

## Génétique cellulaire

M. François JACOB, professeur

Le cours de cette année a été consacré à l'étude de la biosynthèse induite d'enzymes chez les bactéries. Après avoir rappelé comment s'est progressivement dégagée la notion de régulation cellulaire s'exerçant sur la synthèse des enzymes comme sur leur activité, on s'est attaché principalement à analyser le système qui permet à *Escherichia coli* d'utiliser le lactose.

Grâce aux propriétés de la conjugaison chez *E. Coli*, la localisation des divers déterminants génétiques sur le chromosome est relativement aisée. Mais l'analyse fonctionnelle ne peut s'effectuer que chez des organismes diploïdes. Les bactéries sont haploïdes. Toutefois, grâce au pouvoir qu'ont certains épisomes d'incorporer un segment du chromosome bactérien, il est possible d'obtenir des souches diploïdes partielles stables. C'est ainsi que les déterminants génétiques du système lactose peuvent s'incorporer dans l'épimose sexuel (*F-Lac*). La présence de ce dernier dans une bactérie constitue comme un second chromosome, diploïde pour la région lactose avec le chromosome bactérien. Par recombinaison mitotique entre ces deux structures génétiques, n'importe quel allèle de la région lactose peut être placé sur l'épimose sexuel puis transféré à d'autres bactéries. Les combinaisons d'allèles les plus diverses peuvent ainsi être obtenues et permettent l'analyse fonctionnelle.

Certains mutants de l'épisome *F-Lac* sont capables de se reproduire de façon autonome à 30° mais non à 40°. A cette dernière température ils ne peuvent se reproduire qu'incorporés dans le chromosome bactérien à haute température. Dans les bactéries de type sauvage, cette incorporation s'effectue toujours au même endroit du chromosome, c'est-à-dire dans la région lactose de recombinaison génétique. Lorsque le chromosome est dépourvu de région lactose, par suite de délétion, l'épisome *F-Lac* peut s'incorporer en de nombreux autres points du chromosome bactérien. Ainsi se trouve réalisée toute une série de transpositions du segment lactose. Dans plusieurs souches, le segment lactose se trouve placé près de la région tryptophane, à côté du site où s'intègre le prophage 80. Le phage issu de telles souches peut alors transduire le phage 80, d'où une autre méthode pour obtenir des souches diploïdes pour le segment lactose. Dans toutes les souches où le segment lactose est inséré en un point ou un autre du chromosome bactérien, son fonctionnement reste identique à celui que l'on peut observer dans les bactéries de type sauvage. Ceci est vrai que le segment lactose soit inséré dans un sens ou dans l'autre. Pour que la popularité 3' — 5' des chaînes de DNA soit respectée il faut que, dans le cas d'une inversion, la séquence à transcrire en messager change non

seulement de sens mais aussi de chaîne. Il faut donc conclure de ces expériences que : 1. — toute l'information génétique contenue dans le DNA d'*E. coli* ne correspond pas nécessairement à la transcription d'une même chaîne ; et 2. — des signaux génétiquement déterminés doivent modifier le début, et éventuellement la fin de l'opéron lactose, quelles que soient sa position et son orientation.

Le segment lactose d'*E. coli* détermine la production de trois protéines distinctes : la  $\beta$ -galactosidase, la  $\beta$ -galactoside-perméase et la  $\beta$ -galactoside transacétylase. Les trois gènes gouvernant la structure de ces protéines (respectivement *z*, *y* et *a*) sont adjacents sur le chromosome bactérien. L'expression de ces trois gènes est induite par la présence de  $\beta$ -galactosides dans le milieu de culture.

C'est un autre gène, dit régulateur (*i*), qui confère le caractère inductible des gènes de structure, en déterminant la synthèse d'un produit cytoplasmique, ou répresseur, qui, en l'absence de  $\beta$ -galactoside, bloque la synthèse des trois protéines. On connaît deux types de mutations du gène *i*. L'une (*i*<sup>-</sup>) qui entraîne la synthèse de trois protéines même en l'absence de  $\beta$ -galactoside ; elle correspond à la synthèse d'un répresseur qui a perdu le pouvoir d'inhiber la synthèse protéique. L'autre (*i*<sup>+</sup>) qui ne permet plus la synthèse des trois protéines ; elle correspond à la synthèse d'un répresseur qui n'est plus inactivé par les  $\beta$ -galactosides. Par leurs propriétés de thermosensibilité et de suppressibilité, certaines mutations de *i* apparaissent en tous points semblables aux mutations que l'on sait modifier la structure d'une protéine. Cet argument, joint à la considération que seule une protéine doit pouvoir reconnaître la structure d'un  $\beta$ -galactoside, indique que le répresseur doit être une protéine, ou du moins comprendre un élément protéique. La cinétique de l'induction ou de la dé-induction, ainsi que l'absence de liaison covalente formée par un inducteur non métabolisé, suggèrent que l'induction serait le résultat d'un effet allostérique. C'est la fixation réversible d'un  $\beta$ -galactoside sur le répresseur qui changerait la conformation de ce dernier et par là même inhiberait l'inhibiteur spécifique de la synthèse protéique.

Les trois gènes gouvernant la structure des trois protéines ne se comportent pas indépendamment les uns des autres, mais constituent une unité de fonctionnement et de régulation, unité appelée opéron. Ceci peut se reconnaître aux propriétés qu'ont certaines mutations simples de modifier l'expression des trois gènes de structure.

Certaines de ces mutations, dites polaires, touchent l'un des gènes de structure. Non seulement elles abolissent la synthèse de la protéine active correspondante, mais elles réduisent à des degrés divers, la production des autres protéines formées par les gènes situés au delà, mais non au deçà, de la mutation (en venant de *z* dans l'ordre *z*, *y*, *a*). Ces effets polaires semblent être la conséquence de deux sortes de mutations. Certaines paraissent correspondre aux triplets UAG et UAA, qui représentent un signal « fin de chaîne peptidique » et sont suppressibles respectivement par les supprimeurs « ambre » et « ochre ». Les autres semblent dues à des mutations de type « acridine »

qui, à la suite du gain ou de la perte d'une ou plusieurs bases, décalent la séquence et par conséquent la nature des triplets dans le texte nucléique. Pour expliquer les propriétés de ces mutations, il faut admettre que l'opéron lactose est transcrit en un seul RNA messenger, d'où sont traduites les trois chaînes peptidiques du système. Ceci est confirmé par le travail des biochimistes qui hybrident le RNA messenger avec le DNA de la région lactose. Les ribosomes s'associeraient avec l'extrémité *z* de l'opéron et progresseraient le long du messenger pour traduire successivement la chaîne peptidique constituant la  $\beta$ -galactosidase, puis celle de la perméase, puis celle de la transacétylase. L'étude de ces mutations polaires supprimables doit donc pouvoir fournir des renseignements sur le système assurant la traduction d'un messenger polycistronique en diverses chaînes peptidiques.

L'union des trois gènes de structure en un même opéron peut encore être déduite des propriétés que manifestent les mutations modifiant le site d'action du répresseur, c'est-à-dire l'opérateur. Les mutations opérateur-constitutives (*O<sup>c</sup>*) qui entraînent une production constitutive coordonnée des trois protéines, ne se manifestent en effet qu'en *cis*, c'est-à-dire n'agissent chez les organismes diploïdes pour la région lactose, que sur les gènes de structure localisés sur le même chromosome. Par toutes leurs propriétés, les opérateurs constitutifs semblent être le résultat, non pas de n'importe quel type de mutations, mais uniquement de délétions survenant dans une région située hors du premier gène de structure (*z*) de l'opéron. L'idée que l'opérateur est le seul site d'action du système répressif de régulation est vérifiée par l'étude de remaniements chromosomiques qui assurent la fusion de certains éléments de l'opéron lactose avec un autre opéron. C'est ainsi que, en utilisant des organismes diploïdes pour un segment relativement long du chromosome bactérien, on a pu isoler des délétions se terminant, d'un côté dans le gène *z* et de l'autre dans un cistron appartenant à un opéron qui intervient dans la biosynthèse des purines. Une cinquantaine de gènes ont disparu à la suite de la délétion. Deux gènes *y* et *a*, laissés intacts par la délétion dans l'opéron lactose, sont alors unis aux gènes laissés intacts dans l'opéron purine. La synthèse de perméase et d'acétylase n'est plus inductible par les  $\beta$ -galactosides, ce que l'on attend puisque les deux gènes *i* et *o* sont englobés dans la délétion. Elle est devenue réprimée par l'addition de purine au milieu, comme l'opéron purine. Il faut donc admettre que la délétion a entraîné la formation d'un nouvel opéron formé en partie par l'opéron purine, et en partie par l'opéron lactose, l'opérateur étant celui de l'opéron purine. Un résultat similaire a été obtenu avec des délétions unissant l'opéron lactose avec l'opéron tryptophane. Le caractère inductible ou répressible d'un gène, ainsi que la nature du métabolite servant de signal régulateur, sont donc imposés par la séquence nucléique adjacente, séquence reconnue par un certain type de répresseur. Il faut souligner que l'autre extrémité de l'opéron n'intervient pas dans les phénomènes de régulation, ce que montrent les délétions terminales du gène *a*, qui ne modifient en rien l'expression et l'inductibilité du gène *z*.

Il a été particulièrement difficile de préciser les points où débutent la synthèse du messenger et celle des chaînes peptidiques de l'opéron et de déterminer l'orientation respective de ces synthèses. La réponse n'a pu être déduite qu'après une série d'expériences biochimiques fort délicates. Mais il est maintenant établi sans ambiguïté que la synthèse des deux polymères (extrémité 5'P pour le messenger et NH<sub>2</sub> pour la chaîne peptidique) débute du côté opérateur de l'opéron, les deux synthèses progressant de cette extrémité opérateur vers l'autre extrémité de l'opéron.

L'ensemble de cette analyse montre l'existence d'une boucle régulatrice qui détermine le taux de synthèse des trois protéines de l'opéron lactose. Cette boucle est constituée par le gène régulateur, donc le produit, le répresseur, agit sur l'opérateur avec des  $\beta$ -galactosides venus du milieu, modifie la conformation du répresseur et, par là-même, lève l'inhibition sur l'opérateur permettant ainsi la production des trois protéines. Pour connaître le mécanisme moléculaire de ce système il faut donc savoir : 1. — quelles sont la nature chimique et la structure de l'opérateur, c'est-à-dire à quel niveau du système assurant la synthèse protéique agit le répresseur ? et 2. — quelles sont la nature et la structure chimique du répresseur et comment s'effectuent ses interactions, avec l'opérateur d'une part, avec les métabolites inducteurs d'autre part ?

Il n'existe pas encore d'arguments permettant de répondre directement à la première question. A priori la répression peut s'exercer sur la chaîne peptidique, sur le messenger ou sur le DNA lui-même et différents modèles, qui correspondent à ces diverses éventualités, ont été proposées au cours des dernières années. En fait, ce problème est lié à celui de la ponctuation de transcription, c'est-à-dire à la position des signaux qui sur le DNA doivent déterminer où débute, et éventuellement où finit, la transcription du DNA en RNA messenger par la DNA-RNA polymérase. Suivant que l'opérateur est, ou non, transcrit en RNA et traduit en chaîne peptidique, la répression pourra s'exercer à un niveau ou à un autre.

A cet égard, l'analyse génétique apporte quelques précisions. D'une part, les caractéristiques des mutations *O<sup>c</sup>* paraissent incompatibles avec l'idée que l'opérateur serait traduit en une chaîne peptidique jouant un rôle dans la répression ; ceci ne semble laisser que le DNA messenger comme site d'action du répresseur. D'autre part l'étude de délétions affectant divers segments de l'opérateur ou de la région du gène *z* indiquent l'existence entre l'opérateur et le gène *z*, d'une région, ou promoteur, nécessaire à l'expression des trois gènes de structure. Ce promoteur correspond, soit à une ponctuation de traduction déterminant l'emplacement où les ribosomes commencent la lecture du messenger, soit à une ponctuation de transcription déterminant l'emplacement où la polymérase commence la transcription en messenger. Dans ce dernier cas, qui paraît actuellement le plus probable, l'opérateur ne serait pas transcrit en messenger et la répression ne pourrait donc s'exercer que directement sur le DNA pour empêcher la transcription.

Le répresseur semble être une molécule à deux « têtes », l'une capable de reconnaître spécifiquement l'opérateur de la région lactose et l'autre les

$\beta$ -galactosides. Au cours des dernières années, plusieurs laboratoires ont tenté d'utiliser la première de ces propriétés, la reconnaissance de l'opérateur, pour isoler le répresseur dans des systèmes de synthèse *in vitro*. Ces efforts se sont traduits par des échecs, les systèmes de synthèse *in vitro* étant encore mal définis. Mais récemment, Gilbert et ses collaborateurs à Harvard, ont utilisé avec succès l'autre propriété du répresseur, la reconnaissance spécifique des  $\beta$ -galactosides inducteurs. Pour cela a été isolé un mutant inductible par des concentrations très faibles d'inducteur, concentrations qui sont inactives à l'égard du type sauvage. Chez ce mutant l'affinité du répresseur pour le  $\beta$ -galactosides est accrue d'un facteur d'environ 10. Les extraits de ce mutant ont alors été fractionnés à l'aveugle, et, dans chaque fraction, la présence de molécules possédant une haute affinité pour les inducteurs déterminées par dialyse à l'équilibre. Ainsi a pu être reconnue, et particulièrement purifiée, une protéine de poids moléculaire environ 30 à 40.000, et il existe une excellente corrélation entre la présence de cette protéine dans une série d'extraits et la génétique du gène régulateur *i*. Les résultats préliminaires indiquent l'existence d'un petit nombre de ces sites fixant les  $\beta$ -galactosides par exemplaire du gène *i*, de l'ordre de 40 ou 50, ce qui donnerait, par gène *i*, environ 10 à 25 molécules de répresseur si celui-ci est un dimère ou un tétramère. Il est clair que l'isolement du répresseur intervenant dans la région lactose devrait permettre dans un proche avenir de répondre aux questions soulevées par la régulation de ce système.

#### SÉMINAIRES

Le cours a été complété par une série de séminaires où ont été analysés d'autres systèmes de régulation chez les bactéries.

M. Gérard Buttin a donné une série de trois séminaires portant sur l'induction des systèmes permettant l'utilisation de galactose et de l'arabinose chez *E. coli* et sur la répression du système assurant la biosynthèse de l'histidine chez *S. typhimurium*.

M. Maxime Schwartz a donné un séminaire sur l'induction du système maltose chez *E. coli*.

M. Jean-Claude Patte a donné un séminaire sur la répression du système complexe qui assure la synthèse de la méthionine, de la thréonine et de la lysine chez *E. Coli*.

#### ACTIVITÉ DU LABORATOIRE

Dans le laboratoire, situé à l'Institut Pasteur, se sont poursuivies les recherches sur les mécanismes génétiques et régulateurs de la cellule bactérienne.

*Analyse génétique de la cellule bactérienne.*

Par incorporation d'un facteur *F-Lac* thermosensible dans le chromosome d'une bactérie portant une délétion de la région *Lac*, toute une série de souches *Hfr* nouvelles a été obtenue. Ces *Hfr* sont utilisés pour localiser de nouvelles mutations isolées chez *E. coli* et poursuivre ainsi l'établissement de la carte génétique de cet organisme (François Cuzin, Ethan Signer).

Il y a quelques années, nous avons émis l'hypothèse que, au cours de la conjugaison bactérienne, le transfert chromosomique par le mâle était par un mécanisme de réplication particulier, dû au facteur sexuel. Toute une série de mutants thermosensibles a été isolée chez lesquels la réplication du DNA est bloquée à haute température. Des expériences sont maintenant entreprises à l'aide de mutants, soit mâles, soit femelles, à réplication thermosensible, dans le but de vérifier cette hypothèse et d'analyser le système de réplication qui assure ce transfert de matériel génétique (François Cuzin).

Un grand nombre de mutants thermosensibles (capables de se reproduire à 30°, mais non à 40°) est en cours d'isolement et de caractérisation (Yukinori Hirota, Jean-Claude Patte). Des mutations très diverses ont déjà été obtenues qui affectent la synthèse de telle ou telle macromolécule. Nous nous proposons de poursuivre l'étude génétique et biochimique de ces mutations.

*Mécanismes gouvernant la régulation des synthèses protéiques.*

Jusqu'alors l'analyse génétique des gènes *i* et *o* gouvernant la bouche d'induction du système de *E. coli* n'avait pu être entreprise faute de pouvoir sélectionner de rares clones de type sauvage dans des populations inductibles, soit *o<sup>c</sup>*, soit *i<sup>-</sup>*. Grâce à une méthode nouvelle mettant en jeu une sélection à l'aide de mutants de la galactose-épimérase, il est maintenant possible d'étudier la réversion des mutations *i<sup>-</sup>* ou *o<sup>c</sup>* ainsi que leur recombinaison. Les résultats préliminaires indiquent que les mutations *o<sup>c</sup>* ne réversent pas vers *o<sup>+</sup>* (ce qui confirme qu'il s'agit bien de délétions), tandis que nombre de mutants *i<sup>-</sup>* réversent vers *i<sup>+</sup>*. L'étude de la recombinaison entre ces divers mutants a été entreprise (Julian Davies).

Une nouvelle méthode de purification de la DNA-RNA polymérase a été récemment mise au point (Charles Babinet). Des quantités importantes d'enzyme purifié ont pu ainsi être préparées. Il devient ainsi possible de mettre en route une étude des propriétés physico-chimiques de l'enzyme.

L'étude génétique et biochimique de la biosynthèse de la proline a été entreprise (Hubert Condamine). Une série de mutants exigeant la proline pour leur croissance a été isolée. Ces mutants semblent appartenir à trois catégories, correspondant selon toute vraisemblance, à la modification de trois chaînes peptidiques. Les débuts de l'analyse génétique indiquent l'existence de trois gènes sur le chromosome dont deux sont liés entre eux mais pas le troisième. Une série de mutants excréant de la proline (mutants chez lesquels la régulation de la biosynthèse de la proline est donc perturbée) a été obtenue et leur

étude entreprise. Enfin l'étude génétique des systèmes enzymatiques permettant l'utilisation du maltose par *E. coli* et déterminant la régulation de leur biosynthèse a été poursuivie (Maxime Schwartz et Maurice Hoffnung).

*Mécanismes gouvernant la synthèse d'ADN et coordonnant sa régulation avec la division cellulaire.*

On ne sait pratiquement rien des mécanismes qui assurent *in vivo* la synthèse du DNA. Les efforts faits pour rompre la barrière de perméabilité bactérienne aussi doucement que possible et mesurer l'incorporation des déoxytriphosphates, au cours de la réplication, soit du chromosome bactérien, soit du phage se sont jusqu'à présent soldés par des échecs. Ceci suggère que, conformément au modèle récemment proposé, les synthèses de DNA soient assurées par des structures situées dans la membrane et que celle-ci se comporte comme une seule unité de fonction, toute lésion apportée en un point à la membrane déterminant des changements de structure dans l'ensemble et par conséquent une perturbation dans son fonctionnement intégral.

Toutefois, il semble possible d'obtenir certains renseignements sur la réplication du chromosome et notamment sur l'origine et la direction de cette réplication. C'est ce que visent à préciser certaines expériences en cours, dans lesquelles les extrémités proximales ou terminales de chromosomes présents dans divers souches, mâles ou femelles, sont repérées par des marqueurs, de densité ou radioactifs, puis comparées par hybridation (Alexandre Fritsch).

L'étude de certaines nucléases d'*E. coli* a été entreprise. Une méthode a été mise au point qui permet d'isoler des mutants ayant perdu certaines activités DNAasique ou RNAasique. Une série de mutants a pu ainsi être obtenus et leur caractérisation biochimique et génétique est maintenant en cours (Gérard Buttin et Michel Wright). Cette analyse devrait permettre notamment de préciser certains des mécanismes qui entrent en jeu au cours de la recombinaison génétique et de la réparation du matériel génétique modifié par certaines lésions.

Toute une série de mutants « conditionnels » a été isolée, qui croissent et se comportent comme le type sauvage à 30° mais sont incapables de former une colonie à 40° (Yukinori Hirota et Jean-Claude Patte). Chez plusieurs d'entre eux, la division est perturbée à 40°. Ces derniers peuvent être classés en deux groupes. Les uns continuent à synthétiser du DNA à haute température, ce qui conduit à la formation de longs filaments ayant un grand nombre de noyaux espacés. Chez les autres, la synthèse d'ADN s'arrête, soit dès l'élévation de température, soit à la fin du cycle de réplication en cours, le cycle suivant ne pouvant débiter. Chez les mutants où la synthèse de DNA est bloquée, soit immédiatement, soit à la fin du cycle en cours, la formation de septum et la division cellulaire sont également bloquées, ce qui entraîne toujours la formation de longs filaments. Toutefois, on peut isoler des mutants secondaires chez lesquels, même en l'absence de synthèse de DNA, la division cellulaire persiste. Au lieu de se former entre deux noyaux, le septum se forme alors à côté du DNA de sorte que parmi les deux bactéries-filles ainsi

formées, l'une reçoit tout le DNA de la mère et l'autre n'en reçoit pas du tout. La population de bactéries non nucléées peut être purifiée par filtration et ses propriétés étudiées. Comme on pouvait l'attendre, les bactéries sans DNA ne synthétisent ni DNA, ni RNA, ni protéines. Les efforts sont faits actuellement pour y réintroduire du DNA spécifique, par infection bactériophagique ou par conjugaison. Il paraît clair maintenant que l'isolement et la caractérisation de nombreux mutants de division devraient permettre de préciser certaines des étapes de la division et d'en analyser les mécanismes de coordination.

En outre, les relations étroites entre DNA et membranes ont conduit à rechercher une méthode permettant de marquer spécifiquement la membrane de la cellule bactérienne afin d'en préciser le mode de croissance (Antoinette Ryter). Les expériences en cours devraient dire si la membrane est synthétisée de manière diffuse ou au contraire en certaines zones bien localisées.

#### *Analyse génétique et physiologique du bactériophage.*

L'étude des mutants défectifs du bactériophage (c'est-à-dire des mutants chez lesquels est lésée l'une des fonctions nécessaires à la production de particules infectieuses) permet d'analyser le programme qui détermine l'ordre dans lequel sont exprimées ces fonctions. L'étude de mutations perturbant des fonctions précoces du phage  $\lambda$  montre que ces fonctions sont groupées en deux unités situées de part et d'autre du gène  $C_1$  qui détermine lui-même la production du répresseur assurant l'immunité du phage  $\lambda$  (Luis Pereira da Silva et Harvey Eisen). Les résultats obtenus jusqu'ici semblent bien indiquer que la répression déterminant l'immunité s'exerce sur chacune de ces deux unités, probablement deux opérons, les fonctions tardives étant mises en œuvre par suite de l'activité de ces fonctions précoces.

En outre, la réplication du DNA de  $\lambda$ , qui semble assurée par un système enzymatique particulier, doit débiter en un point particulier du chromosome. Il doit être possible de déterminer cette origine en étudiant la réplication du phage chez des bactéries lysogènes défectives dont la lésion empêcherait le DNA du phage de quitter le chromosome bactérien après induction. Dans ce but, une série de nouveaux mutants défectifs du phage est en cours d'isolement et de caractérisation (Gérard Buttin).

#### MISSIONS

M. François CUZIN a été invité à présenter un rapport au Symposium sur « Regulation of Nucleic Acid and Protein Biosynthesis » qui s'est tenu en juin 1966 à Lunterer (Hollande) ainsi qu'au Symposium sur « Chromosome Mechanics at the Molecular Level » qui s'est tenu en avril 1967 à Gatlinburg, Tennessee (U.S.A.).

M. Yukinori HIROTA a donné des conférences à Londres en juillet 1966, à Osaka (Japon) en novembre 1966, à Madison (Wisconsin) en décembre 1966, à Genève en mai 1967. Il a été invité à présenter un rapport à la réunion tenue en commun à Paris (mars 1967) par les sociétés françaises et belges de Biochimie.

M. François JACOB a été invité au « Cold Spring Harbor Symposium » sur le code génétique en juin 1966 à Washington (U.S.A.). Il a participé, à Genève, à plusieurs réunions du Comité Exécutif de l'Organisation européenne pour la Biologie Moléculaire. En mai 1967 il a donné à Londres une conférence à la mémoire de Louis Rapkine. Il a également donné une série de conférences à Ann Arbor, Michigan, et à cette occasion a été fait Docteur honoris causa de l'Université de Michigan.

M. Luis PEREIRA da SILVA a donné des conférences à Cambridge (juillet 1966) et à Marseille (en mai 1967). Il a été invité à présenter des rapports au Symposium sur le bactériophage, tenu à Naples en septembre 1966, et à la réunion des Sociétés françaises et belges de Biochimie, à Paris, en mars 1967.

#### PUBLICATIONS

F. JACOB, A. RYTER et F. CUZIN, *On the association between DNA and membrane in bacteria* (Proc. Roy. Soc. B, 1966, t. 164, p. 267-278).

M. KOHIYAMA, D. COUSIN, A. RYTER et F. JACOB, *Mutants thermosensibles d'Escherichia coli K 12. 1. Isolement et caractérisation rapide* (Ann. Inst. Pasteur, 1966, t. 110, p. 465-486).

F. JACOB, *Génétique de la cellule bactérienne* (Conférence Nobel, 11 décembre 1965) (*Les Prix Nobel en 1965*, Imprimerie Royale, P.A. Norstedt et Söner, Stockholm, 1966).

R. L. BALDWIN, P. BARRAND, A. FRITCSH, D. A. GOLDTHWAIT et F. JACOB, *Cohesive sites on the deoxyribonucleic acids from several temperate coliphages* (J. Mol. Biol., 1966, t. 17, p. 343-357).

F. JACOB, *Genetics of the bacterial cell* (Science, 1966, t. 152, p. 1470-1478).

— *Genetik der Bakterienzelle* (Angew. Chem., 1966, t. 78, p. 704-713).

J.R. BECKWITH et E.R. SIGNER, *Transposition of the Lac region of E. coli* (J. Mol. Biol., 1966, t. 19, p. 254-265).

D. COUSIN et J.P. BELAICH, *Sur une mutation thermosensible d'E. coli affectant une fonction énergétique* (C. R. Acad. Sci., 1966, t. 263, p. 886-888).

A. RYTER et F. JACOB, *Etude morphologique de la liaison du noyau à la membrane chez E. coli et chez les protoplastes de B. subtilis* (*Ann. Institut Pasteur*, 1966, t. 110, p. 801-812).

G. BUTTIN et A. KORNBERG, *Enzymatic synthesis of desoxyribonucleic Acid. XXI, Utilization of Desoxyribonucleoside triphosphats by E. coli cells* (*J. Bioch. Chemistry*, 1966, t. 241, p. 5419-5427).

F. CUZIN et F. JACOB, *Inhibition par les acridines du transfert génétique par les souches donatrices d'E. coli K 12* (*Ann. Inst. Pasteur*, 1966, t. III, p. 427-436).

J.R. BECKWITH, E.R. SIGNER et W. EPSTEIN, *Transposition of the Lac region of E. coli* (*Cold Spring Harbor Symp. Quantit. Biol.*, 1966, t. 31, p. 393-401).

J. DAVIES, *Streptomycin and the Genetic Code* (*Cold Spring Harbor Symp. Quantit. Biol.*, 1966, t. 31, p. 665-670).

A. RYTER et F. JACOB, *Ségrégation des noyaux chez Bacillus subtilis au cours de la germination des spores* (*C.R. Acad. Sci.*, 1966, t. 263, p. 1176-1179).

Y. HIROTA et F. JACOB, *Production de bactéries sans DNA* (*C.R. Acad. Sci.*, 1966, t. 263, p. 1619-1621).