

Biochimie cellulaire

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

Notre cours a été consacré à l'analyse d'un problème qui compte pour l'un des plus centraux dans le domaine de la Biochimie du développement. Il s'est agi de passer en revue l'état actuel de nos connaissances touchant aux interactions des protéines du noyau cellulaire avec les séquences génétiques, en s'efforçant d'en dégager les conclusions les plus significatives quant aux mécanismes assurant la régulation du fonctionnement génétique chez les organismes eucaryotiques supérieurs.

Après avoir examiné les données relatives à la structure de la chromatine et à l'organisation des nucléosomes, données issues de travaux cristallographiques (A. Klug) ou enzymatiques et chimiques (Mizabekhov), nous avons abordé l'étude comparée des formes dites actives et inactives du matériel chromatien.

On s'accorde aujourd'hui à penser (Weissbrod) que l'activation de certains domaines chromatiniens qui prélude à la mise en fonction de gènes particuliers exige des événements préalables de décondensation locale. Au cours de ces événements on assiste à une dissociation localisée des complexes formés entre chromatine « inactive » et histones H₁, à des processus d'acétylation des histones du « core » et à des remaniements dans certaines protéines de haute mobilité électrophorétique (HMG₁₄ et ₁₇). Ces événements ne suffisent cependant pas à assurer l'activation des gènes présents dans les régions ainsi décondensées.

Ils doivent apparemment être suivis par l'élimination des nucléosomes de certaines régions à chromatine ainsi préactivées, élimination assortie d'un accroissement dans la sensibilité de l'ADN vis-à-vis de nucléases. On observe par exemple une augmentation de la sensibilité vis-à-vis de la désoxyribonucléase I (DNase I) en des sites particuliers (qualifiés d'hypersensibles ; voir les travaux de Wu), lesquels coïncident généralement (cas des gènes codant pour les protéines de choc thermique ou les métallothionines) avec des séquences

de génomes ayant un rôle privilégié dans le démarrage de la transcription (régions 5' proximales par rapport aux régions codantes). En d'autres termes ces phénomènes illustrent le fait que la conformation chromatiniennne dans les régions ainsi préactivées devient plus accessible aux enzymes de transcription.

Des résultats récents permettent d'avancer l'idée selon laquelle l'hypersensibilité à la DNase I de certaines régions de la chromatine serait due à l'acquisition d'une conformation partiellement déstabilisée du DNA (régions en simple brin) au sein d'un environnement dépourvu de nucléosomes.

L'acquisition de ces conformations localement déstabilisées serait liée à la fixation de protéines douées d'affinité spécifique pour les systèmes concernés (« DNA binding proteins »). Cette hypothèse est confortée par les observations réalisées soit sur les régions promotrices du virus SV₄₀ associé à l'antigène T₁, soit avec les régions promotrices des gènes de l'ARN 5 S de Xénope, interagissant avec le facteur TF_{III}.

Nous avons analysé en détail la distribution des sites d'hypersensibilité à la DNase I dans trois systèmes génétiques distincts en nous attachant à mettre en lumière ceux d'entre eux qui apparaissent au cours de l'activation de ces systèmes : les travaux d'Elgin et coll. sur le locus 67 B du gène hsp de Drosophile, ceux de Senear et Palmiter sur le gène de la métallothionine I de la souris, enfin ceux de Zaret et Yamamoto sur les séquences LTR de gènes activables par les glucocorticoïdes illustrent l'intérêt de la technique d'identification des sites hypersensibles.

Une partie du cours a également été consacrée à des aspects purement méthodologiques : de nouvelles techniques dites d'imprégnation protéique sur filtres de nitrocellulose (« protein blotting ») aux fins de déterminer leur capacité fixatrice à l'ADN ont été mises au point par l'équipe de Weintraub à Princeton, et par celle de W. Gehring à Bâle. Il convient d'y adjoindre la technique dite des empreintes (« footprinting ») dont le principe repose sur la détermination des séquences d'ADN reconnues par ces protéines et protégées par elles vis-à-vis d'une attaque nucléolytique par la DNase ou par des agents chimiques.

Comme nous l'avons déjà évoqué, la diminution de l'indice de compacité de la chromatine, liée pour une large part à des changements dans les propriétés des histones et à l'action des topoisomérases, doit être suivie d'une élimination locale des nucléosomes consécutive à la fixation de protéines non histoniques (NHP) en des régions clés de l'ADN à transcrire. Ces protéines à haute affinité pour l'ADN appartiennent à des catégories fort variées et diffèrent selon les groupes de gènes activables. On y distingue :

a) des facteurs de transcription nécessaires au fonctionnement général de la RNA polymérase II (Roeder et coll., Chambon et coll., Parker et Topol, etc.), enzyme responsable du copiage des séquences génomiques détenant une

information pour la synthèse des protéines, ou de la RNA polymérase III (Engelke et coll.) qui assure la transcription des gènes codant pour les ARN de types 5 S ou ribosomal. L'archétype en est le facteur TF_{III} qui a récemment fait l'objet d'études physicochimiques très approfondies (Klug et coll.) ;

b) des facteurs de transcription à spectre plus défini, c'est-à-dire n'agissant qu'au niveau d'une classe de promoteurs particuliers. L'élément le plus représentatif de cette catégorie est la protéine SP₁, qui se lie aux séquences GGGCGC (TJAN et coll.). Mais l'on peut citer également le facteur de Parker et Topol, qui se fixe au niveau de la séquence « consensus » du gène hsp 70 de *Drosophile*, ou encore le facteur protéique découvert par Wu et coll., qui agit au niveau de la « TATA box » en se liant à l'ADN dans le voisinage du gène hsp 70 avant choc thermique. Ces protéines présentent la particularité de conserver une activité stimulatrice vis-à-vis de la transcription dans des systèmes cellulaires ;

c) des facteurs de régulation positive agissant sur des séquences régulatrices situées en amont (région 5'-proximale) des régions de codage des gènes. Dans ce groupe figurent notamment :

— la protéine identifiée par Emerson et Felsenfeld, élément régulateur dans l'expression des gènes de β globine ;

— la protéine régulatrice des gènes codant pour la synthèse de l'albumine ;

— les protéines se liant aux séquences dites « enhancers ». Citons par exemple la protéine ayant une affinité marquée pour l'élément GRE situé en amont des séquences MMTV (« Mouse mammary tumor virus »). Cette protéine ne se fixe qu'en présence de glucocorticoïdes ; ou encore les protéines de type EBP qui, selon Yaniv, s'attachent au voisinage des « enhancers » dans le génome du virus simien SV₄₀ ;

— les protéines se liant aux séquences TGGCA en amont du promoteur du gène codant pour le lysozyme ;

— enfin, une place doit également être réservée aux protéines capables de modifier la conformation de la chromatine (ex. : topoisomérase F ; facteurs de « compaction » des régions hétérochromatiniennes riches en ADN α ; protéines d'association aux microtubules ou MAP, etc.).

Ayant examiné les modalités d'action de ces divers éléments régulateurs nous avons, dans la dernière partie du cours, consacré un développement important aux séquences régulatrices de type « enhancer », séquences dont la présence, en 5' ou 3' par rapport aux gènes, entraîne une activation considérable dans le taux de transcription de ces gènes.

F. G.

SÉMINAIRES

P. CHAMBON (Strasbourg), *Contrôle transcriptionnel de l'expression de l'information génétique dans les cellules animales.*

M. YANIV (Paris), *Facteurs protéiques de régulation de l'expression génétique.*

F. AMALRIC (Toulouse), *Protéines spécifiques impliquées dans les processus fondamentaux de la régulation de la biogenèse des ribosomes dans les cellules de mammifères.*

M. CREPIN, J.C. LELONG (Paris), *Protéines nucléaires associées aux gènes MMTV et β globine de souris.*

ACTIVITÉS DU LABORATOIRE

BIOCHIMIE CELLULAIRE

Canaux ioniques voltage-dépendants des astrocytes en culture

(Y. BERWALD-NÉTTÉ, A. KOULAKOFF, E. HOUZET, en collaboration avec le Prof. P. ASCHER et L. NOWAK (Ecole Normale Supérieure, Paris))

Précédemment (voir annuaire 1983-1984), nous avons fait état de la présence sur les astrocytes en culture (provenant des hémisphères cérébraux de souris) de structures analogues aux canaux Na^+ voltage-dépendants des cellules excitables. Les propriétés pharmacologiques de ces structures (définies par des essais de liaison de la saxitoxine et de l' α -toxine de scorpion, ainsi que par des essais d'influx de $^{22}\text{Na}^+$ et de sa modification sous l'effet de plusieurs neurotoxines) se sont avérées très proches, bien que non identiques, de celles des canaux Na^+ des neurones. Dans le présent rapport, nous résumons les résultats des recherches électrophysiologiques qui viennent compléter la caractérisation des canaux Na^+ astrocytaires. En outre, l'approche électrophysiologique a conduit à la mise en évidence de la présence, dans les astrocytes, d'autres espèces de canaux ioniques voltage-dépendants.

Deux modes d'enregistrement des courants ioniques en « patch-clamp » ont été pratiqués : enregistrement des courants à l'échelle de la cellule entière (« whole cell recording », WCR) et enregistrement des courants des canaux individuels. Ces deux approches sont complémentaires et fournissent, respecti-

vement, des informations sur le courant global — dû à la perméabilité de la membrane à une ou des espèces ioniques données — et sur le courant unitaire de canaux isolés.

Des enregistrements en mode WCR ont montré la présence de courant entrant et de courant sortant, activés par dépolarisation, et dont l'amplitude varie en fonction du voltage. Le courant entrant (65 à 500 pA, selon la cellule) a été identifié comme courant sodique. Il est activé à des valeurs du potentiel membranaire proches du potentiel de repos, ce qui indique qu'il s'agit de canaux voltage-dépendants fonctionnels. L'analyse des courants unitaires correspondants met en évidence la grande similitude entre les canaux Na^+ des astrocytes et des neurones en ce qui concerne leur conductance, la relation courant-voltage et la réponse aux toxines activatrices du canal (véradridine et toxine de scorpion). Cependant, les canaux astrocytaires diffèrent des canaux des neurones par leur sensibilité, considérablement plus faible, à l'effet bloquant de la tétródotoxine (TTX). L'affinité apparente de cette toxine, déterminée par l'approche électrophysiologique ($K_{0,5}\text{TTX} = 0,4 \mu\text{M}$), concorde bien avec celle déterminée dans des essais de flux ionique ($K_{0,5}\text{TTX} = 0,5 \mu\text{M}$), mais diverge par rapport à l'affinité de liaison à l'équilibre ($K_D = 20 \text{ nM}$ à 37°C). Cette divergence entre les valeurs d'affinité de la TTX, selon qu'elle est mesurée dans des essais fonctionnels ou dans des essais de liaison, peut s'expliquer soit par l'existence dans les astrocytes de deux types de canaux Na^+ , ou bien par un changement conformationnel du site de liaison de la TTX dans les canaux activés. Les expériences en cours sont destinées à discriminer entre ces deux possibilités. L'analyse des canaux individuels a montré que les étapes d'activité du canal soumises à régulation par le voltage transmembranaire sont le temps passé à l'état ouvert (dont la durée moyenne croît avec la dépolarisation) et le temps de fermeture rapide (dont la durée décroît avec la dépolarisation) ; le temps d'activité globale du canal reste constant. La densité des canaux Na^+ sur la membrane astrocytaire est très faible par rapport à celle des neurones, comme l'indiquent l'amplitude du courant Na^+ global, la fréquence des courants Na^+ unitaires et le nombre des sites de liaison de la saxitoxine par cellule.

Les courants sortants activés par le voltage ont été identifiés comme courants potassiques. Ceux-ci ont pu être séparés en courant non inactivant, sensible au tétraéthylammonium (TEA), et en courant inactivant, sensible à la 4-aminopyridine mais peu sensible au TEA. L'analyse en « patch-clamp » a permis de révéler la présence d'au moins trois classes de canaux K^+ qui diffèrent par l'amplitude du courant élémentaire ; l'un de ces canaux est Ca^{++} -sensible. Contrairement aux canaux Na^+ , les canaux K^+ sont très abondants sur les astrocytes. La faible abondance des canaux Na^+ associée avec la densité considérablement plus grande des canaux K^+ peut expliquer la non excitabilité des astrocytes.

Deux types de canaux anioniques, identifiés comme des canaux Cl^- , ont été mis en évidence dans les astrocytes. Ils diffèrent par leur conductance et par les conditions d'activation.

Rôle de la mitochondrie dans la neurogenèse

(B. CROIZAT, F. BERTHELOT, J.-L. VAYSSIÈRE, J.-C. LARCHER
et M. BASSEVILLE)

Nous avons poursuivi l'étude des mécanismes d'action moléculaires du CCA, agent de différenciation du neuroblastome :

1) Nous avons extrait puis purifié l'ATPase mitochondriale F_0F_1 du cortex de souris. Ceci nous a permis de mesurer l'activité enzymatique du complexe F_0F_1 puis, séparément, celle du composant membranaire interne F_0 (canal à proton) et du composant matriciel catalytique F_1 (synthèse d'ATP). La cible moléculaire du CCA est le composant F_0 .

2) Nous avons mesuré la cinétique de pénétration — dynamique et très rapide — du $[^{14}\text{C}]$ CCA dans la mitochondrie, et déterminé sa répartition dans les différents compartiments.

Il fallait tester ce modèle moléculaire sur d'autres systèmes que le neuroblastome.

— Nous avons mis au point les cultures primaires de neurones de cortex de souris (15^e jour de la vie fœtale).

L'analyse des marqueurs mitochondriaux et cytosquelettiques au cours de la différenciation spontanée des neurones révèle une diminution rapide de la synthèse de l'actine suivie de modulations de celle des isotubulines. On note ensuite une accumulation des protéines mitochondriales postérieure à la formation du réseau axonique.

— Nous avons procédé à l'analyse directe de nos marqueurs cytosquelettiques et mitochondriaux sur le cortex de souris aux stades fœtal, néonatal et adulte.

Nous observons une diminution de la synthèse de l'actine et des isotubulines au cours de la maturation du cerveau. Nous pouvons décrire trois étapes concernant les protéines mitochondriales :

- 1) une accumulation relative de toutes les protéines,
- 2) l'apparition de nouvelles protéines,
- 3) des changements relatifs dans les taux de synthèse.

L'ensemble de ces résultats ne contredit pas le modèle que nous proposons pour le neuroblastome.

Ce modèle met en évidence le rôle de la mitochondrie — ainsi que les relations entre la fonction mitochondriale et la structure du cytosquelette — au cours de la différenciation terminale du système.

Nos analyses au cours de la différenciation des cultures primaires de neurones et de la maturation du cerveau révèlent une séquence de changements au niveau des protéines mitochondriales et cytosquelettiques en corrélation avec les étapes de l'ontogenèse. Ces résultats reflètent en partie le développement d'une activité mitochondriale nécessaire aux fonctions neuronales.

Cependant, nos résultats sur le neuroblastome posent une question fondamentale. Outre son activité fonctionnelle de producteur d'ATP, la mitochondrie ne joue-t-elle pas un rôle inducteur direct dans la neurogenèse ? Les mécanismes pourraient impliquer des régulations au niveau des flux ioniques, du pH et des interactions structurales avec le cytosquelette...

Expression des isotubulines au cours de la neurogenèse chez la souris

(Ph. DENOULET, B. EDDÉ, B. de NÉCHAUD, A. WOLFF et D. CHILLET)

Au cours de la neurogenèse, un des événements majeurs concernant le cytosquelette neuronal est l'augmentation du polymorphisme des isotubulines α et β à partir desquelles les microtubules axonaux et dendritiques sont assemblés. Les isotubulines β' , α et β acides, qui apparaissent et s'accumulent dans les neurones lors du développement, sont spécifiques de ce type cellulaire. Elles constituent d'excellents marqueurs de différenciation tant précoce que tardive de la cellule nerveuse.

L'étude de l'origine du polymorphisme a été poursuivie. Parmi les isotubulines cérébrales, α' , $\beta'1$, $\beta3$ et $\beta4$ sont directement codées par six RNA messagers distincts, dont trois sont spécifiques au tissu nerveux. Leur expression est contrôlée au cours du développement dans le cerveau : le mRNA $\beta'1$ est exprimé très précocément, tandis que les deux autres, codant chacun pour une isotubuline $\beta4$, n'apparaissent qu'au cours de la période post-natale.

Les autres isotubulines cérébrales dérivent de modifications post-traductionnelles. $\beta'2$ est la forme phosphorylée de $\beta'1$ tandis que α'' et α''' semblent représenter des dérivés acétylés de α' . L'intervention de ces modifications est également contrôlée au cours de la différenciation neuronale.

Ainsi, l'expression des isotubulines dans le tissu nerveux est contrôlée au moins à deux niveaux : transcriptionnel et post-traductionnel, et requiert une expression différentielle des gènes de la famille multigénique β -tubuline, propre au neurone.

Parallèlement, des anticorps monoclonaux anti- α -tubuline ont été obtenus et sont testés actuellement sur coupes de cerveau et sur cellules en culture. D'autres séries d'immunisations et de fusions sont en cours.

De plus, l'étude du transport axonal des isotubulines dans le nerf sciatique (en collaboration avec L. di GIAMBERARDINO et G. FILLIATREAU, C.E.N., Saclay) a permis de mettre en évidence diverses sous-populations de microtubules se déplaçant à des vitesses différentes le long des axones moteurs. Ces microtubules se différencient par des compositions en isotubulines distinctes. De plus, certaines isotubulines (α''' , $\beta'2$) se sont révélées n'exister que sous forme polymérisée. Ces résultats apportent des informations intéressantes sur la dynamique des microtubules dans les cellules nerveuses et permettent de proposer une explication fonctionnelle au polymorphisme tubuline.

*Contrôle de l'expression génétique des émolases cérébrales
au cours du développement du cerveau de souris*

(L. LEGAULT-DÉMARE, N. LAMANDÉ, M. LAZAR et M. LUCAS)

Notre groupe poursuit la recherche des facteurs génétiques et épigénétiques qui contrôlent l'expression des isozymes de l'émolase $\alpha\alpha$, $\alpha\gamma$ et $\gamma\gamma$ présents dans le cerveau et formés de deux sous-unités distinctes de même poids moléculaire. $\gamma\gamma$ et $\alpha\gamma$, isozymes de l'émolase spécifiques du tissu nerveux, sont exprimés seulement dans les neurones, alors que $\alpha\alpha$, unique isozyme présent dans les cellules gliales, est également exprimé dans d'autres tissus.

L'expression différentielle de ces émolases est un des événements biochimiques marqueurs de la maturation des lignées neuronales et gliales, et constitue un modèle intéressant pour explorer les bases moléculaires de la différenciation du tissu nerveux.

Pour progresser dans notre étude, nous avons entrepris la préparation de sondes ADN complémentaires correspondant aux ARN messagers α et γ . Deux banques d'ADN complémentaires de souris avaient été préparées. La bonne conservation des séquences émolase à travers l'échelle des Mammifères et l'homologie partielle des séquences α et γ d'une même espèce récemment observée nous ont permis de sélectionner des clones α avec une sonde ADN complémentaire correspondant à la protéine γ de rat, et des clones γ avec une sonde α -cDNA de souris. Les sondes α et γ ainsi obtenues nous ont déjà permis de révéler des caractéristiques de structure qui distinguent ces deux ARN. L'ARN γ d'expression neurospécifique possède des séquences non codantes nettement plus longues que celles de l'ARN α d'expression ubiquitaire et, à l'opposé des régions codantes de ces ARN, ces séquences ne présentent probablement pas d'homologie entre elles.

La titration directe des séquences α et γ avec les sondes correspondantes a permis aussi de vérifier que leur concentration est un des éléments du contrôle de l'expression de chacune des émolases au cours du développement du cerveau.

Nous poursuivons l'exploitation des sondes obtenues, qui devraient permettre, à plus long terme, d'identifier les éléments de régulation impliqués dans l'expression distincte de ces gènes au cours du développement et au niveau cellulaire.

*La périphérine, protéine de filament intermédiaire,
spécifique du système nerveux périphérique*

(M.M. PORTIER, M. ESCURAT, F. LANDON)

Nous avons montré que la périphérine, observée pour la première fois dans un extrait cellulaire de neuroblastome murin, était une protéine de filament intermédiaire spécifique des neurones du système nerveux périphérique. On sait que cette partie du système nerveux se différencie à partir de la crête neurale, formation transitoire provenant de la multiplication des cellules des deux bords du tube neural au cours de sa fermeture.

Nous avons étudié l'expression de la périphérine au cours du développement embryonnaire du rat, puisque la spécificité de cette protéine permet de la considérer comme un marqueur de différenciation cellulaire.

Les résultats obtenus par des méthodes biochimiques (analyse d'extraits de tissus sur des gels de polyacrylamide à double dimension) montrent que la périphérine n'est pas détectable au stade de la crête : par contre, il a été possible de la mettre en évidence dans des ganglions rachidiens bien individualisés au 14^e jour embryonnaire, ce qui correspond à un stade de la différenciation des neurones participant à la constitution de ces ganglions. Entre les 11^e et 14^e jours embryonnaires, les cellules qui constitueront les ganglions rachidiens migrent, se mettent en place et achèvent leur multiplication. La quantité de périphérine augmente ensuite de façon nette au cours de la différenciation des neurones de ces ganglions.

Cette étude est poursuivie à l'aide de techniques plus fines c'est-à-dire avec des anticorps mono- et polyclonaux et une sonde cDNA en cours de préparation.

Etude des enzymes de la voie de synthèse des catécholamines

(J. THIBAUT, M. KRIEGER-POULLET, D. PIGEON, E. BONNEFOY, C. BOUIGE et F. COGÉ)

1. *Tyrosine hydroxylase (TH)*

Il y a quelques années, nous avons mis au point au laboratoire une méthode de purification de la TH à partir de tumeurs transplantables (phéo-

chromocytomes) chez le rat. Ceci nous a permis d'obtenir des quantités pondérables d'enzyme très purifié. En même temps que l'activité TH, nous avons co-purifié une protéine kinase dont les propriétés permettent de phosphoryler la TH, et une protéine de 118 kD du phéochromocytome, qui pourrait être la kinase elle-même. Cette kinase n'est exigeante qu'en Mg^{++} pour son activité ; il pourrait s'agir de la sous-unité catalytique d'une protéine kinase cy.AMP dépendante.

Après phosphorylation, la TH a été soumise à une trypsinolyse ménagée, et un peptide phosphorylé unique a été isolé et séquencé. La localisation de ce peptide sur la structure primaire nous a permis de définir le domaine de reconnaissance d'un anticorps monoclonal anti-TH, que nous avons produit avec H. Röhrer.

2. DOPA décarboxylase (DDC)

L'étude de cet enzyme vient d'être entreprise. Un anticorps anti-DDC de porc a été préparé grâce à la collaboration de Madame C. Borri-Voltattorni (Perugia, Italie). Cet anticorps donne des réactions croisées avec la DDC de rat. Il s'avère un outil de choix, d'une part pour suivre la purification de la DDC du rat, qui est entreprise à partir du rein et du phéochromocytome de cet animal, d'autre part pour doser la protéine présente dans divers extraits cellulaires du rat et de l'homme.

II. Expression génétique de la DDC

L'étude du contenu en ARN messagers de la DDC vient d'être entreprise dans les phéochromocytomes de rat. Dès maintenant, l'immuno-précipitation par l'anticorps préparé contre la protéine de porc des produits de synthèse *in vitro* de lysat de réticulocytes supplémentés par les ARN messagers de phéochromocytome de rat a permis de caractériser la DDC.

CYTOSQUELETTE ET MOTILITÉ

Au cours de cette année, l'U.A. 521 du C.N.R.S. (M^{mc} A. OLOMUCKI) a poursuivi l'étude du mécanisme de la motilité cellulaire à l'échelle moléculaire. Dans ce cadre, elle s'est occupée tout particulièrement des facteurs protéiniques et non-protéiniques susceptibles de moduler l'état structural de l'actine *in vivo*.

I. *Etude comparative des cytosquelettes des plaquettes sanguines*

(D.B. PHO et E. DESBRUYÈRES)

Dans l'étude des relations entre l'activation et l'agrégation plaquettaire, d'une part, et le fonctionnement des protéines contractiles d'autre part, nous avons montré précédemment que la tropomyosine et un polypeptide de 79 kDa étaient nettement augmentés dans les cytosquelettes des plaquettes activées, et agrégés.

Le polypeptide de 79 kDa a été identifié à la caldesmone de plaquettes, qui doit être classée avec les caldesmones à faible masse moléculaire (« 71-77 kDa »), alors que la caldesmone de muscle lisse (de gésier de poulet) est à haute masse moléculaire (« 120-140 kDa »).

La présence de tropomyosine et de caldesmone dans le cytosquelette dès l'activation plaquettaire (phénomène très rapide) implique leur intervention dans un processus dynamique chez les plaquettes sanguines. La présence d'actine, de myosine et de calmoduline, en même temps que celle des deux protéines précédentes, dans le cytosquelette des plaquettes stimulées suggère que ce processus pourrait être une régulation par le calcium des interactions actine-myosine liée à l'actine. Ce mécanisme de régulation existerait alors dans les plaquettes sanguines à côté de celui, déjà connu, de la régulation liée à la phosphorylation d'une chaîne légère de la myosine.

Par ailleurs, la présence d' α -actinine et de gelsoline a été mise en évidence dans les cytosquelettes des plaquettes agrégées, et ceci est en accord avec leur action sur les microfilaments d'actine et la restructuration du réseau des microfilaments lors de l'agrégation plaquettaire.

II. *Protéines des plaquettes et du sérum humain interagissant avec l'actine*

1. *Gelsoline des plaquettes*

(A. OLOMUCKI, C. HUC et F. LEFÉBURE)

Nous avons mis récemment au point une nouvelle méthode de préparation de la gelsoline, rapide et de bon rendement. Cela nous a permis d'étudier plus à fond les effets de cette protéine sur la polymérisation de l'actine et, tout particulièrement, d'explorer la sensibilité au calcium de cette interaction.

En absence de calcium, la capacité de fragmentation des filaments d'actine et les effets de la gelsoline sur la G-actine sont affaiblis, ce qui indique que ces interactions sont relativement sensibles au calcium.

Nous nous sommes demandé alors si la gelsoline de plaquette ne contient pas d'isoformes dont certaines seraient insensibles au calcium. Nous savons

actuellement que la gelsoline de plaquette contient plusieurs formes séparables par électrofocalisation dans l'urée, ayant des pK entre 5,8 et 6,0. Nous avons dénombré trois bandes majeures et quatre mineures, qui ont toutes réagi positivement avec l'anticorps anti-gelsoline du plasma.

La comparaison des cartes peptidiques de ces formes multiples ainsi que la vérification de la sensibilité au calcium de leur interaction avec la G-actine sont actuellement en cours au laboratoire.

2. Protéine sérique du transport de vitamine D₃ (DBP)

(M. COUÉ, C. DUBORD et A. OLOMUCKI)

Nous avons précédemment élucidé le mécanisme d'action de la DBP sur l'actine. L'existence dans le sérum sanguin de deux protéines, la DBP et la gelsoline, liant l'actine pose le problème de leur rôle respectif. Il nous a paru intéressant d'étudier les propriétés d'un mélange de ces protéines avec l'actine.

Les résultats de cette étude ont montré que le DBP et la gelsoline entrent en compétition pour fixer l'actine, que le complexe actine-DBP se forme préférentiellement et qu'il n'y a pas de formation d'un complexe ternaire.

La DBP capte les monomères d'actine, elle n'interagit pas avec les filaments préformés et n'interfère en aucune façon avec les activités « capping » et « severing » de la gelsoline. Les deux protéines semblent avoir dans le sérum des actions complémentaires qui visent à maintenir l'actine à l'état non-polymérisé.

Après avoir obtenu les premiers cristaux de la DBP, qui ont été étudiés par diffraction des rayons X par A. Ducruix, de l'I.C.S.N., Gif-sur-Yvette, nous avons également entrepris de cristalliser le complexe actine-DBP.

III. Mécanisme moléculaire de la division cellulaire (cytodiérèse)

(Ch. ORIOL-AUDIT et H. TOUITOU)

1. Clivage des œufs d'amphibiens

(avec C. AIMAR, Paris VI, et L. TILLEY)

Nous avons poursuivi nos études sur les aspects moléculaires de la division cellulaire en prenant comme modèle *in vivo* le clivage des œufs d'amphibiens (Xénopes et Pleurodèles). Nous avons précédemment montré que les polyamines sont les inducteurs de la cytodiérèse et de l'organisation de l'anneau contractile, qui est l'organelle de clivage. Cette année, nous avons mis en évidence l'augmentation de la biosynthèse des polyamines juste avant le

clivage, au cours de la période correspondant à la formation de l'anneau contractile.

Dans le but d'étudier par la suite les relations entre la membrane plasmatique et l'organelle de clivage sous-jacent, nous avons isolé et purifié la membrane de l'œuf de Xénope et nous avons analysé sa constitution protéique et lipidique. En reconstituant des vésicules de même composition phospholipidique que la membrane des œufs, nous avons mis en évidence l'interaction des polyamines à concentration physiologique avec les phospholipides membranaires.

2. *Etude physicochimique* (avec Y. GACHE)

Les faisceaux sont la forme polymérisée d'actine qui constitue l'anneau contractile. Les conditions de leur induction par les polyamines ont été étudiées par diverses techniques (turbidimétrie, dialyse à l'équilibre, dichroïsme circulaire, électrophorèse, microscopie électronique). La formation de ces faisceaux est réalisée à partir de l'actine monomérique par la fixation de trois molécules de spermine ou quatre de spermidine. Le calcium qui est fortement lié à l'actine, ou qui est présent dans le milieu à des concentrations égales ou supérieures à 10^{-4} M, retarde la vitesse de formation de ces faisceaux.

CHIMIE BIOORGANIQUE

Les recherches de l'équipe de M. OLOMUCKI concernant la modification chimique des bases des acides nucléiques par les esters α -acétyléniques étaient situées à trois niveaux : celui des nucléosides, des nucléotides et des acides nucléiques.

1. *Nucléosides* (J.Y. LE GALL)

Une nouvelle synthèse, à une plus grande échelle, de l'ensemble des dérivés de l'adénosine obtenus précédemment a été entreprise cette année en vue de tester l'activité antivirale et antitumorale (virus de Friend, leucémie L1210) de ces produits à l'Institut Pasteur. Des échantillons ont également été fournis au National Cancer Institute américain, sur sa demande, pour des tests de nature différente (leucémie P388, mélanome B16, tumeur ovarienne M5, etc.).

2. Nucléotides

(en collaboration avec F. THOMÉ de l'U.A. 521 du C.N.R.S.)

L'étude de l'activité de nos analogues de l'ADP et de l'ATP, vis-à-vis des enzymes utilisant les nucléotides adényliques comme substrats, a été poursuivie. Les paramètres cinétiques des réactions enzymatiques ont été déterminés et comparés avec ceux indiqués dans la littérature pour d'autres dérivés des nucléotides comportant un fragment base élargi. Il s'est avéré ainsi que la diminution de l'efficacité des analogues des nucléotides par rapport aux nucléotides naturels peut être due, selon les cas, soit à une moins bonne acceptation de la base dans le site enzymatique de fixation de l'adénine, soit à des perturbations stériques des sites réactionnels proprement dits.

3. Acides nucléiques

(P. ROQUES)

Une étude modèle de modification chimique des acides nucléiques a été effectuée sur le poly(C). La réaction de ce dernier avec les esters α -acétyléniques est un peu plus lente que celle du poly(A) étudié antérieurement. Le dérivé de cytosine formé dans ce cas est un isomère de celui obtenu dans la réaction modèle au départ de la cytidine. Le poly(C) modifié a été hydrolysé enzymatiquement en nucléosides et les paramètres en HPLC du nouveau nucléoside ont été déterminés. Une base expérimentale a été ainsi acquise pour l'étude de la modification chimique des tRNA qui est actuellement en cours.

PUBLICATIONS

J.A. BOUDIER, Y. BERWALD-NETTER, H.D. DELLMANN, J.L. BOUDIER, F. COURAUD, A. KOULAKOFF et P. CAU, *Ultrastructural visualization of Na⁺-channel-associated ¹²⁵I- α -scorpion-toxin binding sites on fetal mouse nerve cells in culture* (*Dev. Brain Res.*, 20, 138-142, 1985).

F. COURAUD, N. MARTIN-MOUTOT, A. KOULAKOFF et Y. BERWALD-NETTER, *Neurotoxin-sensitive sodium channels in neurons developing in vivo and in vitro* (*J. Neurosci.*, 6, 192-198, 1986).

P. JOURDON, Y. BERWALD-NETTER et J.M. DUBOIS, *Effects of dimethylsulfoxide on membrane currents of neuroblastoma \times glioma hybrid cells* (*Biochim. Biophys. Acta*, 856, 399-402, 1986).

L. NOWAK, P. ASCHER et Y. BERWALD-NETTER, *Ionic channels in mouse astrocytes in culture* (*J. Neurosci.*, sous presse).

K. TAKEDA, T. SHIMAHARA, L. TAUC et Y. BERWALD-NETTER, *Acetylcholine-activated currents in mouse neuroblastoma cells* (*Brain Res.*, sous presse).

B. MARTIN, R. VRANCKX, Ph. DENOULET et E.A. NUNEZ, *α -fetoprotein expression in intra- and extra-embryonic fluids of developing chick embryo* (*Dev. Biol.*, 111, 352-358, 1985).

W. SAVINO, L.N. GASTINEL, A. WOLFF, M. DARDENNE et J.F. BACH, *Caractérisation immunochimique des molécules reconnues dans l'épithélium thymique humain par des anticorps monoclonaux anti-thymuline* (*Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 301, Sér. III, 577-579, 1985).

W. SAVINO, G. MANGANELLA, J.M. VERLEY, A. WOLFF, S. BEVRIH, P. LEVASSEUR, J.P. BINET, M. DARDENNE et J.F. BACH, *Thymome epithelial cells secrete thymic hormone but do not express class II antigens of the major histocompatibility complex* (*J. Clin. Invest.*, 76, 1140-1146, 1985).

B. de NÉCHAUD, M. GUMPEL et J.M. BOURRE, *Changes in some myelin protein markers and in cytoskeletal components during wallerian degeneration of mouse sciatic nerve* (*J. Neurochem.*, 46, 708-716, 1986).

N. LAMANDÉ, Y. ZEITOUN, F. GROS et L. LEGAULT, *Regulation of neuron-specific enolase isozyme levels during differentiation of murine neuroblastoma cell cultures* (*Neurochem. Int.*, 7, 867-874, 1985).

J. MASSOULIÉ, M. VIGNY et M. LAZAR, *Expression of acetyl-cholinesterase* (in : *Molecular Basis of Nerve Activity*, J.P. CHANGEUX et coll., éd., pp. 619-633. W. de Gruyter and Co., Berlin, New York, 1985).

M. VIGNY, M. LAZAR et J. KENIG, *Molecular forms of acetyl-cholinesterase* (in : *Cellular Biology of Ectoenzymes*, G.W. KREUTZBERG et Z. HALL, éd., pp. 229-237, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1986).

N. KÖNIG, M.J. DRIAN, A. PRIVAT, N. LAMANDÉ, M. SCHACHNER et N. PARÈS-HERBULÉ, *Dissociated cells of final rat pallium grown in culture medium supplemented with noradrenaline : effect of the expression of neuron-specific enolase and cell adhesion molecule* (*Neurosci. Lett.*, 1986, sous presse).

E. HIRSCH, M. RUBERG, M. DARDENNE, M.M. PORTIER, F. JAVOY-AGID, J.F. BACH et Y. AGID, *Monoclonal antibodies raised against Lewy bodies in brains from subjects with Parkinson's disease* (*Brain Res.*, 345, 374-378, 1985).

C. BENLOT, J. ANTRÉASSIAN, J.P. HENRY, J.C. LEGRAND et J. THIBAUT, *In vitro translation of human pheochromocytoma messenger RNAs characterization of tyrosine-hydroxylase and dopamine- β -hydroxylase* (*Biochimie*, 67, 589-595, 1985).

D. RICQUIER, G. MORY, F. BOUILLAUD, M.C. COMBES-GEORGE et J. THIBAUT, *Factors controlling brown adipose tissue development* (*Reproduction, Nutrition, Développement*, 25, 175-181, 1985).

M. DIETL, M. ARLUISON, P. MOUCHET, C. FEURSTEIN, M. MANIER et J. THIBAUT, *Immunohistochemical demonstration of catecholaminergic cell bodies in the spinal cord of rat (Histochemistry, 82, 385-389, 1985).*

J. ANTRÉASSIAN, C. BENLOT, J. THIBAUT, F. GROS, H. GOZLAN, F. CESSÉLIN, J.P. HENRY et J.C. LEGRAND, *Simultaneous evaluation of mRNAs of dopamine- β -hydroxylase, tyrosine hydroxylase and proenkephalin A from three human pheochromocytomas (Neurochem. Int., 8, 93-101, 1986).*

D. PIGEON, R. DRISSI-DAOUDI, F. GROS et J. THIBAUT, *Copurification de la tyrosine hydroxylase du phéochromocytome de rat avec une protéine kinase (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 302, Sér. III, 435-438, 1986).*

Y. TILLET et J. THIBAUT, *Les centres catécholaminergiques de l'encéphale de mouton. Etude immunocytochimique. I - Myélocéphale et métencéphale (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 4, Sér. III, 125-130, 1986).*

Y. TILLET et J. THIBAUT, *Les centres catécholaminergiques de l'encéphale de mouton. Etude immunocytochimique. II - Mésencéphale et diencéphale (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 5, Sér. III, 151-156, 1986).*

F. de VITRY, J. CATELON, M. DUBOIS, J. THIBAUT, D. BARRITAUT, J. COURTY, S. BOURGOIN et M. HAMON, *Partial expression of monoaminergic (serotonergic) properties by the multipotent hypothalamic cell line F 7. An example of learning at the cellular level (Neurochem. Int., sous presse).*

M.F. FRANZONI, J. THIBAUT, A. FASOLO, M.G. MARTINOLI, F. SCARANARI et A. CALAS, *The organization of TH-immunopositive neurons in the brain of the crested newt Triturus cristatus carnifex (J. Comp. Neurol., sous presse, 1986).*

H. ROHRER, A.L. ACHESON, J. THIBAUT et H. THOENEN, *Developmental potential of quail dorsal root ganglion cells analysed in vitro and in vivo (Neuroscience, sous presse, 1986).*

F. LANDON, Y. GACHE, H. TOUITOU et A. OLOMUCKI, *Properties of two isoforms of human blood platelet α -actinin (Eur. J. Biochem., 153, 231-237, 1985).*

C. ORIOL-AUDIT, M.W. HOSSEINI et J.M. LEHN, « Super-polyamines ». *Macrocylic polyamines induce highly efficient actin polymerization (Eur. J. Biochem., 151, 557-559, 1985).*

C. ORIOL-AUDIT, *Actin and polyamines : a further approach to the cytokinesis mechanisms (in : Recent Progress in Polyamine Research, L. SELMECI, M.E. BROSAN et N. SEILER, édés., pp. 151-160. Akademiai Kiado, Budapest, 1985).*

Y. GACHE, F. LANDON et A. OLOMUCKI, *Isoforms of platelet α -actinin* (in : *Contractile Proteins in Muscle and Non-Muscle Cell Systems ; Biochemistry, Physiology and Pathology*, E.E. ALIA, N. ARENA et M.A. RUSSO, édés., pp. 77-84. Praeger Scientific, New York, 1985).

M. COUÉ, C. HUC, F. LEFÉBURE et A. OLOMUCKI, *Properties of a 90 kDa protein-actin complex isolated from human platelets* (in *Contractile Proteins in Muscle and Non-Muscle Cell Systems : Biochemistry, Physiology and Pathology*, E.E. ALIA, N. ARENA et M.A. RUSSO, édés., pp. 117-127. Praeger Scientific, New York, 1985).

A. OLOMUCKI, M. COUÉ, M. VIAU et J. CONSTANS, *Mechanism of the interactions of serum vitamin D - binding protein with actin* (in : *Contractile Proteins in Muscle and Non-Muscle Cell Systems ; Biochemistry, Physiology and Pathology*, E.E. ALIA, N. ARENA et M.A. RUSSO, édés., pp. 127-136. Praeger Scientific, New York, 1985).

C. ORIOL-AUDIT, N.J. GRANT et C. AIMAR, *Role of polyamines in cell division of amphibian eggs* (in : *Contractile Proteins in Muscle and Non-Muscle Cell Systems : Biochemistry, Physiology and Pathology*, E.E. ALIA, N. ARENA et M.A. RUSSO, édés., pp. 275-283. Praeger Scientific, New York, 1985).

D.B. PHO, E. DESBRUYÈRES, E. DER TERROSSIAN et A. OLOMUCKI, *Cytoskeleton of ADP- and thrombin-stimulated blood platelets. Presence of a caldesmon-like protein, α -actinin and gelsolin at different steps of the stimulation* (*FEBS Lett.*, 202, 117-121, 1986).

M. OLOMUCKI, J.Y. LE GALL, P. ROQUES, F. BLOIS et S. COLINART, *Reaction of acetylenic compounds with nucleobases in nucleosides, nucleotides and poly(A)* (*Nucleosides and Nucleotides*, 4, 161-163, 1985).

P. ROQUES, F. THOMÉ, J.Y. LE GALL, F. BLOIS, A. OLOMUCKI et M. OLOMUCKI, *Chemical modification of nucleosides, nucleotides and nucleic acids using α -acetylenic esters* (in : *Bio-Organic Heterocycles*, H.C. van der PLAS, éd., Elsevier Science Publ., Amsterdam, 1986, pp. 203-206).

DIPLÔME D'ÉTUDES APPROFONDIES

P. ROQUES, *Etudes basées sur une nouvelle méthode de modification chimique des bases des acides nucléiques : — Intercalation dans le DNA des nucléosides modifiés, — Modification chimique des acides nucléiques* (Option « Biochimie », U.E.R. de Biochimie, Université Paris VI, septembre 1985).

CONFÉRENCES, INVITATIONS, PARTICIPATION À DES CONGRÈS

Le Professeur F. GROS a dirigé une délégation se rendant au Japon pour établir un programme d'échanges scientifiques dans le domaine du cancer. Il a également fait partie de la délégation de l'Académie des Sciences à Belgrade afin de renforcer les liens de coopération avec l'Académie Serbe. Enfin il a participé à la délégation nommée par le Président de la République pour représenter la France au colloque « Neurosciences et Ethique », colloque tenu à Jakobsberg, R.F.A. (avril 1986) dans le cadre des rencontres précédant le « Sommet » des pays industrialisés.

Parmi les conférences du Professeur F. GROS à l'étranger citons : sa participation en tant que conférencier à la réunion sur « les Biopolymères et les Biotechnologies » (Institut Weizman des Sciences, Israël) ; le colloque de Neurobiologie Moléculaire à Maidstone (Grande-Bretagne) ; le colloque sur les Bases Physicochimiques de la Vie à Léninegrad et Moscou.

M^{me} Y. BERWALD-NETTER a été invitée à donner deux conférences : 1) *Développement et propriétés des canaux Na⁺ dans le système nerveux central*, dans le cadre du Colloque National des Neurosciences, à Bordeaux (avril 1986) ; 2) *Characterization of voltage-gated Na⁺ channels in mouse brain astroglia*, dans le cadre de la XVth Aharon Katzir-Katchalsky Conference on « Molecular Neurobiology », à Maidstone, Angleterre (juin 1986). Elle a présenté une communication : *Mouse brain astroglia in culture express voltage-gated Na⁺ channels*, dans le cadre du Symposium International « Molecular Aspects of Neurobiology », à Florence, Italie (juin 1985). Elle a également donné une conférence : *Les canaux ioniques des cellules gliales*, dans le cadre de l'enseignement du DEA de Neurosciences, au C.H.U. Pitié-Salpêtrière, Paris (avril 1986).

M^{me} A. KOULAKOFF a participé au Symposium International « Molecular Aspects of Neurobiology », à Florence (juin 1985), où une communication a été présentée : *Muscarinic acetylcholine receptor localization in cultures of fetal mouse brain neurons* (avec C. ANDRÉ et Y. BERWALD-NETTER).

M. B. CROIZAT a donné une conférence : *Effets de substances pharmacologiquement actives sur la cellule neuronale*, aux Laboratoires P. Fabre, à Castres, Tarn (mai 1986).

MM. B. CROIZAT et J.L. VAYSSIÈRE ont participé au Colloque des Neurosciences, à Bordeaux (avril 1986) où ils ont présenté un « poster » : *Rôle de la mitochondrie dans la neurogenèse* (J.C. LARCHER, J.L. VAYSSIÈRE, F. BERTHELOT, F. GROS et B. CROIZAT).

M. Ph. DENOULET a donné deux conférences : 1) *Expression and use of neuron-specific isotubulins in the developing mouse*, aux Rencontres Institut

Pasteur / Medical Research Council (Cambridge), à Wye, Grande-Bretagne (septembre 1985) ; 2) *La neurogenèse : expression des marqueurs isotubulines, et polymorphisme fonctionnel*, dans le cadre des Conférences associées au DEA de Biochimie de Paris VI, « Structure et Intégration Fonctionnelle des Protéines » (avril 1986). Le groupe a participé : 1) au Colloque I.N.S.E.R.M. « Génétique Moléculaire et Pathologie du Système Nerveux », à Bligny-sur-Ouche (juin 1985), où un « poster » a été présenté : *Expression des isotubulines in vivo et in vitro au cours de la différenciation nerveuse chez la souris* (Ph. DENOULET, B. EDDÉ, A. WOLFF, B. de NÉCHAUD et D. CHILLET) ; 2) à l'European Cytoskeletal Club, à Bielefeld, R.F.A. (septembre 1985) où trois « posters » ont été présentés : a) *Specific isotubulins expressed during neuronal differentiation of E.C. cells : transcriptional and post-translational controls* (B. EDDÉ, Ph. DENOULET et F. GROS) ; b) *Cytoskeleton of the human thymic epithelium in health and disease* (W. SAVINO, A. WOLFF, Ph. DENOULET et M. DARDENNE) ; c) *Changes in cytoskeletal protein composition during wallerian degeneration of mouse sciatic nerve* (B. de NÉCHAUD, M. GUMPEL, J.M. BOURRE et Ph. DENOULET) ; 3) à la 25th Harden Conference on Cytoskeleton, Ashford, Grande-Bretagne (septembre 1985), où Ph. DENOULET a présenté une communication : *Expression of neuron-specific isotubulins in the developing mouse* (Ph. DENOULET, B. EDDÉ and F. GROS) ; 4) au XIIIth Annual Meeting of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, Paris (septembre 1985) ; 5) au II^e Colloque National des Neurosciences, à Bordeaux (avril 1986) où deux « posters » ont été présentés : a) *Contrôle de l'expression des isotubulines au cours de la neurogenèse chez la souris* (Ph. DENOULET, B. EDDÉ, B. de NÉCHAUD, A. WOLFF, D. CHILLET et F. GROS) ; b) *Dynamique du cytosquelette axonal dans le nerf sciatique normal et en régénération* (G. FILLIATREAU, R. HASSIG, Ph. DENOULET, B. de NÉCHAUD et L. DI GIAMBERARDINO) ; 6) au 9th Symposium A. Katzir on Molecular Neurobiology, Maidstone, Grande-Bretagne (juin 1986), où un « poster » a été présenté : *Differential stability of axonally-transported cytoskeletal polymers* (G. FILLIATREAU, R. HASSIG, L. di GIAMBERARDINO, Ph. DENOULET et B. de NÉCHAUD).

M^{me} LEGAULT-DÉMARE a organisé une table ronde : *Marqueurs neuronaux et gliaux*, au Colloque I.N.S.E.R.M. « Génétique Moléculaire et Pathologie du Système Nerveux » qui s'est tenu à Bligny-sur-Ouche (1985). Elle a participé au Colloque « Biologie Moléculaire du Gène et Oncogènes », à Pompadour (1986), où elle a présenté une communication : *Expression des gènes de deux isozymes de l'énolase, marqueurs de la maturation des cellules nerveuses* (avec N. LAMANDÉ, M. LAZAR et M. LUCAS).

M. N. LAMANDÉ a participé au Symposium « Recent Advances in Brain Development and Aging *in vitro* models », à Iraklion, Grèce (1985), où une communication a été présentée : *Expression of neuron specific markers in*

dissociated pallial cells cultured with or without nonadrenaline (avec N. KÖNIG, M.J. DRIAN, A. PRIVAT et M. SCHACHNER).

M^{me} M. LAZAR a donné une conférence sur invitation : *Studies on the molecular mechanisms controlling the developmental expression of cerebral enolases* (avec N. LAMANDÉ, M. LUCAS et L. LEGAULT) à la Sixth European Winter Conference on Brain Research, à Avoriaz (1986).

M^{lle} M. LUCAS a participé au Colloque National des Neurosciences, à Bordeaux (1986), où elle a présenté deux communications : 1) *Etude de l'expression de deux isozymes de l'énolase marqueurs de la maturation neuronale* (avec N. LAMANDÉ, M. LAZAR et L. LEGAULT) ; 2) *Les récepteurs beta-adrénergiques dans les cellules gliales C₆. « Turnover » et régulation* (avec V. HOMBURGER, C. PANTALONI, H. GOZLAN et J. BOKAERT).

M^{me} M.M. PORTIER a donné un séminaire intitulé : *Le cytosquelette du système nerveux central et périphérique*, à l'Unité I.N.S.E.R.M. 289, Hôpital de la Salpêtrière (novembre 1985). Elle a également été invitée à donner une conférence intitulée : *Le cytosquelette dans le vieillissement cérébral*, aux Journées d'Enseignement Neurologique organisées par les Laboratoires Merck-Sharp et Dohme-Chibret, à Clermont-Ferrand (avril 1986). Elle a présenté un « poster » intitulé : *La périphérine, protéine de filament intermédiaire spécifique du système nerveux périphérique* (M.M. PORTIER, M. ESCURAT), au Colloque National des Neurosciences, à Bordeaux (avril 1986).

M. M. ESCURAT a présenté un « poster » intitulé : *Expression of peripherin during the development of the rat peripheral nervous system*, au Club Européen du Cytosquelette, à Bielefeld, R.F.A. (septembre 1985), et un « poster » intitulé : *Expression de la périphérine, nouvelle protéine de filament intermédiaire au cours du développement du rat*, au Colloque de « Génétique Moléculaire et Pathologie », à Paris (septembre 1985).

M. J. THIBAUT a participé au 10th Meeting of International Society for Neurochemistry, à Riva del Garda, Italie (mai 1985). Un « poster » y a été présenté : *Tyrosine hydroxylase immuno-positivity in the hypothalamus of the newt* (M.F. FRANZONI, A. FASOLO, A. CALAS et J. THIBAUT). Au Colloque d'Animation de la Recherche, à Bligny-sur-Ouche (juin 1985), un « poster » a été présenté : *Différenciation neuronale et gliale des cellules souches de l'hypothalamus* (F. de VITRY, J. CATELAN, J. THIBAUT, L. LEGAULT, J.P. DELAUNOY et P. DUPOUEY). Au 9th European Neurochemistry Association, à Oxford (septembre 1985), un « poster » a été présenté : *Ultrastructural localization of tyrosine hydroxylase like immuno-reactivity in the caudal hypothalamus of the newt* (M.F. FRANZONI, J. THIBAUT, A. CALAS et A. FASOLO). Au Colloque National des Neurosciences, à Bordeaux (avril 1986), trois « posters » ont été présentés : 1) *Rôle de la sérotonine dans la différenciation neuronale de la lignée nerveuse F 7* (F. de VITRY, J. CATELAN, J. THIBAUT, D. BARRITAULT,

J. CORTI, S. BOURGOIN et M. HAMON) ; 2) *Etude immunocytochimique chez le rat de greffes intra-hypothalamiques de substance noire à l'aide d'anti-corps anti-tyrosine hydroxylase* (S. GUY, J.P. HERMAN, K. CHOULLI, M. LE MOAL, J. THIBAUT et A. CALAS) ; 3) *Caractérisation in vitro de la tyrosine hydroxylase (TH) et de la DOPA-décarboxylase (DDC) à l'aide d'anticorps polyclonaux et monoclonaux* (D. PIGEON, E. BONNEFOY, F. COGÉ, M. KRIEGER-POULLET, C. BORRI-VOLTATTORNI, H. ROHRER et J. THIBAUT).

M^{me} C. ORIOL-AUDIT a donné deux conférences : 1) *L'actine et les polyamines dans l'induction de la division cellulaire (cytodiérèse)*, au Centre de Recherches de Biochimie Macromoléculaire, Montpellier (juin 1985) ; 2) *Mécanisme moléculaire du clivage cellulaire*, à la Journée de l'Institut de Biologie, Collège de France, Paris (décembre 1985). Elle a présenté trois communications : 1) *Rôle des polyamines dans la division cellulaire* (C. AIMAR et C. ORIOL-AUDIT), au Colloque « Génétique et Biologie du Développement », à Marseille (mai 1985) ; 2) *A study of the first cleavage of amphibian eggs* (C. ORIOL-AUDIT, N.J. GRANT, C. AIMAR et H. TOUITOU), à la Research Conference on Polyamines, à Meudon (juillet 1985) ; 3) *Isolement et caractérisation partielle de la membrane plasmique de l'œuf de Xenopus laevis* (L. TILLEY et C. ORIOL-AUDIT), au Congrès du GERLI, à Paris (juin 1986). Elle a été invitée à présenter une communication : *Role of polyamines in the cytokinesis mechanism*, à la Gordon Research Conference on Polyamines, à Meriden, U.S.A. (juillet 1985).

M^{me} M.-O. MONNEUSE a donné une conférence : *Invertébrés marins, plantes supérieures et Agrobacterium : quelle parenté évolutive peut-on imaginer à partir de l'étude comparative de déshydrogénases ?*, au Laboratoire de Biologie et Génétique Evolutives, Gif-sur-Yvette (juin 1986).

M^{lle} F. LANDON et M^{me} A. OLOMUCKI ont présenté une communication : *Gelation of F-actin by isoforms of human blood platelet α -actinin*, au 3rd Meeting of the European Cytoskeletal Club, à Bielefeld, R.F.A. (septembre 1985).

M. D.B. PHO et M^{me} A. OLOMUCKI ont participé à l'International Symposium « From Enzymology to Cellular Biology », à Gif-sur-Yvette (mai 1986) où ils ont présenté une communication : *Involvement of some actin binding proteins at different steps of the stimulation of blood platelets* (D.B. PHO, E. DESBRUYÈRES, E. DER TERROSSIAN et A. OLOMUCKI).

M^{lle} F. LANDON a présenté une communication : *Interaction entre la F-actine et les isoformes d' α -actinine de plaquettes sanguines humaines* (F. LANDON et A. OLOMUCKI), au Club Français du Cytosquelette, à Banyuls (juin 1986).

M^{lle} M. COUÉ a présenté une communication : *Etude de l'interaction actine-gelsoline*, au Club Français du Cytosquelette, à Banyuls (juin 1986).

M^{me} F. THOMÉ a présenté une communication : *New adenine nucleotide analogues as probes of adenine binding sites in enzymes* (F. THOMÉ, F. BLOIS, A. OLOMUCKI et M. OLOMUCKI), au Symposium International « From Enzymology to Cellular Biology », Gif-sur-Yvette (mai 1986).

M. M. OLOMUCKI a présenté une communication : *Reaction of 2-aminopyridine with allenic and acetylenic phosphonic acids* (avec J. SKOLIMOWSKI et R. SKOWRONSKI) au Symposium International sur la « Chimie du Phosphore, du Silicium et du Soufre », à Lodz, Pologne (mai 1985). Il a participé : 1) à la 15^e Réunion du Groupe d'Etudes Structure-Activité, à Beaune, Côte-d'Or (mai 1985) ; 2) à la 26^e Réunion du Groupe d'Etudes de Chimie Organique, à Aussois, Savoie, où il a donné une conférence : *Etude chimique et applications biologiques d'une nouvelle méthode de dérivatisation des nucléobases* (septembre 1985) ; 3) au Colloque « Chimie et Biologie des Récepteurs » : *Nouveaux concepts et perspectives thérapeutiques*, à Orléans (novembre 1985) ; 4) à la 1^{re} Rencontre de Chimie Organique Biologique, à Aussois, où il a donné une conférence : *Réactions des bases des acides nucléiques avec les esters α -acétyléniques : aspects chimiques et applications biologiques* (mars 1986) ; 5) au Symposium International « From Enzymology to Cellular Biology », à Gif-sur-Yvette (mai 1986) ; 6) à la « 4th FECHEM Conference on Heterocycles in Bio-Organic Chemistry », à Houthalen (Belgique), où il a présenté un « poster » intitulé : *A new method of chemical modification of nucleic acid bases. Application to nucleosides, nucleotides and nucleic acids* (avec P. ROQUES, J.Y. LE GALL, F. THOMÉ et F. BLOIS) (mai 1986).

DISTINCTION

Le Professeur F. GROS a été élevé au rang d'Officier dans l'Ordre National de la Légion d'Honneur.