of the cytoskeleton components and neuronal induction by CCA, a new inducer of the neuroblastoma morphological differentiation*, avec M.M. PORTIER et F. GROS à la Table Ronde Roussel U.C.L.A.F. « Cellular Cytoskeletons », Paris, mars 1981. 3) *The regulation of gene expression during terminal neurogenesis*, avec M.M. PORTIER, F. BERTHELOT et F. GROS au Neurobiology Research Program Meeting, Woods Hole (U.S.A.), mai 1981.

M. C. JEANTET a donné des conférences à l'Hôpital Kremlin Bicêtre, à l'Institut de Recherche en Biologie Moléculaire (Paris), au Laboratoire d'Enzymologie du C.N.R.S. à Gif-sur-Yvette, à l'Université de Rio de Janeiro et à l'Université de Recife (Brésil).

M. B. EDDÉ a présenté un poster : *Isotubulin evolution during neuroblastoma cell differentiation*, avec P. DENOULET, A. WOLFF, M.M. PORTIER et C. JEANTET, au 1st Meeting International Society for Developmental Neurosciences, Strasbourg, juillet 1980.

M. P. DENOULET a participé au 13th F.E.B.S. Meeting, Jerusalem (août 1980) et au Colloque Neurosciences D.G.R.S.T., Le Touquet (octobre 1980),

où il a présenté deux posters : 1) *Microheterogeneity of brain and liver tubulin during mouse development*, avec B. EDDÉ, A. WOLFF, M.M. PORTIER et C. JEANTET ; 2) *Accroissement de la microhétérogénéité de la tubuline au cours du développement du cerveau de souris*, avec B. EDDÉ, A. WOLFF, M.M. PORTIER et C. JEANTET.

M^{me} A. WOLFF a présenté un poster : *Haut degré de microhétérogénéité des tubulines de cerveau de souris*, avec P. DENOULET, B. EDDÉ, P. DEL RE et C. JEANTET, au 5^e Colloque annuel du Cercle Français de Biologie Cellulaire, Paris, octobre 1980. Ce poster a fait l'objet d'une publication dans *Biol. Cell.*, 39, 7a, 1980.

M^{me} L. LEGAULT a participé au Colloque « Molecular mechanisms of post-transcriptional regulation in eucaryotes », Montpellier, juillet 1980. Elle a donné une conférence à la Faculté d'Orsay (mai 1981).

M^{me} M. LAZAR a participé au 3rd Meeting of the European Society for Neurochemistry, Bled (Yougoslavie), septembre 1980, où elle a présenté deux communications : 1) *Maturation and localization of AChE molecular forms in neuroblastoma cells*, avec M. VIGNY ; 2) *Globular forms of AChE in caudate nucleus, superior cervical ganglia and neuroblastoma cells : interactions with detergents*, avec M. VIGNY, J. GRASSÉ et J. MASSOULIÉ. Ces deux communications ont été publiées dans « Synaptic constituents in health and disease » (ed. M. Brzin), Pergamon Press, Ljubljana, p. 584 et p. 530.

M^{me} A. OLOMUCKI a donné une conférence et M^{me} M.-O. MONNEUSE a présenté une communication orale au Colloque « Monomeric NAD(P)-Linked Oxidoreductases » (Dublin, Irlande, mars 1981).

M^{me} M.-O. MONNEUSE a présenté une communication : *Formes multiples de l'octopine déshydrogénase* au Colloque sur l'Evolution des Protéines (Roscoff, juin 1980).

M^{me} C. ORIOL-AUDIT a donné une conférence à l'Hôpital Lariboisière (I.N.S.E.R.M., U 27) intitulée : *Rôle de l'interaction actine-polyamines dans la cytokinèse et la paracristallisation de l'actine*.

M. M. OLOMUCKI a participé à la 10^e réunion du Groupe d'Etudes Structure-Activité, à La Baule (1980), et à l'International Conference on Biological Implications of Protein-Nucleic Acid Interaction, à Dymaczewo, Pologne (1980), où il a présenté deux posters : 1) *A new intercalating nucleic acid-protein crosslinking reagent* (M. OLOMUCKI, M. JERRAM, R. PARFAIT, A. BOLLEN et F. GROS, Abstract N° 17), 2) *Synthesis of a new reagent, ethyl 4-azidobenzoylaminoacetimidate and its use for RNA-protein crosslinking within E. coli ribosomal 30S subunits* (B. GOLINSKA, R. MILLON, M. OLOMUCKI, J.P. EBEL et B. EHRESMANN, Abstract n° 16).

Au Colloque sur la Biochimie et la Physiopathologie thyroïdiennes, Paris, décembre 1980, trois communications ont été présentées : 1) *Effets physiologiques et mitochondriaux de l'administration en continu des hormones thyroïdiennes et de la 3,5-diméthyl,3'-isopropyl-L-thyronine au rat thyroïdectomisé*, par L. LUCIANI, O. MICHEL, E. JORGENSEN et R. MICHEL ; 2) *Mécanismes des oxydations phosphorylatives des mitochondries hépatiques du rat thyroïdectomisé*, par J.P. CLOT et M. BAUDRY ; 3) *Mécanismes d'hydroxylations dans la corticosurrénale du rat thyroïdectomisé* par C. BENELLI, O. MICHEL et R. MICHEL.