

Génétique cellulaire

M. François JACOB, professeur

Le cours de cette année a été consacré à la régulation qui s'exerce sur l'activité des gènes chez les bactéries. On a rappelé tout d'abord le mécanisme de la synthèse des protéines et ses deux étapes, transcription et traduction. Ce sont exclusivement les phénomènes de transcription qui ont été discutés dans cette série de cours. A priori, la régulation peut s'exercer, soit directement sur la DNA-RNA polymérase, soit indirectement, pour l'empêcher d'agir ou, au contraire, favoriser son action au long de certains segments du DNA.

Le facteur σ . Les propriétés générales de la polymérase ont d'abord été décrites. Jusqu'à une époque récente, on savait que, comme *in vivo*, l'enzyme était capable *in vitro* d'effectuer, dans certaines conditions, une transcription asymétrique ne copiant ainsi qu'une seule chaîne du DNA. On ne voyait cependant rien qui puisse indiquer à l'enzyme les « ponctuations de transcription », par quoi doivent débiter et finir les synthèses de messagers. Mais récemment a été isolé un nouveau facteur désigné par la lettre σ et à qui semble être dévolu le rôle de signaler à la polymérase les points de départ de transcription. Il a en effet été observé récemment, aux Universités Harvard et Rutgers, que les propriétés de la polymérase pouvaient dépendre de la manière dont elle avait été préparée. Purifié sur une colonne de phosphocellulose, l'enzyme est encore capable de transcrire le DNA de thymus de veau, mais non celui du phage T4. Par les autres méthodes de purification, au contraire, l'enzyme présente toujours des propriétés identiques quelle que soit la matrice utilisée. Cette différence semble indiquer que la phosphocellulose retire de l'enzyme quelque élément indispensable à la transcription du DNA de T4. On constate, en effet, que l'enzyme peut être réactivé par l'addition d'une autre fraction provenant de la colonne. Le facteur de réactivation σ est une protéine de poids moléculaire 95.000 environ. Sur gel d'acrylamide, l'enzyme peut être dissocié en une série de chaînes protéiques. Une molécule d'enzyme paraît être constituée de deux chaînes α (poids

moléculaire 40.000 chacune), deux chaînes assez semblables β et β' (poids moléculaire respectivement 155.000 et 165.000) et une chaîne σ . Cette dernière forme avec l'enzyme $2 \alpha \beta \beta'$, incapable de transcrire le DNA de T4, des complexes qui ne se dissocient pas dans la plupart des traitements.

On peut distinguer trois étapes dans le fonctionnement de la polymérase : 1) la fixation de l'enzyme sur le DNA, 2) la mise en route de la synthèse, 3) l'élongation des chaînes de RNA. En l'absence de σ , l'enzyme est inactif sur le DNA de T4, mais transcrit les autres DNA. Il peut donc former des liaisons phosphodiesters. Mais ceci ne dit rien sur l'étape dans laquelle intervient σ . Le rôle de ce facteur a pu être précisé grâce à un antibiotique, la rifampicine, qui bloque la transcription en se fixant sur l'enzyme. Selon toute vraisemblance, l'antibiotique agit sur l'étape 2 et empêche la stabilisation du complexe grâce à quoi devient possible la mise en route de la synthèse. On peut alors montrer que σ n'agit pas sur l'étape 3, l'élongation, mais sur l'étape 1, la fixation. On peut en outre montrer que σ ne reste pas attaché à une molécule de DNA, mais qu'il peut quitter celle-ci pour venir se fixer sur une autre. Tout ceci indique que σ sert à reconnaître les débuts de transcription marqués par une ponctuation sur le DNA et qu'il agit de façon catalytique.

Le rôle de facteurs semblables à σ dans certains phénomènes de régulation a pu être démontré chez certains phages et dans la sporulation des *Bacillus*. Dans le cas du phage, on sait que toutes les protéines déterminées par les gènes viraux ne sont pas synthétisées simultanément. On peut distinguer deux séries au moins de gènes dont l'expression est soit tardive, soit précoce. Lorsque du DNA de phages tels que λ ou T7 est offert comme matrice à la polymérase, on constate qu'*in vitro*, seuls les messagers correspondant aux protéines précoces sont produits. Grâce à l'utilisation de la rifampicine, on a pu montrer récemment que, au cours de la phase précoce, les propriétés de la DNA-RNA polymérase sont modifiées. De sorte que l'enzyme isolé après infection est devenu capable de produire, *in vitro*, les messagers tardifs. On ne connaît pas encore dans le détail la nature des transformations qui touchent la polymérase. L'une des hypothèses les plus plausibles est que, parmi ces protéines précoces, est synthétisé un facteur de type σ semblable à celui qui existe chez les bactéries. C'est ce facteur nouveau qui « reconnaîtrait » alors les ponctuations spécifiques du phage et permettrait à la polymérase d'agir sur certaines régions du DNA du phage, inaccessibles à l'enzyme normal. Le même genre de phénomène intervient pour la différenciation qui entraîne la sporulation de certains *Bacillus*. Chez ces organismes, en effet, on sait que durant la sporulation sont formées des protéines qui ne sont pas synthétisées au cours de la croissance végétative. On a isolé récemment un phage qui se multiplie chez les bactéries en voie de croissance, mais non chez celles qui s'appêtent à sporuler. L'analyse de ce phénomène a révélé

que la polymérase isolée pendant la croissance ou pendant la sporulation possède des propriétés différentes. Là encore, il pourrait bien s'agir d'une spécificité différentielle de l'enzyme due à la présence de deux facteurs σ distincts, l'un opérant pendant la croissance, l'autre pendant la sporulation. Il faut souligner l'importance de ces résultats pour l'analyse de la différenciation chez les organismes supérieurs. La transcription et donc la traduction de certains segments du génome pourraient parfaitement reposer sur la présence de facteurs spécifiques du type σ . La synthèse d'un facteur particulier, mais non des autres, ouvrirait alors une certaine voie de différenciation, à l'exclusion des autres.

Du côté génétique, on peut diviser la régulation en négative ou positive selon que le dernier facteur de la chaîne régulatrice, celui qui intervient sur le DNA lui-même, inhibe ou favorise la transcription d'un segment particulier. Trois exemples ont été discutés :

Régulation négative. L'utilisation du lactose chez *E. coli* a été discutée. Dans ce système, un gène régulateur (*i*) produit un répresseur cytoplasmique qui agit sur un segment spécifique ou opérateur (*o*) gouvernant l'expression de trois gènes de structure (*z*, *y*, *a*). Les propriétés des mutations qui altèrent soit *i*, soit *o* ont été décrites en détail. Le répresseur a été isolé, ses propriétés étudiées ainsi que ses interactions avec l'opérateur d'un côté, les inducteurs β -galactosides de l'autre. Récemment a pu être isolé et purifié le fragment de DNA correspondant à l'opéron lactose. Ce travail qui a été réalisé par le groupe dirigé par Beckwith à l'Université Harvard, met à profit les propriétés de deux phages transducteurs. Dans ces deux phages, l'opéron lactose est orienté en directions opposées, comme par une inversion génétique. Les deux chaînes complémentaires du DNA lactose sont donc toutes deux associées avec la même chaîne du DNA viral. En isolant des deux phages la même chaîne « lourde » par exemple, et en les hybridant, seule la région lactose se trouve appariée. On peut alors soumettre le DNA non apparié du phage à l'action d'une nucléase qui digère le DNA à une seule chaîne. Seul le DNA à deux chaînes, c'est-à-dire celui formé par la région lactose, reste intact. Ce fragment de DNA doit permettre de préciser *in vitro* les conditions de la régulation, et notamment les interactions entre répresseur et polymérase.

Régulation positive. L'utilisation de l'arabinose par *E. coli* a été décrite par Englebert et son groupe à l'Université de Californie. Cette utilisation met en jeu trois enzymes dont la synthèse est induite par l'arabinose. Ce système est déterminé par un petit segment du chromosome d'*E. coli* situé entre les segments *Thr* et *Leu*. Il comprend trois gènes de structure (*D*, *A*, *B*) et un gène régulateur (*C*). Dans ce système, la régulation paraît être positive, comme le montrent les délétions qui atteignent le gène *C*. Aucun des enzymes déterminés par *D*, *A* ou *B* n'est alors synthétisé. La synthèse est

normalement rétablie chez les diploïdes possédant un allèle C^+ en position *trans*. Le produit du gène C peut être modifié par deux types de mutations : C^- qui abolissent la synthèse des trois enzymes, C^c qui la rendent constitutive. Les mutations ne semblent pas être dans deux régions séparées du gène C , mais sont entremêlées le long du gène. En outre, elles présentent des propriétés inattendues chez les diploïdes hétérozygotes pour C . Les diploïdes C^+/C^- font les enzymes et sont inductibles par l'arabinose. Ceux de structure C^-/C^c font les enzymes constitutivement. Dans la structure C^+/C^c , la synthèse est, non pas constitutive, mais inductible.

Ces résultats sont interprétés de la manière suivante. En l'absence d'arabinose, le produit de C serait synthétisé et agirait comme répresseur de l'opéron DAB . En présence d'arabinose, ce répresseur serait converti en activateur sans lequel le messenger de l'opéron DAB ne peut être formé. Les propriétés de certaines délétions qui viennent mordre sur l'extrémité B de l'opéron semblent renforcer ces conclusions.

Régulation complexe : le programme du phage λ . Après infection d'une bactérie, le DNA du phage peut, soit se multiplier à l'état végétatif, soit s'insérer dans la continuité du chromosome bactérien en un site précis. Pendant la multiplication végétative, les protéines précoces sont d'abord synthétisées. Elles permettent la réplication du DNA viral. Alors seulement sont produites les protéines tardives et notamment les éléments constituant la particule infectieuse. Deux gènes du phage, N et Q , interviennent dans la régulation de ce programme.

N . Après infection par des phages portant une mutation N^- , aucune production de protéine, précoce ou tardive, ne peut être mise en évidence. Le DNA du phage n'est pas synthétisé. Tout ce qu'on peut déceler, c'est la synthèse de deux messagers, formés de part et d'autre du gène régulateur CI . Il s'agit d'une régulation positive, car, en infection mixte par deux phages, N^- et N^+ , le DNA portant la mutation N^- fonctionne normalement. Toute une série d'arguments indiquent que le produit de N agit en permettant à la polymérase de poursuivre les transcriptions amorcées de part et d'autre de CI .

Q . Après infection par un phage portant une mutation Q^- , les protéines précoces sont formées, le DNA du phage synthétisé, mais non les protéines tardives. Là encore, il s'agit d'une régulation positive, car, en infection mixte avec deux phages Q^+ et Q^- , le génome portant la mutation Q^- fonctionne normalement. Le produit de Q semble agir comme un facteur σ permettant la transcription du segment du DNA gouvernant la production des protéines tardives, ainsi que l'ont montré S. Naono et F. Gros. Le produit du gène Q semble être formé avec les protéines précoces. L'expression du gène Q dépend

de l'expression préalable du gène *N*. On peut donc se représenter le programme de la reproduction végétative du phage comme le résultat de deux mécanismes positifs agissant en cascade.

Chez les bactéries lysogènes est superposé un système de répression bloquant tout le programme de multiplication végétative. Le gène *CI* gouverne la formation d'un répresseur qui agit de part et d'autre de *CI*, sur deux opérateurs régissant chacun la synthèse d'un messenger précoce. Quand le répresseur est synthétisé, la synthèse des deux messagers est inhibée. Quand le répresseur est inactivé, la synthèse des deux messagers s'effectue. L'un de ces deux messagers correspond au gène *N*. Tout le programme du phage est ainsi mis en route. Le répresseur du phage λ a été purifié, ses propriétés analysées, ainsi que ses interactions avec les deux opérateurs.

Contrairement à ce qu'on croyait jusqu'alors, la synthèse de ce répresseur n'est pas constitutive. D'après une série d'observations faites récemment à l'Institut Pasteur, elle dépend de la synthèse d'une autre protéine, une sorte d'antirépresseur, déterminée par un gène (*CRO*) dont l'expression est elle-même inhibée par le répresseur. Les deux RNA messagers, celui de *CI* et celui de *CRO*, commencent au même point du DNA du phage, mais se font en directions opposées, chacune sur l'une des chaînes du DNA. Tout se passe comme si, par la structure même de la région, les synthèses de ces deux messagers étaient mutuellement exclusives. La synthèse de l'un détermine la production d'une protéine (ou *CI* ou *CRO*) qui stabilise le système en l'état correspondant.

On peut donc se représenter de la manière suivante le système qui, dans le prophage, permet ou non l'exécution du programme menant à la production de virus. Par sa structure, le système peut exister sous deux états : répression ou exécution du programme. Chacun des deux états peut être « verrouillé » par une protéine dont la synthèse n'est effectuée que dans l'état correspondant. Un tel système permet donc de rendre irréversible un choix entre deux solutions possibles. Il est inutile de souligner l'intérêt que présente ce mécanisme alternatif pour les phénomènes de différenciation.

SÉMINAIRES

Le cours a été complété par une série de séminaires consacrés à certains aspects de la régulation qui s'exerce sur la transcription des gènes.

M. C. BABINET, attaché de recherche au C.N.R.S., a donné deux séminaires sur la structure, les propriétés et l'analyse génétique de la DNA-RNA polymérase.

M. H. CONDAMINE, chargé de recherche au C.N.R.S., a donné deux séminaires sur les systèmes de répression qui fonctionnent dans la biosynthèse de l'arginine et dans celle du tryptophane chez *E. coli*.

M. G. BUTTIN, sous-directeur de laboratoire au Collège de France, a donné deux séminaires consacrés, l'un à l'analyse des RNA messagers pendant la multiplication du phage lambda, l'autre aux modifications qu'entraîne la présence d'un épisode sur la régulation d'un opéron bactérien.

M. M. HOFNUNG, attaché de recherche au C.N.R.S., a discuté dans un séminaire les mécanismes de régulation qui interviennent dans l'utilisation du maltose par *E. coli*.

M. F. CUZIN, chargé de recherche au C.N.R.S., a analysé, au cours de deux séminaires, quelques exemples de régulation dans des cellules d'organismes supérieurs.

ACTIVITÉS DU LABORATOIRE

Les recherches sur les mécanismes génétiques et la régulation des synthèses de macromolécules dans la cellule bactérienne se sont poursuivies dans le laboratoire situé à l'Institut Pasteur.

Mécanismes gouvernant la synthèse du DNA et coordonnant la division cellulaire

L'analyse s'est concentrée sur un groupe de mutants thermosensibles d'*E. coli*. Ces mutants se multiplient normalement à haute température. Lorsque les cultures sont portées à 40°, la synthèse de DNA se poursuit à taux décroissant pendant une cinquantaine de minutes, puis s'arrête. Les synthèses de RNA et de protéine au contraire se poursuivent pendant plusieurs heures, ce qui entraîne la formation de longs filaments. Les propriétés de ces mutants ont été étudiées en détail. Tout indique qu'à haute température, les bactéries sont capables de terminer un cycle de synthèse de DNA déjà commencé mais non d'en amorcer un nouveau. Quand des bactéries maintenues à 40° jusqu'à l'arrêt de la synthèse de DNA sont replacées à 30°, cette synthèse reprend, mais seulement si les bactéries sont en mesure de synthétiser des protéines. En outre, par marquage différentiel avec des atomes lourds, on peut montrer que la synthèse du DNA redémarre toujours dans la même région du chromosome bactérien. Tout se passe comme si la mutation entraînait, à haute température, la synthèse défectueuse d'une protéine spécifiquement exigée pour mettre en route un cycle de reproduction du chromosome. Les membranes de ces mutants ont été étudiées en détail. Après croissance

des bactéries à diverses températures en présence d'un acide aminé marqué au tritium ou au carbone 14, les membranes ont été purifiées et désorganisées par du dodécylsulfate de sodium. Les éléments protéiques de la membrane ont été ensuite séparés par électrophorèse, la radioactivité contenue dans chaque composant mesurée. Chez les mutants cultivés à haute température, on ne trouve pas l'un des composants présents chez le type sauvage dans toutes les conditions ou chez le mutant cultivé à basse température. Chez ces mutants semble donc exister une corrélation entre la structure de la membrane et la capacité à mettre en route un cycle de synthèse de DNA.

Dans un autre groupe de mutants, a été observé un autre type de lésions. A haute température, les bactéries présentent des lésions morphologiques accentuées. D'une part, le DNA ne se présente pas sous forme d'une masse compacte comme à l'habitude. Il est au contraire diffus dans toute la cellule. D'autre part, on note une accumulation de structures semblables à des fragments de membrane. Chez ce mutant, la structure et les propriétés de la membrane cellulaire paraissent modifiées. A haute température, la perméabilité à de petites molécules comme les β -galactosides est fortement accrue. De plus, l'électrophorèse des constituants protéiques de la membrane révèle, chez les bactéries qui se sont multipliées à haute température, des différences importantes dans la disposition de certaines bandes. Conformément à ce que laissait prévoir l'hypothèse formulée il y a quelques années, il semble bien que la membrane bactérienne joue un rôle important dans la synthèse du DNA et dans la coordination de cette synthèse dans les processus de la croissance et de la division cellulaire.

De nouvelles techniques de sélection ont été mises au point pour permettre d'isoler des mutants chez lesquels sont détériorés soit les processus de la division cellulaire, soit les propriétés de la membrane. Une série de nouveaux mutants a ainsi été obtenue. Ces mutants sont en cours d'étude génétique et biochimique.

L'année dernière a été mise en évidence une activité désoxyribonucléasique d'un type nouveau. Son intérêt réside dans le fait que cet enzyme catalyse une réaction importante de la recombinaison génétique. L'enzyme a été purifié. Les principales caractéristiques *in vitro* sont les suivantes : l'enzyme agit comme exonucléase sur le DNA en présence d'ions magnésium ; le RNA n'est pas substrat ; le DNA natif n'est un substrat de la réaction qu'en présence d'adénosine-triphosphate ; le DNA dénaturé est un substrat aussi bien en absence qu'en présence d'ATP mais l'ATP a un rôle activateur. L'étude de cette réaction se poursuit dans le but notamment de préciser la nature des produits de dégradation du DNA, le sens de cette dégradation, le rôle de l'adénosine-triphosphate dans la réaction.

Analyse du programme de régulation chez le bactériophage

Chez le phage lambda, le répresseur produit par le gène *CI* bloque l'expression de deux opérons situés de part et d'autre de *CI*. Ces deux opérons régissent les fonctions précoces du phage. C'est par leur fonctionnement que débute la mise à exécution du programme conduisant à la production de particules virales. L'un de ces opérons, situé à gauche de *CI*, contient le règne *N* ; l'autre, situé à droite, contient le segment *XCIOP*. Le règne *CI* n'est pas exprimé quand fonctionne l'opéron *XCIOP*. Tout se passe comme si les deux transcriptions ne pouvaient s'effectuer simultanément. Les deux opérons, qui paraissent se chevaucher sur leur origine, sont transcrits en directions opposées, donc sur les chaînes opposées du DNA. Le fait que la transcription de ces opérons soit mutuellement exclusive avait été mise sur le compte d'une structure particulière du DNA dans la zone du chevauchement. L'analyse de certains mutants est venue récemment compliquer encore cette situation. Ces mutants sont localisés dans l'opéron *XCIOP*, dans la région spécifique d'immunité, à l'extrémité droite du segment *X*. Leurs propriétés révèlent l'existence d'un gène *CRO*, qui a pour fonction de produire une protéine venant bloquer l'expression du gène *CI*. Mais, l'activité du produit *CRO* ne suffit pas à expliquer l'ensemble des propriétés trouvées aux bactéries lysogènes. Il faut conserver aussi l'hypothèse d'une particularité de structure dans la région où commencent les transcriptions des deux opérons. Pour l'instant, la régulation qui permet, ou au contraire interdit, l'exécution du programme de synthèse régi par le DNA du phage peut être résumée de la façon suivante. Par suite de la structure du DNA, il y a exclusion mutuelle de la transcription des deux opérons *CI* et *XCIOP*. En outre, quand l'un des deux opérons est transcrit, l'état ainsi réalisé est stabilisé par le fait que cet opéron produit une protéine qui réprime l'expression de l'autre. Ce système fournit donc un exemple frappant d'un choix entre deux états stables possibles.

Des techniques de sélection sont mises au point pour obtenir des mutants du phage où serait modifiée la région du « réplicateur », c'est-à-dire du segment où doit débiter la synthèse du DNA. Certains mutants ont été ainsi obtenus. Leurs propriétés sont en cours d'étude.

Régulation de la synthèse des protéines

Une situation nouvelle s'est présentée dans la régulation de la biosynthèse de la proline chez *E. coli*. D'une part, et contrairement à toutes les autres chaînes de synthèse connues, le produit final ne paraît réprimer la synthèse d'aucun des trois enzymes en cause. D'autre part, certaines mutations ont été isolées qui entraînent la disparition simultanée des trois activités enzymatiques, quelle que soit la position des gènes correspondants sur le chromo-

some. Tout se passe comme si les activités ne se manifestaient que si les chaînes protéiques sont associées en un complexe. Ce modèle prédit des phénomènes de complémentation d'un type particulier dont plusieurs ont déjà été observés.

Dans l'analyse du système maltose chez *E. coli*, l'analyse fonctionnelle est devenue possible grâce à l'isolement d'épisomes, F ou phage 80, portant soit la région *MalA*, soit la région *MalB*. Les expériences de complémentation dans la région *MalA* ont permis de préciser le rôle du gène *T*, qui semble intervenir dans la régulation du système. Le gène *T* est extérieur à l'opéron contenant les gènes de structure *P* et *Q*. Son produit est une protéine qui semble être produite en quantité juste suffisante pour permettre l'expression de l'opéron *PQ* à taux maximum. En présence de maltose, ou de maltotriose, le produit du gène *T* permet le fonctionnement de l'opéron à condition que celui-ci soit intact à l'extrémité voisine de *T*. Quant à la région *MalB*, elle ne contient qu'un seul cistron impliqué dans la synthèse des récepteurs du phage λ , mais peut-être deux intervenant dans le métabolisme du maltose. De nouveaux mutants ont été isolés qui rendent constitutifs en *cis* la région *MalB* adjacente.

L'analyse génétique et biochimique de la DNA-RNA polymérase a été concentrée sur deux mutants. L'étude de ceux-ci et de leurs réversions a permis de caractériser trois mutations différentes. Deux, thermosensibles, situées l'une près du gène *ProA*, l'autre près du gène *glyA* ; la dernière n'est pas encore localisée. Une autre mutation, caractérisée par la résistance à l'antibiotique rifampicine avait déjà été isolée précédemment. L'enzyme extrait de ce mutant présente des propriétés particulières *in vitro*. L'étude des relations fonctionnelles entre divers sites du chromosome est en cours.

Etude d'un organisme multicellulaire

Toute une série de mutants de nématode a été isolée. En bref, la technique utilisée consiste à traiter une population de nématodes adultes par un agent mutagène, l'éthyl-méthane-sulfonate et à isoler une par une des femelles prêtes à éjecter leurs œufs. Ces femelles se reproduisent par autohermaphroditisme. La mutation induite étant généralement récessive, se manifeste à la deuxième génération. On isole alors tous les animaux dont la morphologie externe ou le comportement paraissent anormaux. Les femelles sont croisées avec des mâles porteurs d'une autre mutation, et on isole en F2 les double mutants. Les croisements avec le type sauvage permettent de préciser si les deux caractères sont liés ou non. De toute façon, on a isolé une cinquantaine de mutants, la moitié environ des mutations étant liées au chromosome X, l'autre moitié étant répartie sur les autosomes (10 autosomes + XX chez la femelle et XO chez le mâle). Tous ces caractères ségrègent de façon mendélienne.

La plupart des anomalies provoquées par ces mutations apparaissent tard dans le développement (après la quatrième ou cinquième et dernière mue). Chez de rares mutants, l'anomalie liée à la mutation apparaît de façon très précoce, dès les premiers stades du développement. Les principaux types de mutants que nous avons obtenus sont les suivants :

— *nains*. C'est le caractère le plus fréquent. Jusqu'ici 5 cistrons, dont 3 liés au sexe, déterminent ce caractère.

— *paralysés*. Certains se déplacent difficilement. D'autres sont complètement immobilisés et donnent naissance à des paquets d'œufs et de nouveaux-nés, formant ainsi des « colonies » issues d'un seul individu. Ces organismes pourraient s'avérer précieux dans la recherche de mutants thermosensibles car la méthode des « répliques » couramment utilisée avec les bactéries pourrait leur être appliquée.

— *rotatifs*. Ces animaux ont un mouvement de reptation anormal et se déplacent en tournant sur eux-mêmes. Certains sont dextrogyres, d'autres lévogyres, d'autres encore mixtes.

— *tremblants*. On en trouve deux types : tremblements intentionnels et tremblements en position de repos.

— *mutants de mue*. Chez le type sauvage, la cinquième mue conduit à l'état adulte. Chez certains mutants, la dernière peau de mue reste accrochée à la cuticule néoformée, formant ainsi une longue traîne.

— *mutants de cuticule*. Ils ont de grosses inclusions transparentes, enfermées sous la cuticule. Au moindre choc exercé sur la cuticule, ces poches se vident de leur contenu.

— *de la tête*. Ils ont la tête plus effilée que le sauvage, ou tordue. Les petits naissent monstrueux. Des observations au microscope électronique montrent chez ces mutants une atrophie des cellules nerveuses et musculaires au niveau de la région lésée.

L'analyse génétique de ces petits nématodes apparaît donc chargée de promesses. Malheureusement, il n'en est pas de même pour l'étude physiologique et embryologique. La forme de ces animaux ne se maintient en effet que grâce à la présence de liquide sous pression dans le corps : l'introduction d'une aiguille les fait littéralement exploser. Ils semblent peu perméables à l'addition de substances diverses dans le milieu de culture. Enfin, les œufs sont enfermés dans une triple couche imperméable à l'acide sulfurique ou à la soude 10M et qui ne se laisse digérer par aucun des mélanges d'enzymes essayés. Pour ces raisons, l'étude des nématodes a été abandonnée.

Cellules et virus de mammifères

L'étude de cellules en culture a été entreprise. Elle s'est limitée pour l'instant à une souche de neuroblastome isolée d'une lignée de souris. Ces cellules sont capables de se multiplier relativement rapidement dans certains milieux. Elles ont alors la forme de petites sphères. Dans certaines conditions, ces mêmes cellules s'attachent sur le fond des boîtes, cessent de se multiplier, en émettant de longues fibrilles et prennent alors l'aspect de neurones. L'étude comparative de ces deux types morphologiques a été entreprise, ainsi que celle des mécanismes entraînant cette différenciation.

L'étude du virus du polyome a également été entreprise. Elle est actuellement centrée sur l'analyse d'une endonucléase spécifique, mise en évidence chez un mutant thermosensible du virus. Contrairement aux endonucléases cellulaires, l'enzyme viral n'est pas inhibé par la présence d'un excès de RNA. Son activité semble au contraire accrue par le RNA. La purification de l'enzyme est en cours.

PUBLICATIONS

A. RYTER, Y. HIROTA et F. JACOB, *DNA membrane complex and nuclear segregation in bacteria* (*Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1968, t. 33, p. 669-675).

Y. HIROTA, A. RYTER et F. JACOB, *Thermosensitive mutants of E. coli affected in the processes of DNA synthesis and cellular division* (*Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1968, t. 33, p. 677-693).

H. EISEN, L. PEREIRA DA SILVA et F. JACOB, *The regulation and mechanism of DNA synthesis in bacteriophage λ* (*Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1968, t. 33, p. 755-763).

G. BUTTIN et M. WRIGHT, *Enzymatic degradation in E. coli : its relationship to synthetic processes at the chromosome level* (*Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1968, t. 33, p. 259-269).

Y. HIROTA, S. WAKIL, B. SHAPIRO, A. RYTER, J. HURWITZ et F. JACOB, *Sur un mutant thermosensible d'E. coli présentant des anomalies de la membrane* (*C.R. Acad. Sci.*, 1969, t. 269, p. 1346-1348).

H. EISEN, *Genetic regulation of early functions in bacteriophage λ* (*In « Bacterial episomes and plasmids », Ciba Foundation J. et A. Churchill, ed., 1969, p. 52-61*).

L. HIRSCHBEIN, J.M. DUBERT et C. BABINET, *Structural and enzymatic properties of the E. coli RNA polymerase subunits* (FEBS Letters, 1969, t. 3, p. 260-269).

M. RICARD et Y. HIROTA, *Effets des sels sur le processus de division cellulaire d'E. coli* (C.R. Acad. Sci., 1969, t. 268, p. 1335-1338).

M. WRIGHT et G. BUTTIN, *Les mécanismes de dégradation enzymatique du chromosome bactérien et leur régulation* (Bull. Soc. Chim. Biol., 1969, t. 51, p. 1373-1383).

D. COUSIN et G. BUTTIN, *Mutants thermosensibles d'E. coli K12. III. Une mutation létale d'E. coli affectant l'activité de l'adénylate-kinase* (Ann. Inst. Pasteur, 1969, t. 117, p. 612-630).

C. FREHEL et A. RYTER, *Réversibilité de la sporulation chez B. subtilis* (Ann. Inst. Pasteur, 1969, t. 117, p. 297-311).

A. RYTER, *Structure and functions of mesosomes of gram positive bacteria* (In « Current topics in microbiology and immunology », 1969, t. 49, p. 151-177).

J.P. AUBERT, A. RYTER et P. SCHAEFFER, *Fate of spore deoxyribonucleic acid during a new spore cycle in B. subtilis* (In « American Society for Microbiology », 1969, p. 148-158).

A. RYTER et J.P. AUBERT, *Etude autoradiographique de la synthèse de l'ADN au cours de la sporulation de B. subtilis* (Ann. Inst. Pasteur, 1969, t. 117, p. 601-611).

J.P. CHANGEUX, A. RYTER, W. LEUZINGER, P. BARRAND and T. PODLESKI, *On the association of tyrocidine with acetylcholinesterase* (Proc. Natl. Acad. Sci., 1969, t. 62, p. 986-993).

D. HATFIELD, M. HOFNUNG et M. SCHWARTZ, *Non-sense mutations in the maltose A region of the genetic map of E. coli* (J. Bact., 1969, t. 100, p. 1311-1315).

M. HOFNUNG, *Régulation négative et régulation positive de l'expression de certains gènes bactériens* (Cours d'été des Houches, 1969, Gordon and Breach, éd.).

L. PEREIRA DA SILVA, *Génétique du bactériophage λ* (Cours d'été des Houches, 1969, Gordon and Breach, éd.).