Академия наук СССР
Биохимия
Январь — Апрель 1957 г.
Том 22. Вып. 1—2

591.4
B 839 t
1957
n° 17

J. Brachet

REMARQUES Á PROPOS DES INTERACTIONS BIOCHIMIQUES ENTRE LE NOYAU ET LE CYTOPLASME

UNIVERSITÉ LIBRE · BRUXELLES

REMARQUES A PROPOS DES INTERACTIONS BIOCHIMIQUES ENTRE LE NOYAU ET LE CYTOPLASME

J. BRACHET

Laboratoire de Morphologie animale, Faculté des Sciences de l'Université libre de Bruxelles, Belgique

1. INTRODUCTION

Les nombreuses recherches effectuées sur la composition chimique des constituants cellulaires isolables par la centrifugation fractionnée d'homogénats ont une valeur incontestable au point de vue de la biochimie cellulaire. Leur interprétation demeure toutefois souvent discutable, parce que certains enzymes risquent de s'adsorber ou, au contraire, de se perdre au cours des manipulations. Mais l'objection principale que l'on peut faire à l'endroit de cette technique est la suivante: elle ne peut nous fournir de renseignements valables sur la nature des interactions qui se produisent, dans la cellule intacte et vivante, entre les divers constituants de celle-ci.

C'est afin de combler cette lacune que nous avons entrepris, avec un groupe de collaborateurs, l'étude du rôle biochimique du noyau cellulaire chez deux ogranismes unicellulaires: l'amibe *Amoeba preteus* et l'alque *Acetabularia mediterranea.* Leur taille est, en effet, suffisante pour qu'on puisse les couper en deux fragments, nucléé et anucléé; il est alors aisé de suivre leur métabolisme au moyen de microméthodes. Des recherches, semblables ont été effectuées simultanément dans d'autres laboratoires, qui obéissaient aux mêmes préoccupations que nous: il s'agit surtout de celui de Mazia, qui a travaillé sur l'amibe et de celui de Hämmerling, qui a été le premier à étudier la régénération chez *Acetabularia.*

Il existe un second moyen d'attaquer le même problème: c'est de suivre, par la méthode autoradiographique, la localisation intracellulaire des précurseurs radio-actifs des principaux constituants biochimiques. Cette technique, qui a été largement utilisée dans notre laboratoire par A. Ficq, présente l'avantage d'être applicable à des cellules de taille ordinaire, sans qu'il soit nécessaire de procéder à l'ablation du noyau. La signification biochimique des résultats acquis demeure, par contre, d'une valeur limitée: faute de connaître exactement la radioactivité du précurseur dans la cellule et la concentration, en chaque point de la cellule, de la substance qui a incorporé ce précurseur, le calcul des radioactivités spécifiques ne peut être effectué. Il est d'ailleurs bien possible que la technique autoradiagraphique, qui est essentiellement une méthode cytochimique, soit perfectible; le jour n'est peut-être pas loin où la radioactivité spécifique d'un constituant cellulaire [par exemple, celle de l'acide ribonucléique (*ARN*) du nucléole] pourra être mesurée avec exactitude par cette méthode.

Nous nous proposons, dans le travail qui va suivre, de discuter les connaissances actuelles sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme; l'accent sera mis sur les travaux effectués dans notre propre laboratoire, particulièrement sur les observations les plus récentes.

2. Cas des organismes unicellulaires soumis à la mérotomie

Les seuls organismes unicellulaires qui aient été étudiés au point de vue biochimique sont l'amibe et l'algue *Acetabularia*. Il convient, pour commencer, de dire quelques mots des effets biologiques que l'on observe, après l'enlèvement du noyau, dans ces deux cas. Chez l'amibe, les fragments anucléés se roulent rapidement en boules; ils perdent leur motilité, deviennent incapables de se nourrir et ne tardent pas à diminuer lentement de volume. Ils sont cependant capables de survivre jusqu'à 2 semaines, alors que les fragments nucléés meurent après 3 semaines si on les maintient à jeun.

Au contraire, *Acetabularia* possède, comme l'a montré Hämmerling [21], un exceptionnel pouvoir de survie et de régénération en l'absence du noyau: les tiges anucléées de cette algue peuvent survivre pendant plusieurs mois; elles sont même capables de régénérer un «chapeau», c'est-à-dire un organe qui devrait normalement servir à la reproduction de l'organisme. La régénération ne se fait que si l'algue est exposée à la lumière: c'est donc la photosynthèse qui fournit l'énergie nécessaire à la régénération (Beth, Brachet et collab.).

Nous pouvons passer maintenant aux aspects biochimiques du problème; nous examinerons successivement les points suivants: la consommation d'oxygène, le métabolisme général, le métabolisme du phosphore et des coenzymes nucléotidiques, le métabolisme des protéines et celui de l'*ARN*.

a) Consommation d'oxygène. Nos expériences ont montré clairement que, tant chez l'amibe (Brachet, [7]) que l'*Acetabularia* (Brachet et collab.), l'ablation du noyau n'exerce aucun effet appréciable sur la consommation d'oxygène jusqu'au moment où des altérations précytolytiques commencent à se manifester. Il faut en conclure que la vieille hypothèse de Loeb, qui voyait dans le noyau le centre des oxydations cellulaires, doit être définitivement écartée; en outre, le fait que la respiration des fragments anucléés demeure normale pendant longtemps indique que le noyau n'exerce pas de contrôle étroit sur l'activité des enzymes respiratoires; nous savons que les principaux de ceux-ci sont localisés dans les mitochondries.

Les observations qui ont été faites sur les fragments d'organismes cellulaires concordent donc bien avec celles qui ont été effectuées sur des homogénats: dans les deux cas, on arrive à l'idée que le métabolisme du noyau est essentiellement anaérobique. Il est vraisemblable que le noyau, loin de contrôler la production d'énergie dans le cytoplasme, dépend de ce dernier à cet égard: en effet, la suppression de la production d'énergie dans le cytoplasme, que ce soit par l'obscurité [45] ou par l'addition de dinitrophénol (Brachet et collab.), conduit, chez *Acetabularia*, à une diminution de volume et à un changement de forme du nucléole; en outre, sa teneur en *ARN* s'abaisse, si on en juge par les réactions cytochimiques, chaque fois que la production d'énergie diminue dans le cytoplasme.

b) Métabolisme général. C'est seulement chez l'amibe que les effets de l'énucléation sur les métabolismes glucidique, lipidique et protéique ont été étudiés. Voici les principaux résultats obtenus [7]: l'utilisation des réserves (glycérides et glycogène) cesse, au bout de peu de jours, dans les fragments anucléés; elle se poursuit au contraire, pendant beaucoup plus longtemps dans les moitiés nucléées. Par contre, la teneur en protéines s'abaisse beaucoup plus fortement, en une dizaine de jours, dans les fragments anucléés (perte de 50%) que dans les autres (perte de 15%).

Il faut en conclure que l'ablation du noyau entraîne, chez l'amibe, des changements qualitatifs importants du métabolisme: l'arrêt de l'utilisation des réserves a comme corollaire une véritable «autophagie». Ces modifications ne sont cependant pas immédiates, puisqu'elles ne se manifestent qu'après une période de latence de 3 jours environ.

c) Métabolisme du phosphore et des co-enzymes. On doit à Mazia et Hirshfield une observation intéressante, qui a été confirmée dans notre laboratoire [7]: c'est que la pénétration du phosphate radio-actif diminue très considérablement et très rapidement dans les fragments anucléés d'amibes. Déjà 3 heures après la section des amibes en deux fragments, cette pénétration est 2 à 3 fais plus faible dans les moitiés anucléées que dans les autres.

Ces observations ont, malheureusement, perdu une partie de leur intérêt depuis qu'on a constaté qu'elles ne sont pas généralisables aux *Acetabularias:* on n'observe, en effet, pas de différences entre les deux types de fragments, quand ils ont été séparés depuis moins de 4 semaines [22]. Toutefois, dans des expériences de plus longue durée (3 mois), les fragments anucléés incorporent moins rapidement le P^{32} que les autres, surtout lorsqu'il s'agit d'algues jeunes (Brachet et collab.). On n'a donc pas le droit de conclure que le noyau contrôle toujours la pénétration du phosphate à l'intérieur de la cellule.

Les observations de Mazia et Hirshfield ont cependant eu une conséquence heureuse en conduisant à de nouvelles hypothèses: l'inhibition de la pénétration du P^{32}, malgré le maintien du taux normal des oxydations dans les fragments anucléés, pourrait signifier que les phosphorylations ne sont plus couplées aux oxydations dans ces fragments. En d'autres termes, le noyau pourrait intervenir dans le couplage des oxydations et des phosphorylations, en produisant les co-enzymes nécessaires par exemple [6].

Sous cette forme, l'hypothèse n'est certainement pas exacte: en effet, nous n'avons pas trouvé la diminution de la teneur en acide adénosinetriphosphorique (*ATP*) des fragments anucléés que l'hypothèse laissait prévoir. Mais, si on place ces fragments anucléés en anaérobiose, on assiste à un effondrement beaucoup plus rapide de leur teneur en *ATP* que dans les moitiés nucléées [7]. Comme c'est la glycolyse qui produit principalement de l'*ATP* en anaérobiose, il est vraisemblable que les mécanismes glycolytiques sont déficients dans le cytoplasme anucléé. Une telle conclusion cadre bien avec ce qui a été dit plus haut au sujet de l'utilisation du glycogène dans les fragments d'amibes.

Les faits observés peuvent être expliqués de diverses manières. L'une des explications les plus plausibles est la suivante: c'est le noyau qui produirait la co-déshydrogénase 1 (DPN), nécessaire à la glycolyse. Une diminution de la teneur en *DPN* ne ferait pas nécessairement baisser le taux des oxydations cellulaires dans les fragments anucléés: il est concevable, en effet, que le *DPN* lié aux mitochondries soit mieux protégé contre les enzymes hydrolytiques que le *DPN* libre; or, c'est ce dernier qui est important pour la bonne marche de la glycolyse.

L'hypothèse qui vient d'être présentée est appuyée par un certain nombre de faits expérimentaux: c'est ainsi que Hogeboom et Schneider ont montré que, dans le foie, la synthèse du *DPN* à partir d'*ATP* et du nucléotide de la nicotinamide se fait entièrement dans les noyaux. L'enzyme qui réalise cette synthèse est très abondant dans les nucléoles des oocytes d'étoiles de mer, selon notre collaboratrice E. Baltus [3].

Il serait, naturellement, important de savoir si la teneur en *DPN* décroît plus rapidement dans les fragments anucléés d'amibes que dans les autres: les résultats des expériences effectuées pour résoudre cette question sont, malheureusement, contradictoires. Dans notre laboratoire, Baltus [4] a constaté que, conformément aux prévisions, la teneur en *DPN* des fragments anucléés s'abaisse déjà de 22% pendant les 24 heures qui suivent la section; cette chute s'accentue par la suite, puisqu'elle atteint 40% après 50 h. et 55% après 75 h. Mais des résultats entièrement différents ont été obtenus par Cohen, qui a utilisé une autre technique que Baltus [4]: selon l'auteur américain, il ne se produirait pas de changements appréciables dans la teneur en *DPN* des deux types de fragments, même 6 jours après l'opération. Les

raisons de ce désaccord demeurent inconnues: des mesures seront refaites, dans notre laboratoire, en utilisant la technique de Cohen, afin de préciser si c'est la technique ou le matériel biologique qui est en cause.

Quoiqu'il en soit, il est permis d'espérer que le rôle du *DPN* dans les altérations métaboliques que subissent les fragments anucléés pourra être éclairci par des observations actuellement en cours (E. Baltus): ces expériences montrent qu'il est possible de faire pénétrer dans les amibes des quantités importantes de *DPN* par pinocytose. On peut, en mélangeant le co-enzyme à une protéine inactive, faire doubler ou tripler la teneur en *DPN* des amibes; on observe ensuite une lente diminution de la teneur en *DPN* de ces amibes. Des dosages, destinés à établir si un accroissement artificiel de la teneur en *DPN* des amibes exerce une influence sur la glycogénolyse des fragments anucléés, sont en cours.

d) **Métabolisme de l'*ARN* et des protéines**. Nous ne pouvons songer à discuter ici les nombreuses et fortes raisons pour lesquelles nous croyons que le métabolisme de l'*ARN* ne peut être dissocié de celui des protéines: nous avons eu l'occasion de présenter récemment ailleurs les arguments qui militent en faveur d'une intervention de l'*ARN* dans la synthèse des protéines [8]. Comme nous allons le voir du reste, le métabolisme de l'*ARN* et celui des protéines évoluent façon tout à fait parallèle tant chez l'amibe que chez *Acetabularia;* mais ces deux organismes se comportent, par contre, de façon totalement différente lorsqu'on étudie le métabolisme ribonucléoprotéique des fragments anucléés.

Chez l'amibe, comme nous l'avons montré [7] et comme l'a confirmé James [26], l'énucléation entraîne une diminution massive (elle atteint 60% au bout d'une dizaine de jours) de la teneur en *ARN*. Il faut en conclure que, chez cet organisme, le noyau exerce un contrôle étroit sur le maintien de l'*ARN* cytoplasmique et, vraisemblablement, sur la morphologie des structures cellulaires qui renferment cet *ARN* (ergastoplasme, microsomes).

Nos résultats sont compatibles avec l'hypothèse d'une origine nucléaire de l'*ARN* cytoplasmique, mais ils ne suffisent évidemment pas à la démontrer. D'élégantes expériences de Goldstein et Plaut [20], qui ont transplanté les noyaux d'amibes marquées au P^{32} dans des amibes normales, plaident fortement en faveur de l'idée que l'*ARN* serait synthétisé dans le noyau, puis transféré au cytoplasme. Nous verrons bientôt si les conclusions de Goldstein et Plaut ont une signification générale.

Si la synthèse des protéines est réellement liée à la présence d'*ARN*, nous devons nous attendre à voir l'anabolisme protéique diminuer d'intensité après énucléation: nous savons déjà qu'il en est bien ainsi, puisque la teneur en protéines totales s'abaisse plus rapidement et plus fortement dans les fragments anucléés que dans les moitiés nucléées.

Mais il est intéressant de noter que les diverses protéines présentes dans l'amibe ne sont pas affectées au même degré par l'ablation du noyau: c'est ce qui résulte d'une étude sur le sort de divers enzymes dans les deux types de fragments [7]. Les expériences ont clairement montré que certains enzymes (protéase, énolase, adénosinetriphosphatase) ne seront pratiquement pas affectés par l'enlèvement du noyau; l'amylase, qui a été étudiée par Urbani [49] se comporte sensiblement de même. Par contre, la dipeptidase subit une diminution importante d'activité peu après la section, pour se stabiliser ensuite. Enfin, la phosphatase acide et l'estérase disparaissent presque complètement des fragments anucléés en quelques jours. Ces expériences ont montré, en outre, que les hydrolases que nous avons étudiées ne sont pas accumulées dans le noyau cellulaire.

Il est désormais clair que le noyau exerce un contrôle extrêmement variable sur les diverses protéines de la cellule. Il est fort possible (mais non rigoureusement démontré) que le comportement inégal des différents enzymes, dans les fragments anucléés, soit lié à la localisation intracellulaire de ces enzymes: on a, en effet, des raisons de croire, à la suite des travaux

de Holter [25], que les enzymes qui ne sont pas affectés par l'énucléation sont liés à de gros granules comparables aux mitochondries. Au contraire, les enzymes les plus sensibles à l'ablation du noyau seraient surtout localisés dans les microsomes. S'il en est réellement ainsi, il se confirmerait que le noyau exerce un contrôle infiniment plus sévère sur les microsomes que sur les mitochondries.

On dispose d'un autre moyen encore pour suivre l'anabolisme protéique dans une cellule: c'est l'étude de l'incorporation d'acides aminés marqués dans ces protéines. Des expériences de Mazia et Prescott [36] on montré que l'incorporation de la méthionine dans les protéines de l'amibe diminue de 2 à 3 fois, dans les fragments anucléés, presque immédiatement après la section. Leurs expériences suggèrent que le noyau pourrait être le siège d'une proportion considérable des synthèses protéiques; mais il se pourrait aussi que la synthèse des protéines cytoplasmiques soit contrôlée de façon extrêmement étroite par le noyau.

Toutefois, des observations autoradiographiques réalisées dans notre laboratoire par Ficq [14] ne contirment pas entièrement les conclusions de Mazia et Prescott: elles montrent, tout d'abord, que les différences qui existent entre les deux types de fragments ne sont pas aussi marquées que les auteurs américains ne le pensaient. Par exemple, l'activité des fragments anucléés correspond encore à 50% de celle trouvée pour les moitiés nucléées, pendant les 10 jours qui suivent la section. En outre, l'autoradiographie permet de montrer que, chez l'amibe, le noyau n'est pas le siège d'une incorporation massive des acides aminés dans les protéines; il est cependant plus actif que le cytoplasme.

On en arrive donc à la conclusion que le noyau ne peut être le centre exclusif des synthèses protéiques chez l'amibe; bien que l'anabolisme propre du noyau soit important, le cytoplasme anucléé demeure parfaitement capable d'incorporer des acides aminés dans ses protéines pendant de longs jours. Le noyau de l'amibe exerce bien un controle sur les protéines cytoplasmiques; mais ce contrôle est loin d'être aussi strict qu'on aurait pu le supposer.

Passons maintenant au cas d'*Acetabularia:* il s'agit, rappelons-le, d'un organisme qui, grâce à la photosynthèse, est capable de régénérer largement en l'absence du noyau. Nos expériences ont montré que, contrairement à ce qu'on aurait prévu si l'*ARN* cytoplasmique tirait son origine exclusivement de l'*ARN* nucléaire, il se produit, dans les fragments anucléés, une synthèse nette d'*ARN;* cette synthèse est même initialement plus rapide que dans les moitiés nucléées (Brachet et collab.). Bien que la synthèse de l'*ARN* se ralentisse ensuite dans le cytoplasme anucléé, il est clair que les conclusion de Goldstein et Plaut ne sont pas valables pour *Acetabularia:* chez cette algue, des mécanismes purement sytoplasmiques permettent une synthèse de l'*ARN*. Ajoutons que l'incorporation de précurseurs marqués se poursuit, dans l'*ARN* des fragments anucléés, pendant plus de 2 mois sans diminution sensible d'intensité. Il est évident que, chez *Acetabularia,* le métabolisme de l'*ARN* cytoplasmique est remarquablement indépendant de la présence ou de l'absence du noyau.

On aboutit à des conclusions absolument identiques lorsqu'on étudie le métabolisme protéique de l'*Acetabularia* (Brachet et collab.): le fragment anucléé est capable d'une synthèse nette de protéines, et cette synthèse est, à nouveau, initialement plus intense que dans les portions nucléées. En outre, l'incorporation de CO_2 radioactif dans les protéines se poursuit pendant de longues semaines au sein du cytoplasme anucléé. Une certaine diminution d'intensité se manifeste toutefois une quinzaine de jours après l'opération. Il est intéressant d'ajouter que la synthèse d'un enzyme, l'aldolase, a été suivie par E. Baltus: bien que 40% de l'enzyme se trouve dans la moitié nucléée, une synthèse notable (40%) s'observe dans le fragment anucléé pendant la régénération. En fait, l'aldolase se synthétise en l'ab-

sence du noyau, à la même vitesse que les protéines totales: le noyau n'est donc pas indispensable pour que la synthèse d'une protéine spécifique, enzymatiquement active, se produise.

Nos expériences montrent donc qu'une synthèse simultanée de protéines et d'*ARN* est possible en l'absence du noyau chez *Acetabularia;* cette double synthèse est même initialement plus rapide dans les fragments anucléés que dans les autres. Le noyau n'exerce donc pas de contrôle immédiat sur les synthèses de l'*ARN* et des protéines chez *Acetabularia;* il serait cependant inexact de croire qu'il n'exerce aucun contrôle sur ces synthèses: celles-ci finissent, en effet, par s'arrêter dans le cytoplasme anucléé, à un moment où les mécanismes producteurs d'énergie (respiration et photosynthèse) sont encore intacts.

Voyons maintenant dans quelle mesure les conclusions qui viennent d'être présentées sont valables pour d'autres cellules.

3. Réticulocytes et œufs soumis à la mérogonie

Les seules cellules qui aient été étudiées à fond, en ce qui concerne le rôle métabolique de leur noyau sont les réticulocytes: ce sont des globules rouges non mûrs, qui ont perdu leur noyau, mais ont conservé leur basophilie. On dispose, en outre, d'informations fragmentaires sur le métabolisme des œufs vierges d'oursin, après qu'ils ont été séparés en deux moitiés, nucléée et anucléée, par centrifugation.

En ce qui concerne tout d'abord la consommation d'oxygène, les œufs d'oursin se comportent comme les organismes unicellulaires: comme l'ont montré Shapiro [42] et Ballentine [2] la respiration des moitiés nucléées est nettement inférieure à celle des fragments anucléés, parce que la centrifugation accumule dans ces derniers la majeure partie des déshydrogénases liées aux mitochondries.

La situation est toutefois fort différente dans le cas des réticulocytes: la disparition du noyau est suivie de la perte des mitochondries et des structures basophiles (ergastoplasme) du cytoplasme [11]. Il est compréhensible, dès lors, que comme Warburg, l'a montré dès 1909, les réticulocytes respirent plus activement que les globules rouges mûrs; ceux-ci, comme l'ont signalé Rapoport et Hofmann [39] ainsi que Rubinstein et ses collaborateurs [40; 41], perdent, au cours de leur maturation, la majeure partie de leurs enzymes oxydatifs. Mais il est vraisemblable qu'il s'agit moins d'un contrôle du noyau sur les mitochondries que d'une conséquence de la haute spécialisation des globules rouges: en effet, selon Rubinstein et Denstedt [40] les enzymes respiratoires des globules rouges nucléés des oiseaux seraient localisés dans le noyau ou la membrane cellulaire de ces cellules, où les mitochondries sont rares ou absentes.

Il est intéressant de noter que, malgré cette évolution très particulière des globules rouges au cours de leur maturation, l'étude des cellules sanguines apporte un argument de poids en faveur de l'idée que la synthèse du *DPN* est l'une des fonctions du noyau: comme l'ont montré récemment Malkin et Denstedt [32] l'enzyme de synthèse du *DPN* est présent dans les globules rouges nucléés des oiseaux; il est, par contre, absent dans les réticulocytes et dans les globules rouges mûrs des Vertébrés.

Si nous passons maintenant au métabolisme de l'*ARN* et des protéines dans les réticulocytes, nous constatons que, comme chez l'amibe, la disparition du noyau entraîne une diminution progressive de l'*ARN*. Simultanément, l'aptitude à incorporer des acides aminés marqués dans les protéines décroît fortement [19; 24; 28]. Mais il est à noter que, comme les Acetabularias, les réticulocytes seraient capables de réaliser une synthèse nette de proteines [38]. Comme, en outre, ces cellules sont capables d'incorporer de la glycine dans leur *ARN* [29], on doit conclure, à nouveau, que la perte du

noyau ne conduit pas nécessairement à un arrêt immédiat, ou même rapide, des synthèses de l'*ARN* et des protéines.

C'est à la même conclusion qu'on arrive encore dans le cas des œufs: chez le triton, Tiedemann et Tiedemann [48] n'ont pas observé de différences entre les fragments nucléés et anucléés en ce qui concerne l'incorporation du CO_2 radioactif dans les protéines et l'*ARN*. Chez l'oursin, l'incorporation de la glycine tend à être plus intense dans les fragments anucléés que dans les autres; la différence est plus marquée dans le cas de l'*ARN* que dans celui des protéines [33].

Comme on le voit, les résultats obtenus pour les réticulocytes et les œufs concordent avec tout ce qui a été observé chez les organismes unicellulaires: dans tous les cas étudiés, la suppression du noyau n'a pas eu d'effets immédiats sur les synthèses protéiques; elle provoque toutefois, à la longue, une inhibition de ces synthèses. Dans tous les cas étudiés, l'*ARN* et les synthèses protéiques évoluent de façon remarquablement parallèle.

4. Le métabolisme ribonucléoprotéique des cellules intactes

La méthode autoradiographique confirme entièrement les observations faites par Marshak, Jeener et Szafarz, etc. sur le métabolisme de l'*ARN* dans des homogénats de foie: quel que soit le précurseur choisi, l'incorporation est toujours plus rapide dans le noyau que dans le cytoplasme. L'autoradiographie permet cependant d'apporter une précision supplémentaire: elle montre que, dans les cellules de grande taille (oocytes, amibes, *Acetabularia*), c'est dans l'*ARN* du nucléole que se fait cette incorporation préférentielle des précurseurs [13; 14; 46; 47 etc.]. Ces observations sont compatibles avec l'hypothèse d'une origine nucléolaire de l'*ARN* cytoplasmique; mais, comme nous l'avons déjà fait remarquer, ce ne peut être là un mécanisme exclusif, puisqu'une synthèse nette d'*ARN* est possible, en l'absence du noyau, chez *Acetabularia*. Il faut donc admettre que les deux mécanismes (transfert d'*ARN* du nucléole vers le cytoplasme, et synthèse autonome d'*ARN* cytoplasmique) peuvent co-exister.

Il est moins aisé répondre à la question suivante: quelle est l'importance relative du noyau dans la synthèse des protéines cellulaires? Dans les oocytes de grenouille et d'étoile de mer [13; 14], les nucléoles se montrent plus actifs, à volume égal, que le cytoplasme en ce qui concerne l'incorporation des acides aminés dans les protéines; mais les différences sont loin d'être aussi frappantes qu' elle ne le sont pour l'incorporation de l'adénine ou du P^{32} dans l'*ARN*. Il en va exactement de même pour *Acetabularia*, et pour l'amibe. Dans le foie des orgamsmes supérieurs, le noyau incorpore plus rapidement que le, cytoplasme des acides aminés marqués dans ses protéines [17; 37]; mais c'est là l'exception plutôt que la règle, car on n'observe pas d'incorporation préférentielle de la phénylalanine dans les protéines du noyau pour les autres organes étudiés (pancréas, intestin, poumon, cœur, muscle, rein, rate, utérus) [16].

C'est surtout lorsque les cellules se divisent rapidement, chez les œufs de Batraciens en voie de segmentation par exemple, que l'incorporation des précurseurs est particulièrement intense dans les protéines des noyaux [10; 44]: il ne faut évidemment pas s'en étonner, car les protéines des chromosomes doivent nécessairement se synthétiser à un rythme rapide lors de la mitose.

On peut donc conclure que les observation autoradiographiques montrent qu' un métabolisme très actif de l'*ARN* nucléaire est la règle générale; par contre, le métabolisme protéique n'est pas nécessairement plus actif dans le noyau que dans le cytoplasme, sauf dans les cellules qui se multiplient à un rythme accéléré.

5. DISCUSSION

Les différents points qui ont été soulevés au cours de cet exposé (rôle du noyau dans les oxydations cellulaires, dans la synthèse du *DPN*, dans celles de l'*ARN* et des protéines) ont été discutés avec assez de détails pour qu'il ne soit pas nécessaire d'y revenir.

Il reste cependant une question qui demande à être traitée brièvement: l'idée se répand actuellement que l'acide désoxyribonucléique *(ADN)* interviendrait dans la synthèse des protéines, en contrôlant par exemple la synthèse de l'*ARN*. Des arguments expérimentaux existent en faveur de cette thèse: Gale et Folkes [18] ont notamment montré que l'*ADN* stimule mieux que l'*ARN* la synthèse des protéines dans des staphylocoques qui ont été brisés aux ultra-sons, puis privés de leurs acides nucléiques. Un argument plus impressionnant encore en faveur d'une intervention de l'*ADN* dans la synthèse des protéines a été apporté par des recherches récentes de Allfrey, Mirsky et Osawa [1]: ils ont obtenu une incorporation notable de divers acides aminés dans les protéines de noyaux de thymus isolés et ils ont constaté que cette incorporation est inhibée par la désoxyribonucléase; la ribonucléase, au contraire, est sans effets.

Les expériences de Allfrey et ses collaborateurs ont été refaites, dans notre laboratoire, en utilisant la technique autoradiographique à titre de contrôle: on pouvait, en effet, craindre que l'incorporation observée par les auteurs américains se produise uniquement dans des cellules entières, qui contamineraient la suspension de noyaux. Nos expériences ont montré qu'une pareille contamination se produit effectivement, mais qu'elle ne peut suffire à expliquer les résultats de Allfrey *et al.* Il ne fait donc pas de doute que les noyaux isolés peuvent incorporer des acides aminés dans leurs protéines et que la désoxyribonucléase inhibe le phénomène.

On peut donc admettre que l'*ADN* doit intervenir directement dans la synthèse des protéines nucléaires, probablement dans celle des chromosomes eux-mêmes. Par contre, une intervention directe de l'*ADN* dans les protéines cytoplasmiques paraît beaucoup moins probable: nos propres expériences sur *Acetabularia* montrent, comme on l'a vu, qu'une synthèse très appréciable de protéines est possible en l'absence du noyau. Comme l'*ADN* est, en règle générale, strictement localisé dans la chromatine, il est logique de conclure qu'une synthèse importante de protéines cytoplasmiques peut se produire, chez *Acetabularia*, en l'absence de cet acide nucléique. En raison de l'importance théorique qu'offre la question, au point de vue de la génétique notamment, nous avons tenu à nous assurer que les fragments anucléés d'*Acetabularia*, ne contiennent réellement pas de quantités mesurable d'*ADN:* c'est ce que nous avons effectivement constaté, même en employant une méthode de dosage très sensible (dilution isotopique de la thymine).

Des expériences récentes de Landman et Spiegelman [30] plaident également contre une intervention directe de l'*ADN* dans la synthèse des protéines cytoplasmiques: travaillant sur des protoplastes bactériens, ils ont montré que la destruction de l'*ADN* par la désoxyribonucléase n'empêche pas la synthèse induite d'un enzyme (β-galactosidase). Au contraire, l'intégrité de l'*ARN* est indispensable pour que cette synthèse se fasse: en effet, la ribonucléase inhibe puissamment la synthèse induite de l'enzyme.

Les résultats de Landman et Spiegelman cadrent donc parfaitement avec les nôtres: la synthèse d'une protéine spécifique (β-galactosidase dans les protoplastes, aldolase chez *Acetabularia*) est possible en l'absence complète d'*ADN*.

On sait, enfin, par de nombreuses expériences effectuées sur les microorganismes, qu'une synthèse simultanée d'*ARN* et de protéines est possible en l'absence de toute synthèse d'*ADN*. Il semble donc qu'on puisse tirer la conclusion suivante: à l'inverse de l'*ARN*, l'*ADN* ne jouerait pas un rôle

direct dans la synthèse des protéines cytoplasmiques; il n'interviendrait que dans la synthèse des protéines nucléaires, qui lui sont intimement associés dans les chromosomes eux-mêmes.

Il reste la possibilité, bien entendu, que l'*ADN* contrôle directement la synthèse de l'*ARN* nucléaire; celui-ci constituerait un intermédiaire entre l'*ADN* et les mécanismes des synthèses protéiques du cytoplasme. Mais cette possibilité n'est, à l'heure actuelle, guère plus qu'un hypothèse séduisante. Ce sera l'œuvre de l'avenir d'éprouver expérimentalement sa valeur.

RÉSUMÉ

L'état actuel de nos connaissances sur le rôle biochimique du noyau cellulaire est discuté. On aboutit aux principales conclusions suivantes:

1) L'ablation du noyau n'influence pas les oxydations cellulaires, même après un temps prolongé.

2) Le noyau est très probablement le siège de la synthèse du *DPN*.

3) Le noyau exerce un contrôle sur la synthèse de l'*ARN* et des protéines du cytoplasme; mais ce contrôle est éloigné, jamais immédiat. Dans certains cas, une synthèse nette d'*ARN* et de protéines est possible, pendant quelque temps, en l'absence du noyau.

4) Il est peu probable que l'*ADN* intervienne directement dans la synthèse des protéines cytoplasmiques, qui est contrôlée par l'*ARN*. Il y a cependant des raisons de croire que l'*ADN* puisse jouer un rôle direct dans la synthèse des protéines qui lui sont immédiatement associées dans les chromosomes. Il se pourrait que l'*ADN* contrôle la synthèse de l'*ARN*, mais ce n'est encore là qu'une hypothèse.

Reçu le 20 novembre 1956

BIBLIOGRAPHIE

1. Allfrey V. G., Mirsky A. E. et Osawa S., Nature **176**, 1042, 1955.
2. Ballentine R., Biol. Bull. **77**, 328, 1939.
3. Baltus E., Biochim. Biophys. acta **15**, 263, 1954.
4. Baltus E., Arch. Intern. Physiol. Bioch. **64**, 124, 1956.
5. Beth K., Z. f. Naturforschg. **8 b**, 334, 1953.
6. Brachet J., Nature **168**, 205, 1951.
7. Brachet J., Biochim. Biophys, acta **18**, 247, 1955.
8. Brachet J., Nucleic Acids. Vol. 2, p. 475. Academic Press, N. Y., 1955.
9. Brachet J., Chantrenne H. et Vanderhaeghe F., Biochim. Biophys, acta **18**, 544, 1955.
10. Brachet J. et Ledoux L., Experim. Cell Res., suppl. **3**, **27**, 1955.
11. Chalfin D., J. Cell. Compar. Physiol. **47**, 215, 1956.
12. Cohen A. I., J. biophys. biochem. Cytology **2**, 15, 1956.
13. Ficq A., Arch. Biol., **66**, 509, 1955.
14. Ficq A., Experim. Cell Res. **9**, 286, 1955.
15. Ficq A., Arch. intern. Physiol. Bioch. **64**, 129, 1956.
16. Ficq A. et Brachet J., Experim. Cell Res. **11**, 135, 1956.
17. Ficq A. et Errera M., Biochim. Biophys. acta, **16**, 45, 1955.
18. Gale E. F. et Folkes J. P., Nature **173**, 1223, 1954.
19. Gavosto F. et Rechenmann R., Biochim. Biophys. acta **13**, 583, 1954.
20. Goldstein L. et Plaut W., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **41**, 874, 1955.
21. Hämmerling J., Intern. Rev. Cytology **2**, 475, 1953.
22. Hämmerling J. et Stich H. Z. f. Naturforschg. **9 b**, 149, 1954.
23. Hogeboom G. H. et Schneider W. C., J. Biol. Chem. **187**, 611, 1952.
24. Holloway B. W. et Ripley S. H., J. Biol. Chem. **196**, 695, 1952.
25. Holter H., Proc. roy. Soc. B **142**, 140, 1954.
26. James T. W., Biochim. Biophys. Acta **15**, 367, 1954.
27. Jeener R. et Szafarz D., Arch. Biochem. **26**, 54, 1950.
28. Koritz S. B. et Chantrenne H., Biochim. Biophys. acta **13**, 209, 1954.
29. Kruh J. et Borsook H., Nature **175**, 386, 1955.
30. Landman O. E. et Spiegelman S., Proc. natl. Acad. Sci. U.S.A. **41**, 1698, 1955.
31. Loeb J., Arch. Entwicklungsmech. **8**, 689, 1899.
32. Malkin A. et Denstedt O. P., Canad. J. Biochem. Physiol. **34**, 130, 1956.
33. Malkin H. M., J. Cell. Compar. Physiol. **44**, 105, 1954.
34. Marshak A., J. Cell. Compar. Physiol. **32**, 481, 1948.

35. Mazia D. et Hirshfield H. Science **112**, 297, 1950.
36. Mazia D. et Prescott D. M., Biochim. Biophys. acta **17**, 23, 1955.
37. Moyson F., Arch. Biol. **64**, 247, 1955.
38. Nizet A. et Lambert S., Bull. Soc. Chim. Biol. **35**, 771, 1953.
39. Rapoport S. et Hofmann E.C.G., Biochem. Z. **326**, 493, 1955.
40. Rubinstein D. et Denstedt O. P., J. Biol. Chem. **204**, 623, 1955
41. Rubinstein D., Ottolenghi P. et Denstedt O. P., Canad. J. Biochem. Physiol. **34**, 222, 1956.
42. Shapiro H., J. Cell. Compar. Physiol. **6**, 101, 1935.
43. Sirlin J. L., Experientia **11**, 112, 1955.
44. Sirlin J. L. et Waddington C. H., Experim. Cell Res. **11**, 197, 1956.
45. Stich H., Z. f. Naturforschg. **6 b**, 319, 1951.
46. Stich H. et Hämmerling J., Z. Naturforschg. **8 b**, 329, 1953.
47. Taylor J. H., Science **118**, 555, 1953.
48. Tiedemann H. et Tiedemann H., Naturwiss. **41**, 535, 1954.
49. Urbani E., Biochim. Biophys. acta **9**, 108, 1952.
50. Warburg O., Z. physiol. Chem. **59**, 112, 1909.

К ВОПРОСУ О БИОХИМИЧЕСКОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ МЕЖДУ ЯДРОМ И ЦИТОПЛАЗМОЙ

Ж. БРАШЕ

Лаборатория морфологии животных. Факультет естественных наук Брюссельского Университета, Бельгия

Резюме

В результате обсуждения современного состояния наших знаний, касающихся биохимической роли ядра клетки, сделаны следующие выводы:

Отсутствие ядра не влияет на окислительные процессы клетки даже спустя продолжительное время после его удаления.

Весьма вероятно, что ядро является местом синтеза *ДПН*.

Ядро контролирует синтез *РНК* и белков цитоплазмы; этот контроль никогда не является непосредственным, но осуществляется через посредствующие звенья. В некоторых случаях и в отсутствие ядра на протяжении известного периода возможен синтез *РНК* и белков, сопровождающийся увеличением их содержания.

Мало вероятно, что *ДНК* принимает непосредственное участие в синтезе белков цитоплазмы, зависящем от *РНК*. В то же время есть основание думать, что *ДНК* может играть прямую роль в синтезе белков, связанных с нею в хромосомах. Возможно, что *ДНК* контролирует синтез *РНК*, но пока это допущение имеет характер гипотезы.