

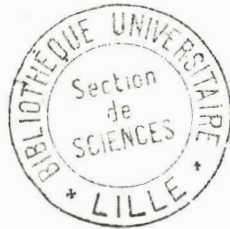
50.376
1967
12
2

50376
1967
12
2

UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DES SCIENCES.

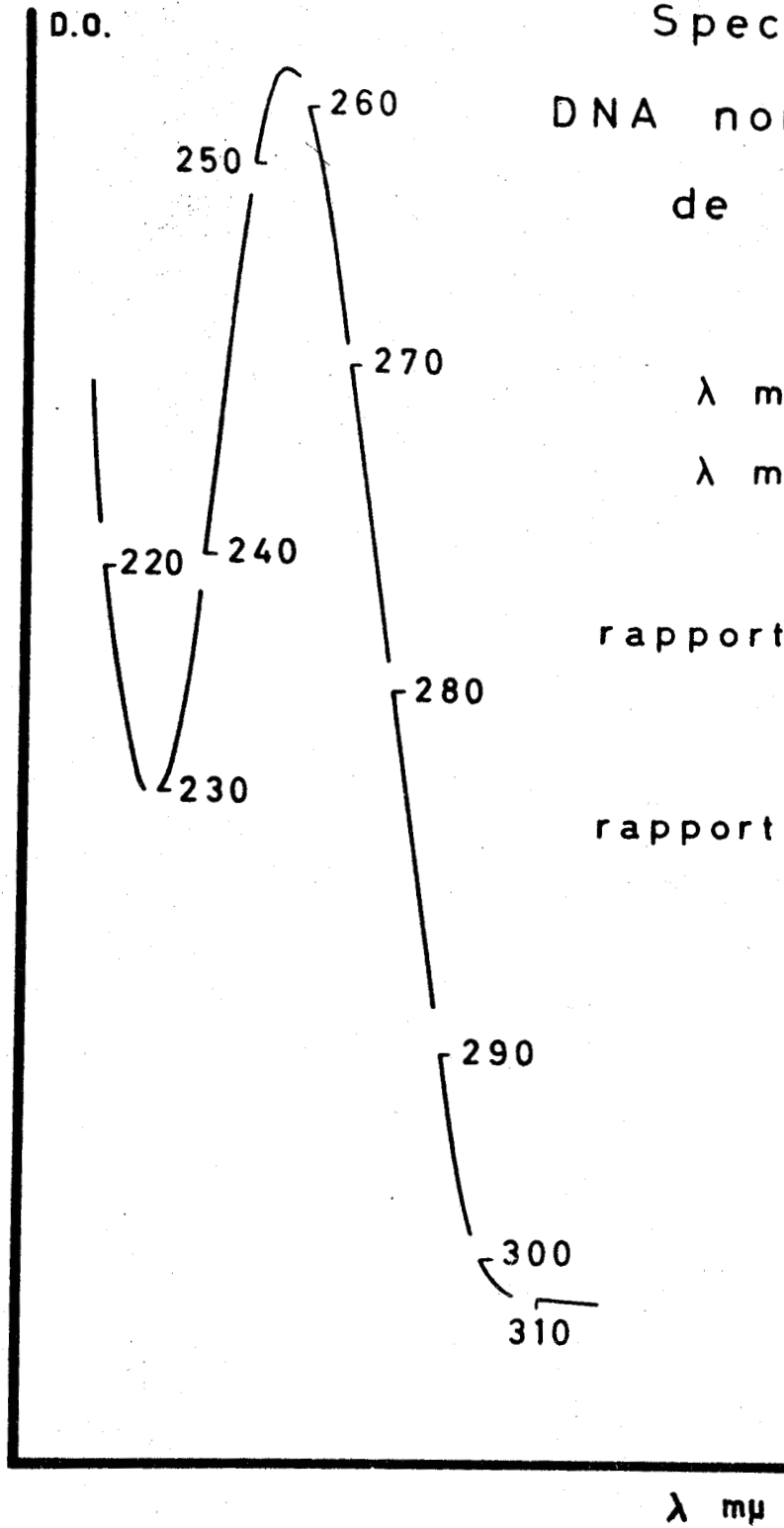
ETUDE DU SORT DU DNA INJECTE CHEZ LA SOURIS

P. CHARLES



PHOTOS et FIGURES

1967



Spectre U.V.
DNA non radioactif
de E. COLI

λ max. = 258 mμ.

λ min. = 230 mμ.

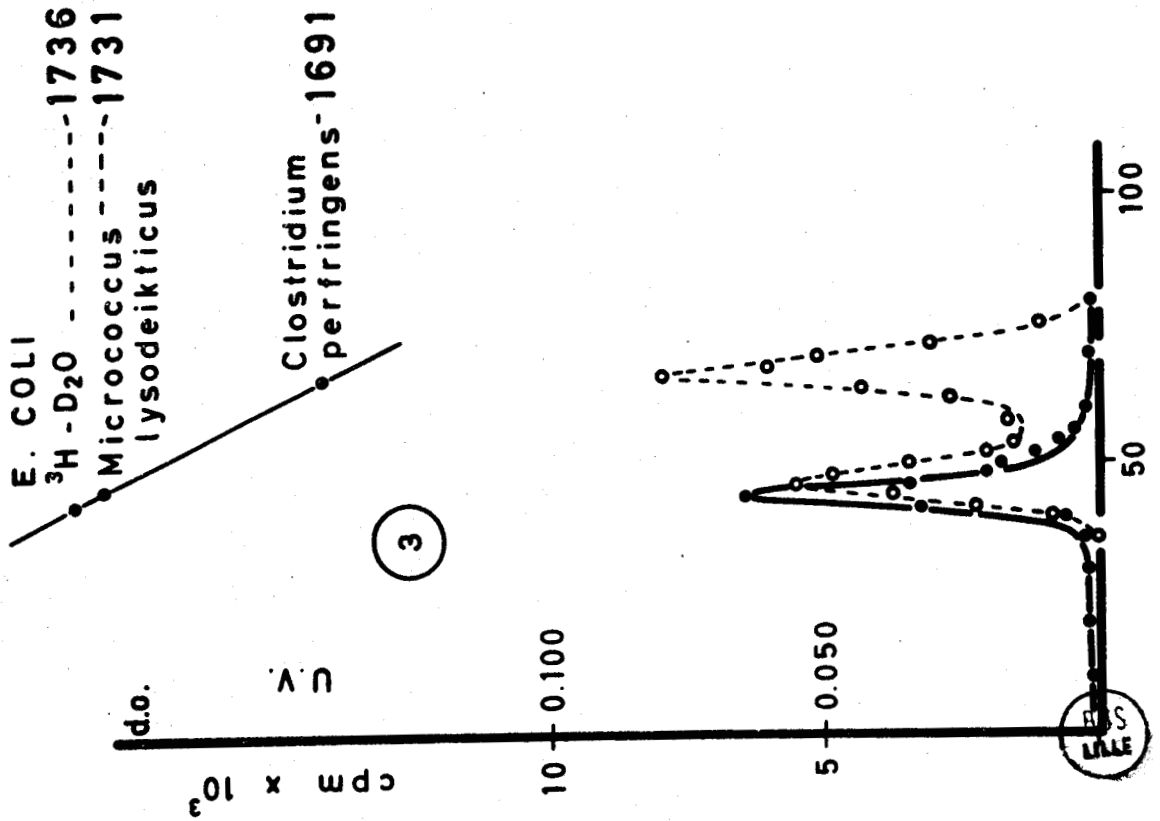
rappor $\frac{\lambda \text{ max.}}{\lambda \text{ min.}}$ = 2.34

rappor $\frac{\lambda 260}{\lambda 280}$ = 1.95

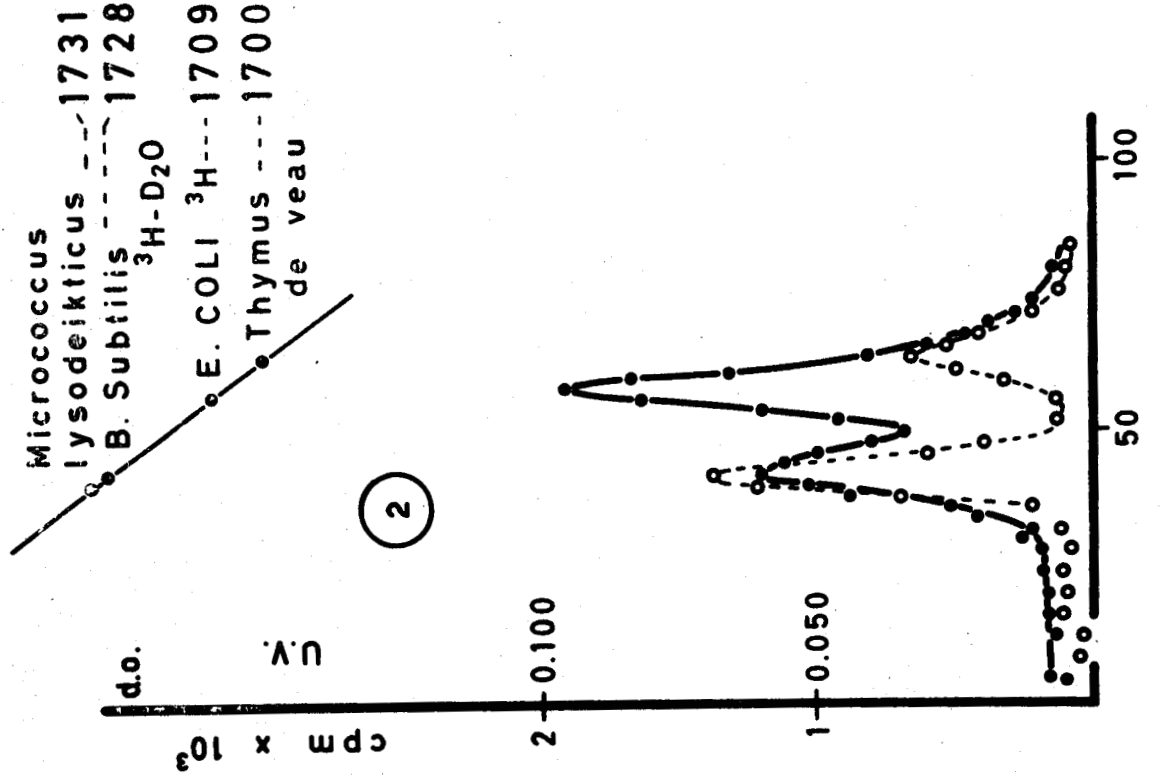


Figure 1.

DNA



3



2

Figures 2 et 3.

Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de différentes préparations de DNA.
 En ordonnée : densité optique (o) et radioactivité (●) des fractions.
 En abscisse : numéro d'ordre des fractions.
 Le gradient est indiqué dans le haut de la figure.

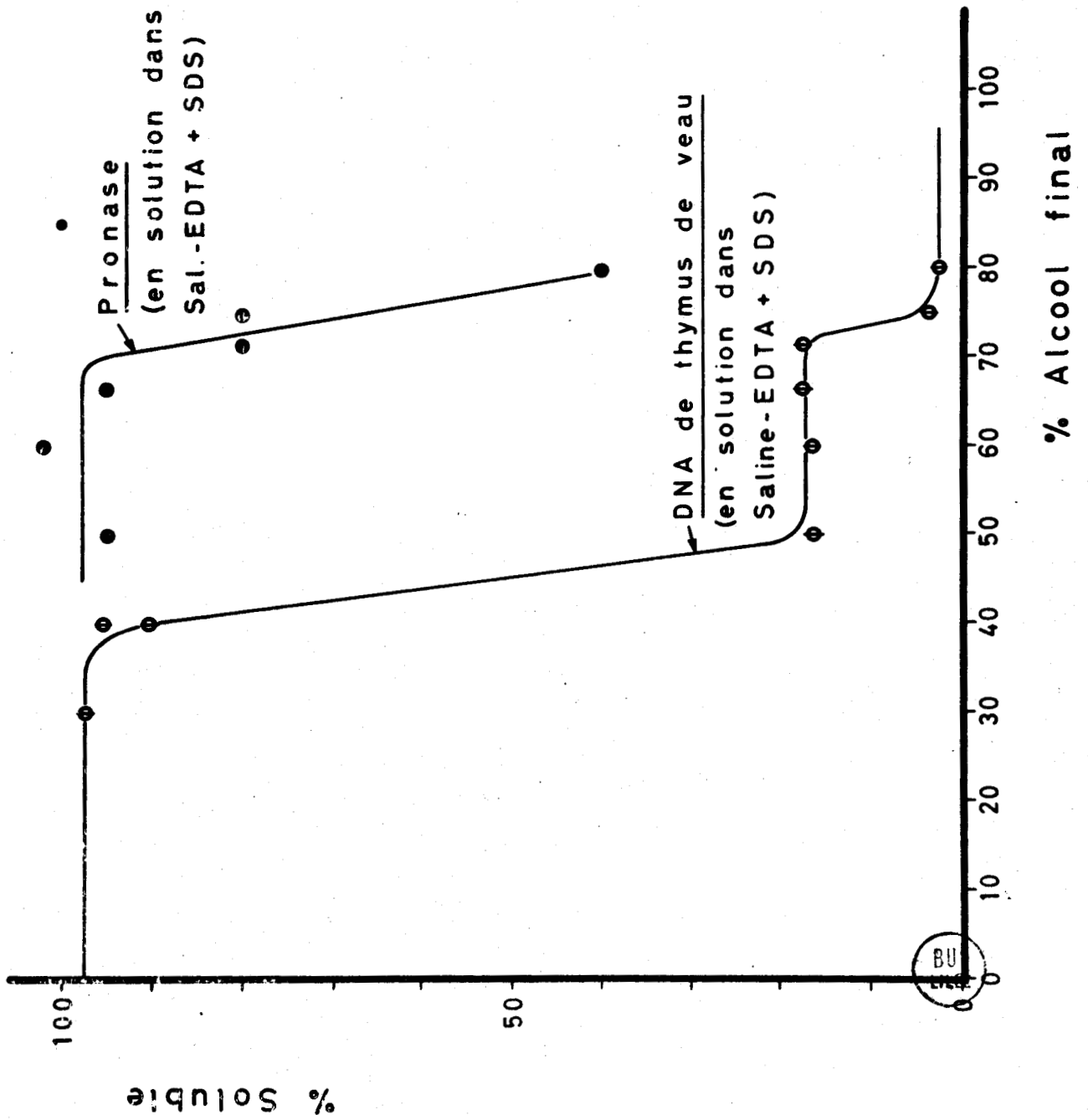
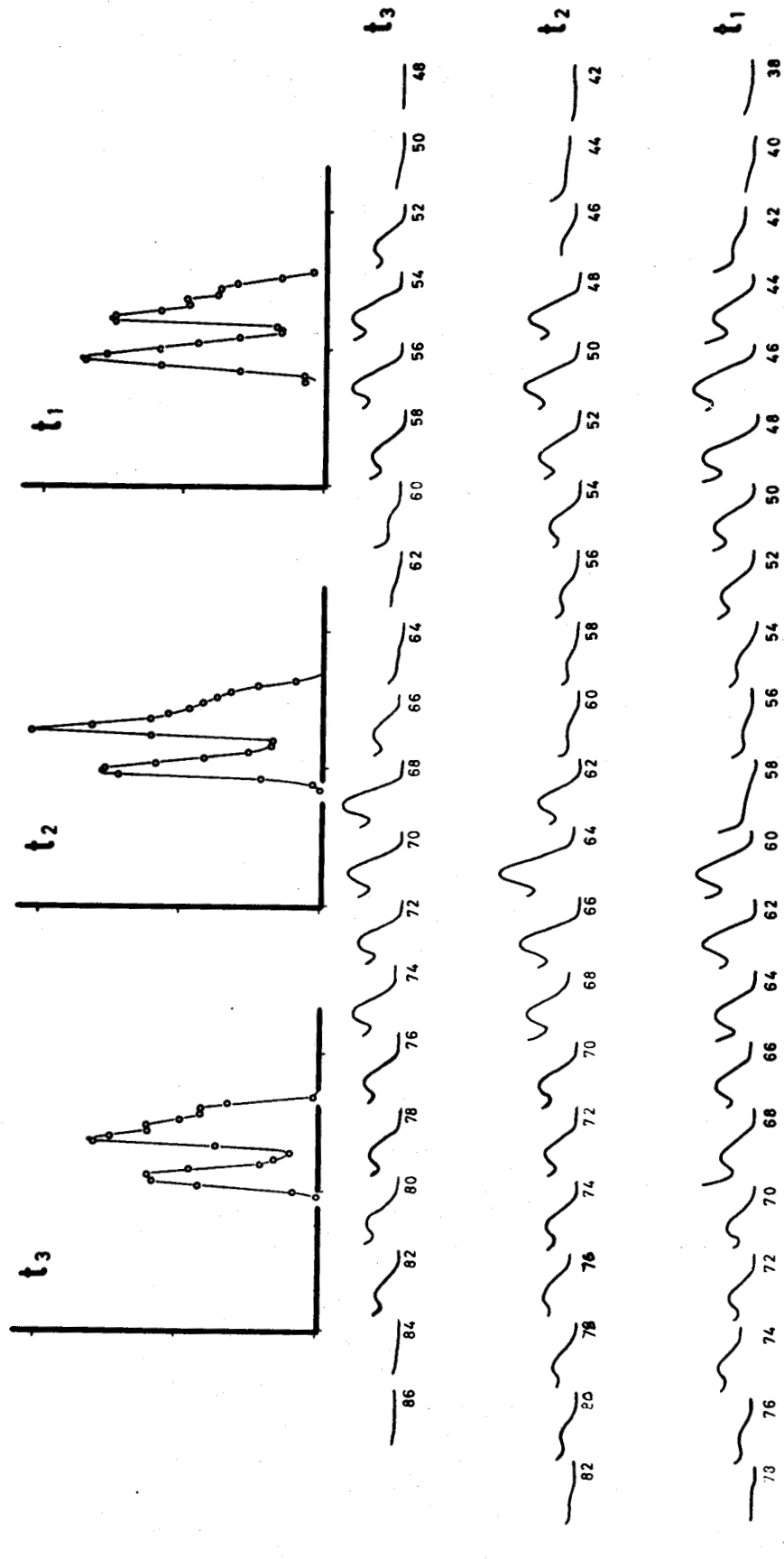


Figure 4.

Courbes de solubilité du DNA et de la pronase en fonction de la concentration en alcool.



BUS
LILLE

Figure 5.

Spectres U.V. enregistrés sur les fractions après ultracentrifugation.

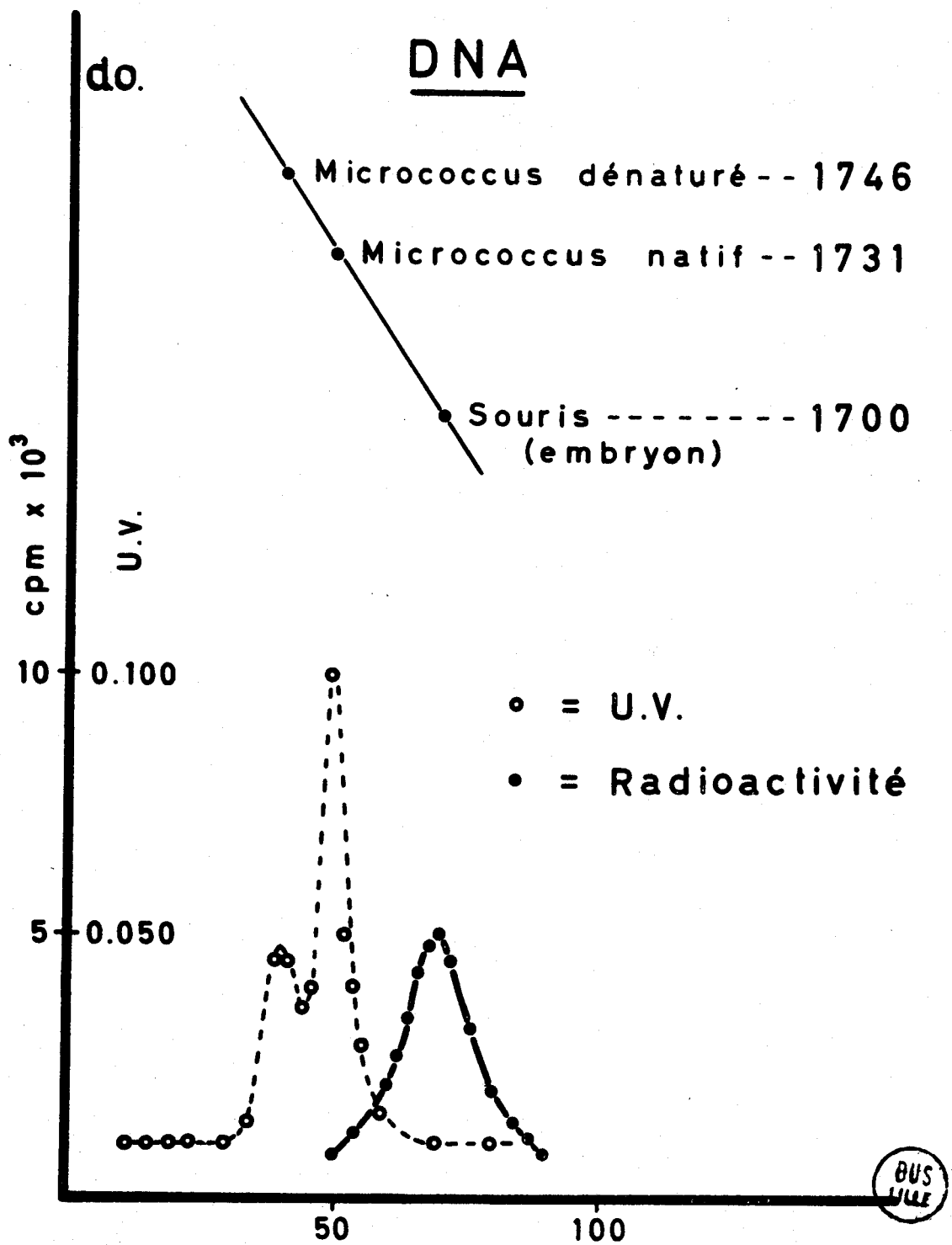
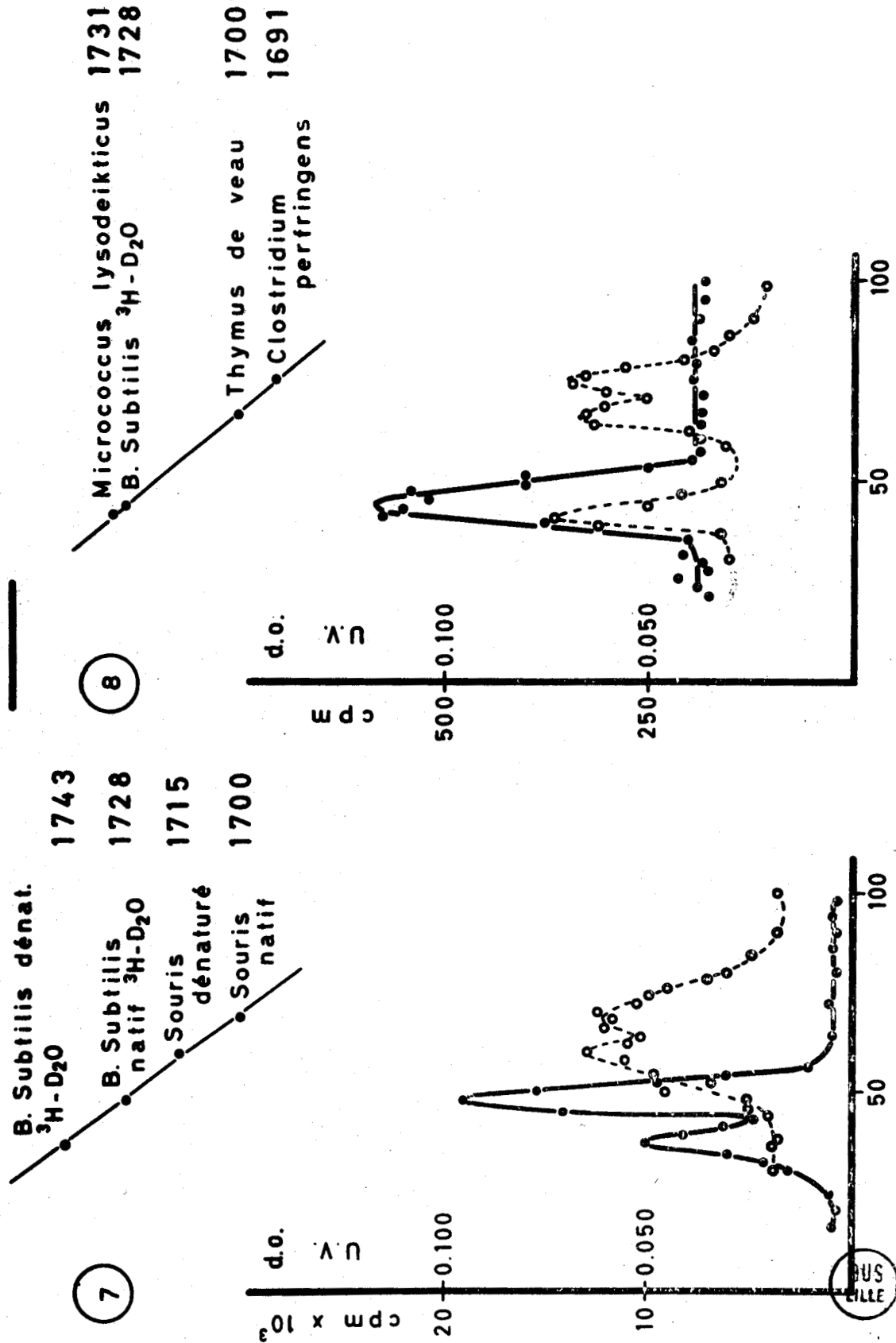


Figure 6.

Diagramme d'ultracentrifugation en gradient de CsCl.

DNA



Figures 7 et 8.

Diagramme d'ultracentrifugation en gradient de CsCl

- o densité optique
- radioactivité

DNA
B. Subtilis
³H-D₂O

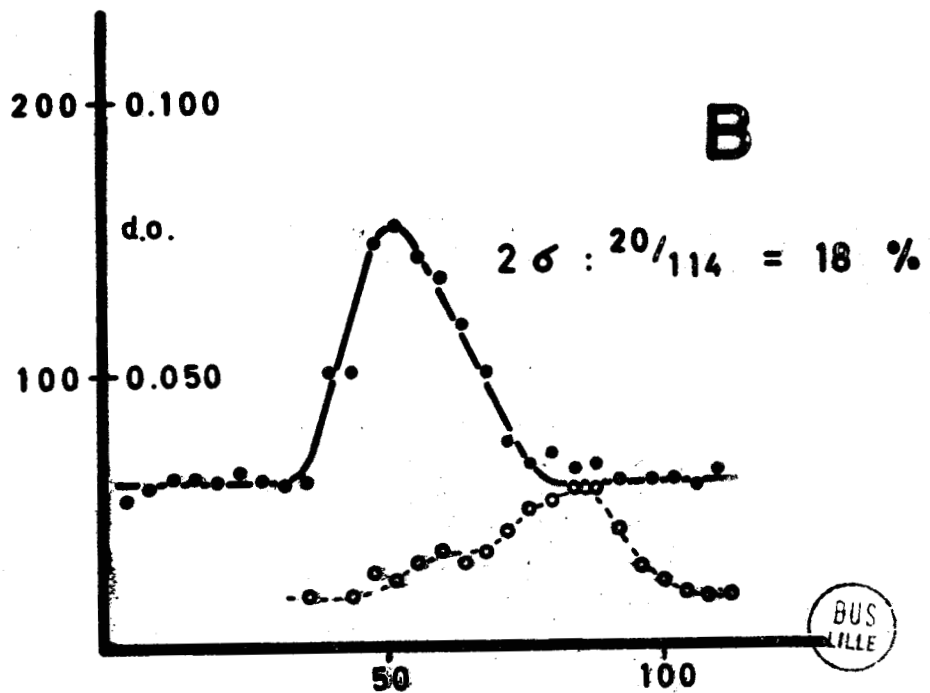
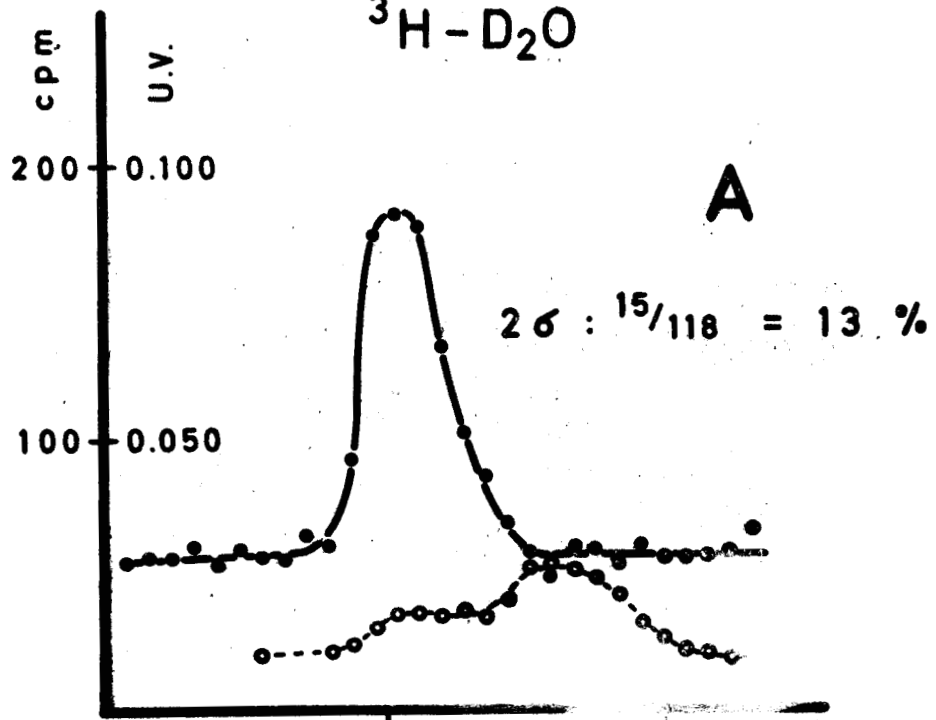


Figure 9.

Diagramme d'ultracentrifugation en gradient de CsCl.
 A. DNA radioactif ajouté après extraction du DNA de l'organe.
 B. DNA radioactif ajouté après homogénéisation, avant les manipulations d'extraction.

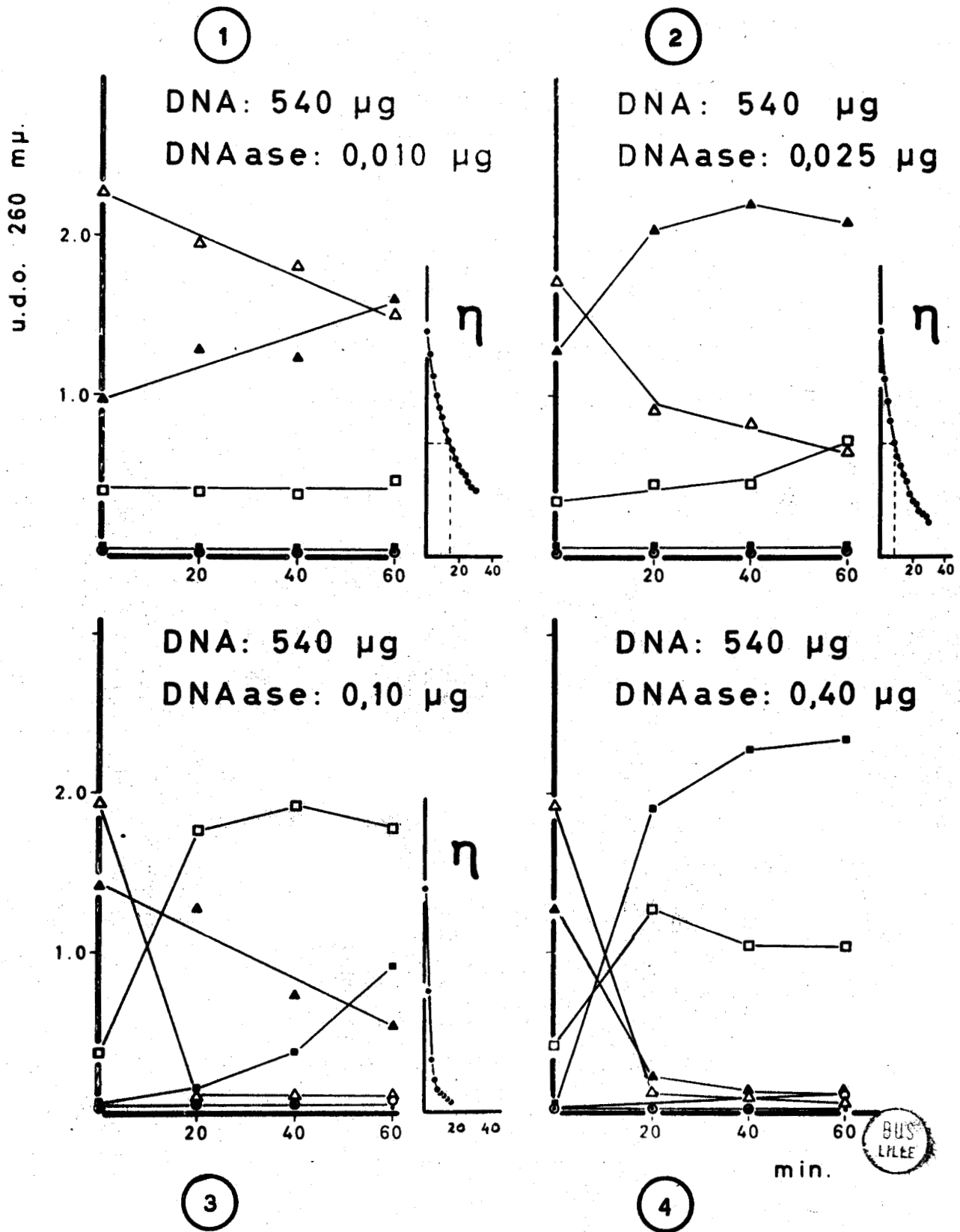


Figure 10.

Cinétique de l'action de la DNase - Etude chromatographique.

- | | | | |
|---|------------|---|------------|
| Δ | fraction 6 | ■ | fraction 3 |
| ▲ | fraction 5 | ○ | fraction 2 |
| □ | fraction 4 | ● | fraction 1 |

Dénaturation thermique.

Variations de la densité optique en fonction de la température.

Température	d.o. Δ 260 m μ 310 m μ	Augmentation de la d.o.	Effet hyperchrome %
25°	.767		
↕			
60°	.767		
65°	.767	+	
70°	.780	.013	1.7
75°	.860	.093	12.1
80°	.970	.203	26.4
85°	1.035	.268	35.0
90°	1.055	.288	37.5
95°	1.060	.293	38.0
100°	1.070	.303	39.5

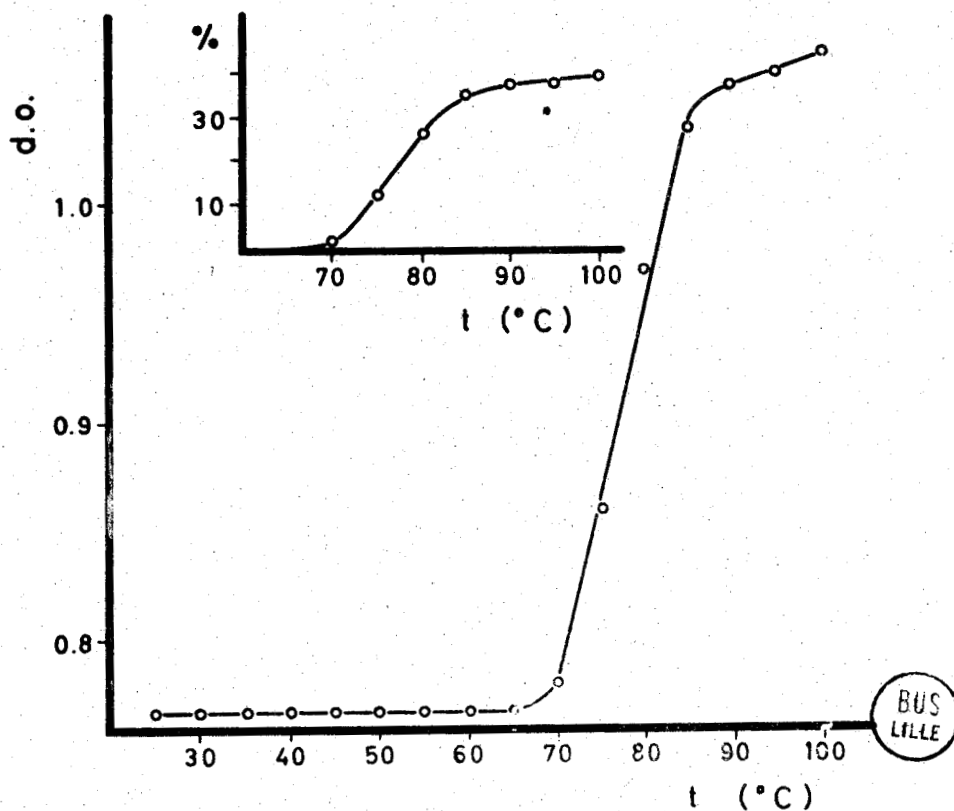


Figure 11.

Courbe de dénaturation thermique du DNA de thymus de veau.

Refroidissement rapide	Natif	.710	+	+	%
	après: 5'	.720	.010		1,4
	10'	.720	.010		1,4
	20'	.720	.010		1,4
Refroidissement lent	Natif	.710	+	+	
	après: 5'	.720	.010		1,4
	10'	.720	.010		1,4
	20'	.720	.010		1,4

	Natif		T = 67°					
			5'		10'		20'	
	d.o.	%	d.o.	%	d.o.	%	d.o.	%
1 + 2 + 3	.070	3.8	.090	4.8	.085	4.5	.095	5.1
4	.245	13.3	.170	9.2	.170	9.1	.180	9.8
5 + 6	.275	15.0	.325	17.5	.330	17.6	.300	16.3
7	.160	8.7	.135	7.3	.145	7.7	.170	9.2
8	.545	29.7	.595	32.1	.615	32.8	.610	33.0
9	.270	14.7	.245	13.2	.245	13.1	.235	12.7
10 + 11 + 12	.270	14.7	.295	15.9	.285	15.2	.255	13.8

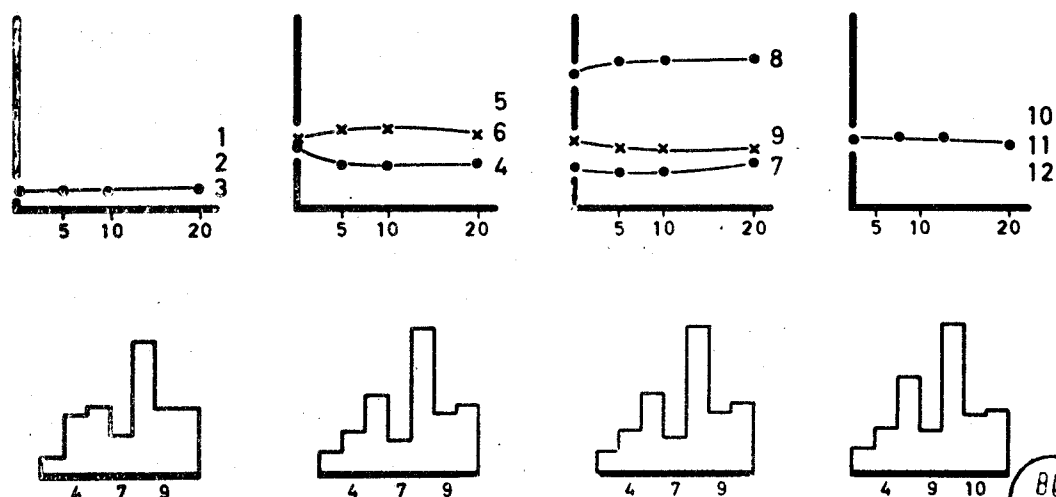


Figure 12.

Etude chromatographique de la cinétique de dénaturation
à 67°C.

Refroidissement rapide	Natif	.740	+	+
	après 5'	.825	.085	11,5
	10'	.825	.085	11,5
	20'	.860	.120	16,2
Refroidissement lent	Natif	.740	+	+
	après 5'	.830	.090	12,2
	10'	.840	.100	13,5
	20'	.865	.125	16,9

	Natif		T = 72°					
	d.o.	%	5'		10'		20'	
			d.o.	%	d.o.	%	d.o.	%
1 + 2 + 3	.095	5.3	.095	5.1	.100	5.4	.100	5.3
4	.430	23.9	.105	5.6	.160	8.7	.070	3.7
5 + 6	.370	20.6	.725	39.0	.685	37.2	.755	40.0
7	.305	17.0	.245	13.2	.205	11.1	.325	17.2
8	.410	22.8	.415	22.4	.470	25.5	.330	17.5
9	.100	5.6	.095	5.1	.095	5.2	.075	4.0
10 + 11 + 12	.090	5.0	.175	9.4	.130	7.0	.235	12.4

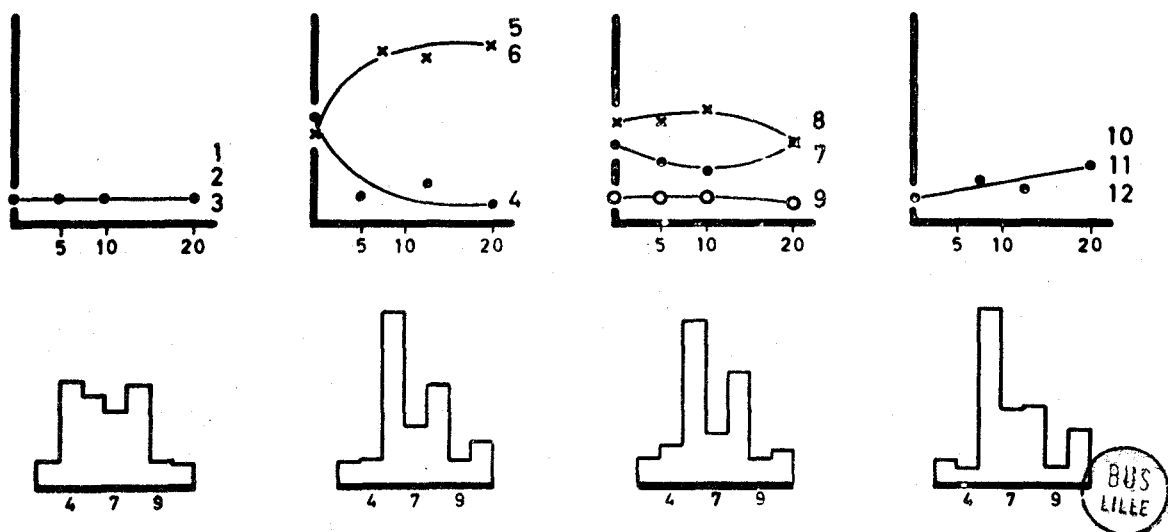


Figure 13.

Etude chromatographique de la cinétique de dénaturation à 72°C.

Refroidissement rapide	Natif	.750	+	+
	après 5'	.980	.230	30.6
	10'	.950	.200	26.7
	15'	.985	.235	31.4
Refroidissement lent	Natif	.750	+	+
	après 5'	.965	.215	28.7
	10'	.960	.210	28.0
	15'	.975	.225	30.0

	Natif		T = 87°					
			5'		10'		20'	
	d.o.	%	d.o.	%	d.o.	%	d.o.	%
1 + 2 + 3	.090	4.7	.080	4.0	.080	3.9	.090	4.4
4	.240	12.6	.030	1.5	.035	1.7	.035	1.7
5 + 6	.245	12.9	.325	15.9	.450	21.7	.750	36.6
7	.135	7.1	.740	36.3	.765	37.0	.700	34.2
8	.565	29.6	.345	16.9	.310	15.0	.220	10.7
9	.360	18.9	.170	8.3	.155	7.5	.090	4.4
10 + 11 + 12	.270	14.2	.350	17.2	.275	13.3	.160	7.8

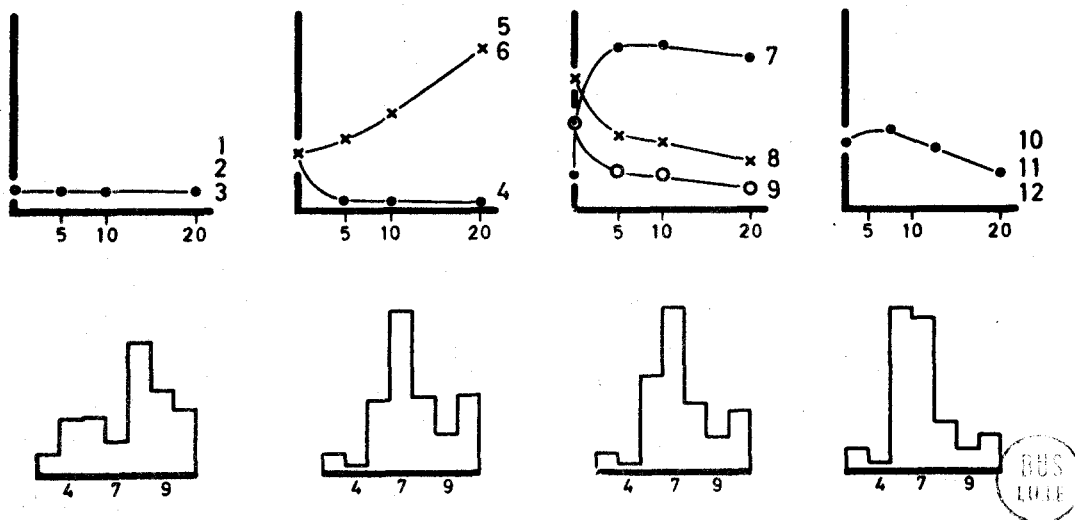


Figure 14.

Etude chromatographique de la cinétique de dénaturation à 87°C.

Dénaturation thermique.

Augmentation de l'absorption ultraviolette
d'une solution de DNA chauffée à 100 °C
en fonction de la durée du chauffage.
(Effet hyperchrome)

Temps de séjour au B.M. bouillant.	Non traité	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	90'
Avant chauffage D.O. (Val. 260 m μ - val. 310 m μ)	.930	.930	.930	.930	.930	.935	.935	.930	.935
Après chauffage D.O. Δ 260 / 310.	.930	1.180	1.175	1.170	1.205	1.190	1.145	1.165	1.140
Δ après - avant chauffage		.250	.245	.240	.275	.255	.210	.235	.205
Augmentation en % de la valeur initiale		26,8	27,0	25,7	29,4	27,2	22,4	26,0	22,0

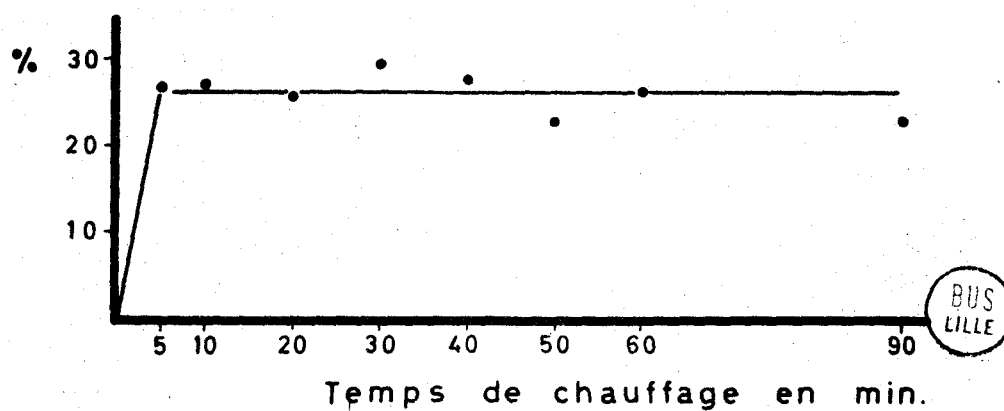
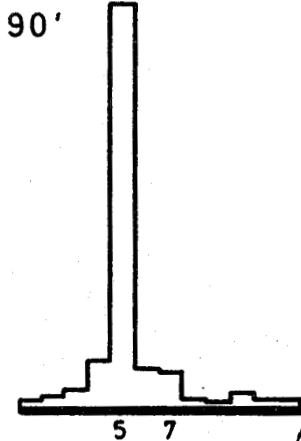
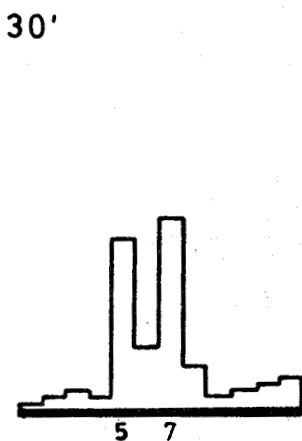
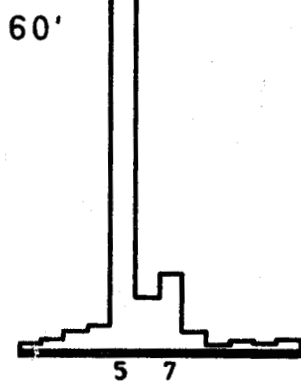
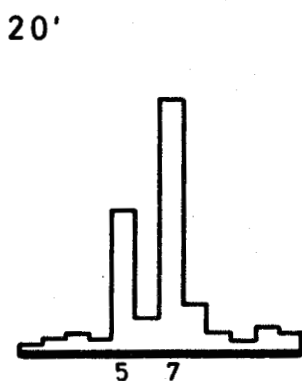
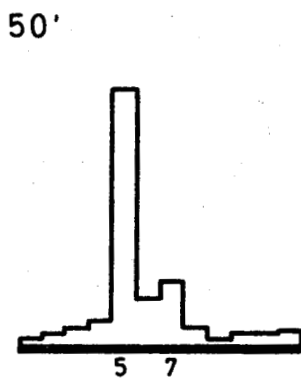
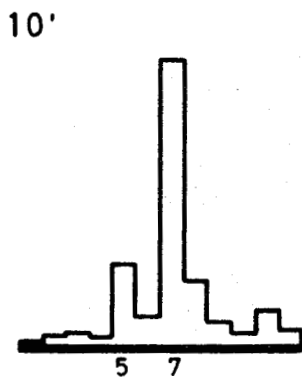
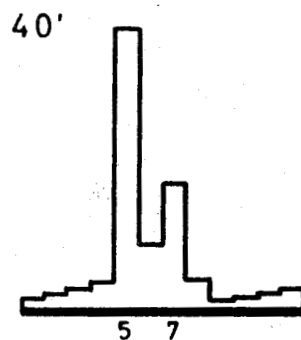
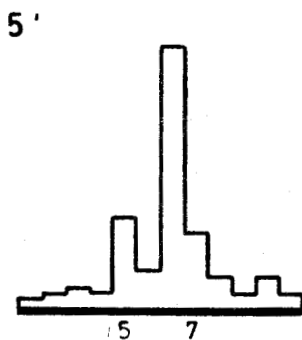
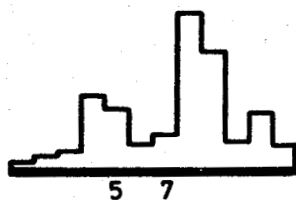


Figure 15.

Cinétique de la dénaturation à 100°C.

**Dénaturation
thermique**

Chromatographie
d'échantillons
chauffés
à 100 °C
pendant
des temps
variables.



BUS
LILLE

Figure 16.

Etude chromatographique de la cinétique de dénaturation
à 100°C.

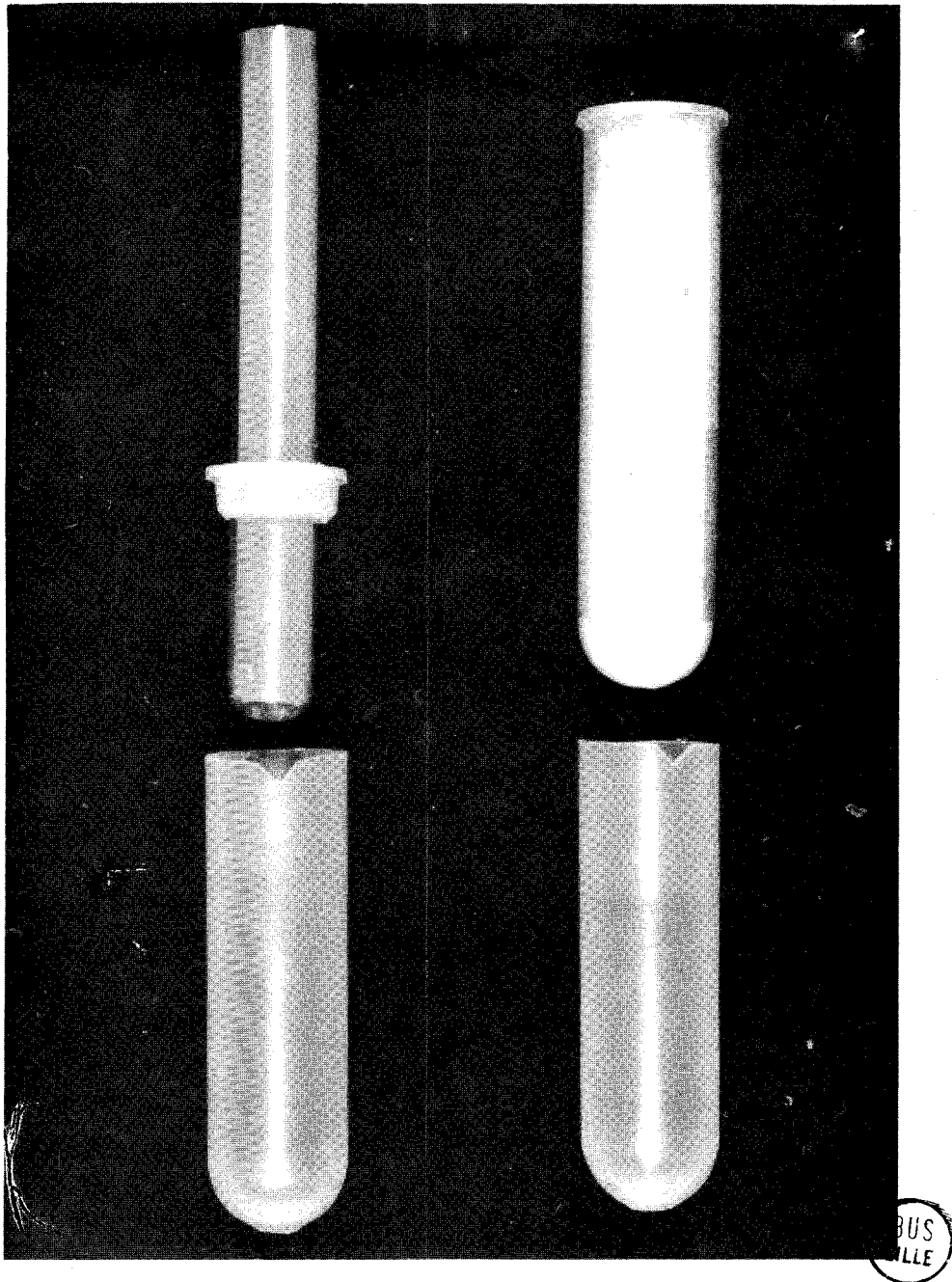


Photo 1.

Colonnes utilisées pour la chromatographie centrifugée.

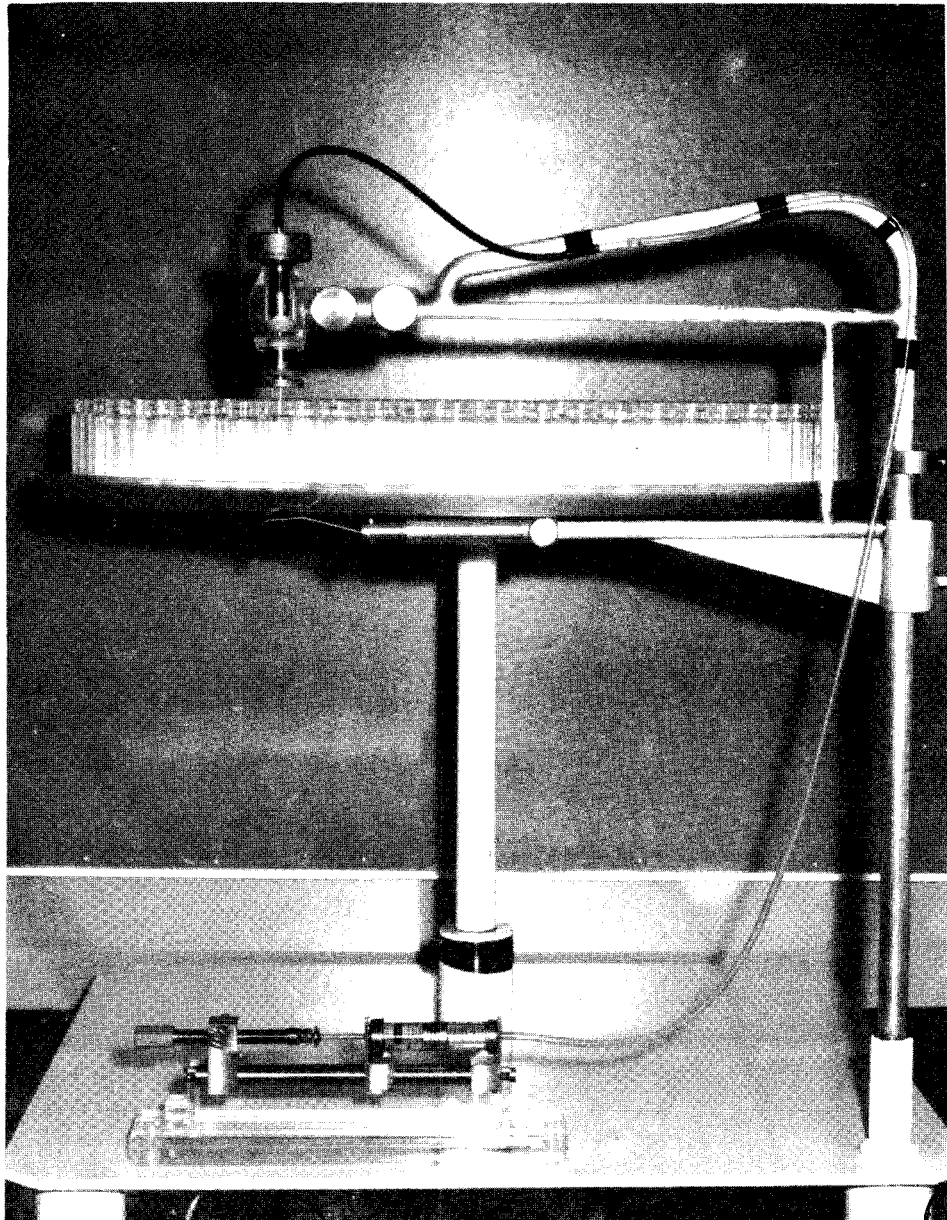


Photo 2.

Dispositif de fractionnement après ultracentrifugation.

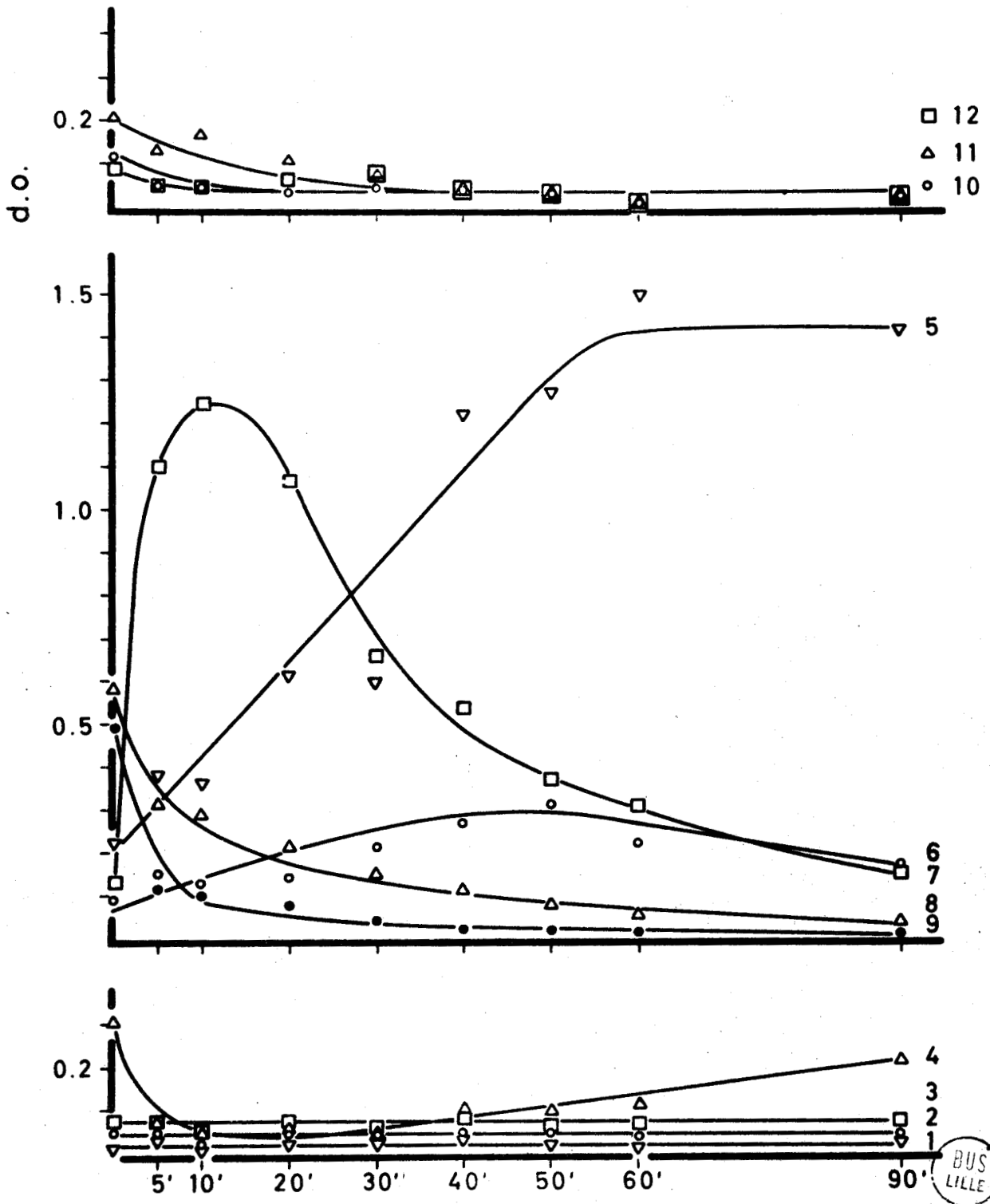


Figure 17.

Etude chromatographique de la cinétique de dénaturation à 100°C.
Mouvements des différentes fractions.

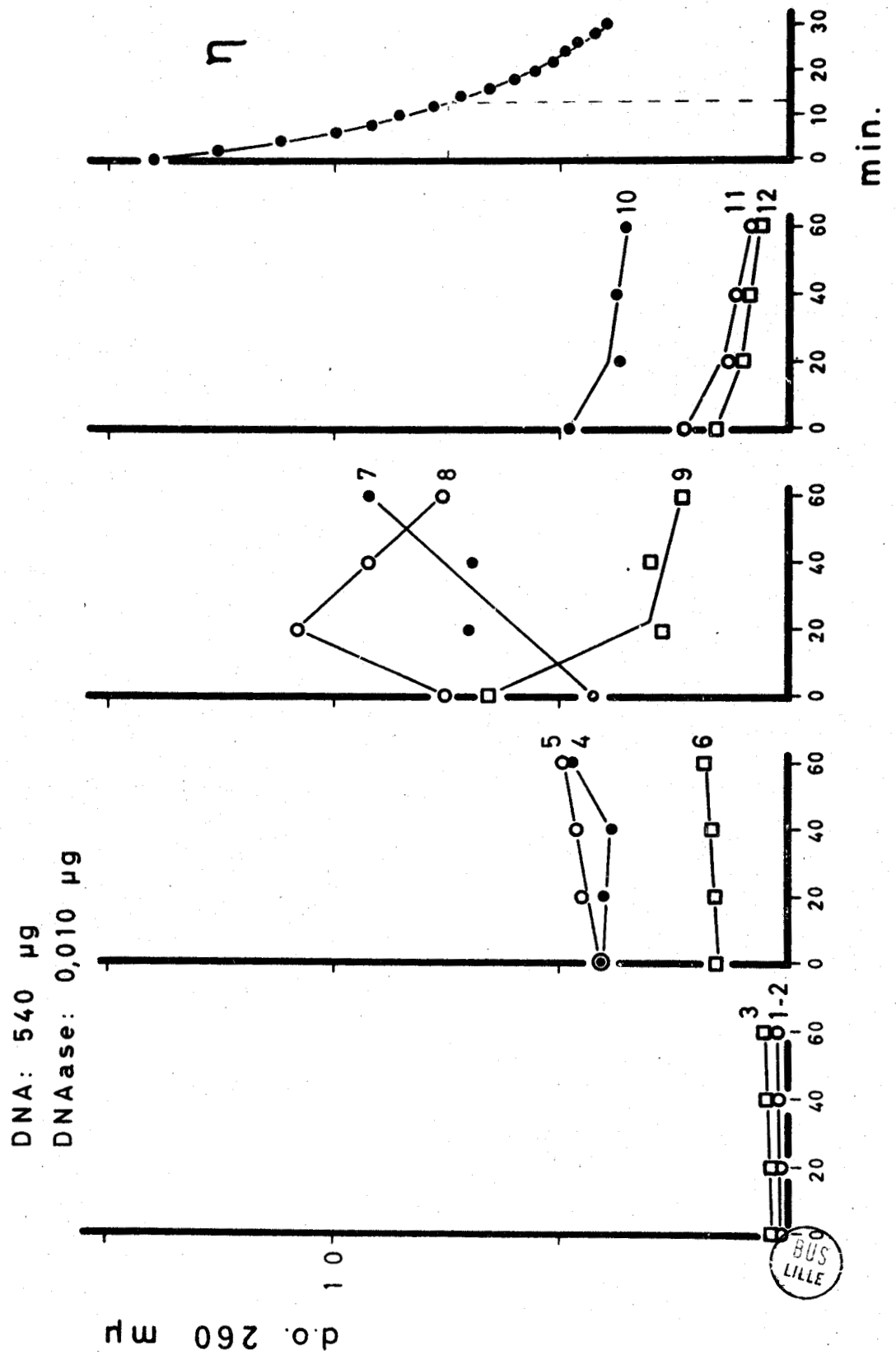


Figure 18.

Cinétique de l'action de la DNase - Etude chromatographique
Technique avec 12 éluants.

Injection: 10 μg .

DNA- ^3H E. COLI

Act. spécif.: $2 \cdot 10^6$ dpm / μg .

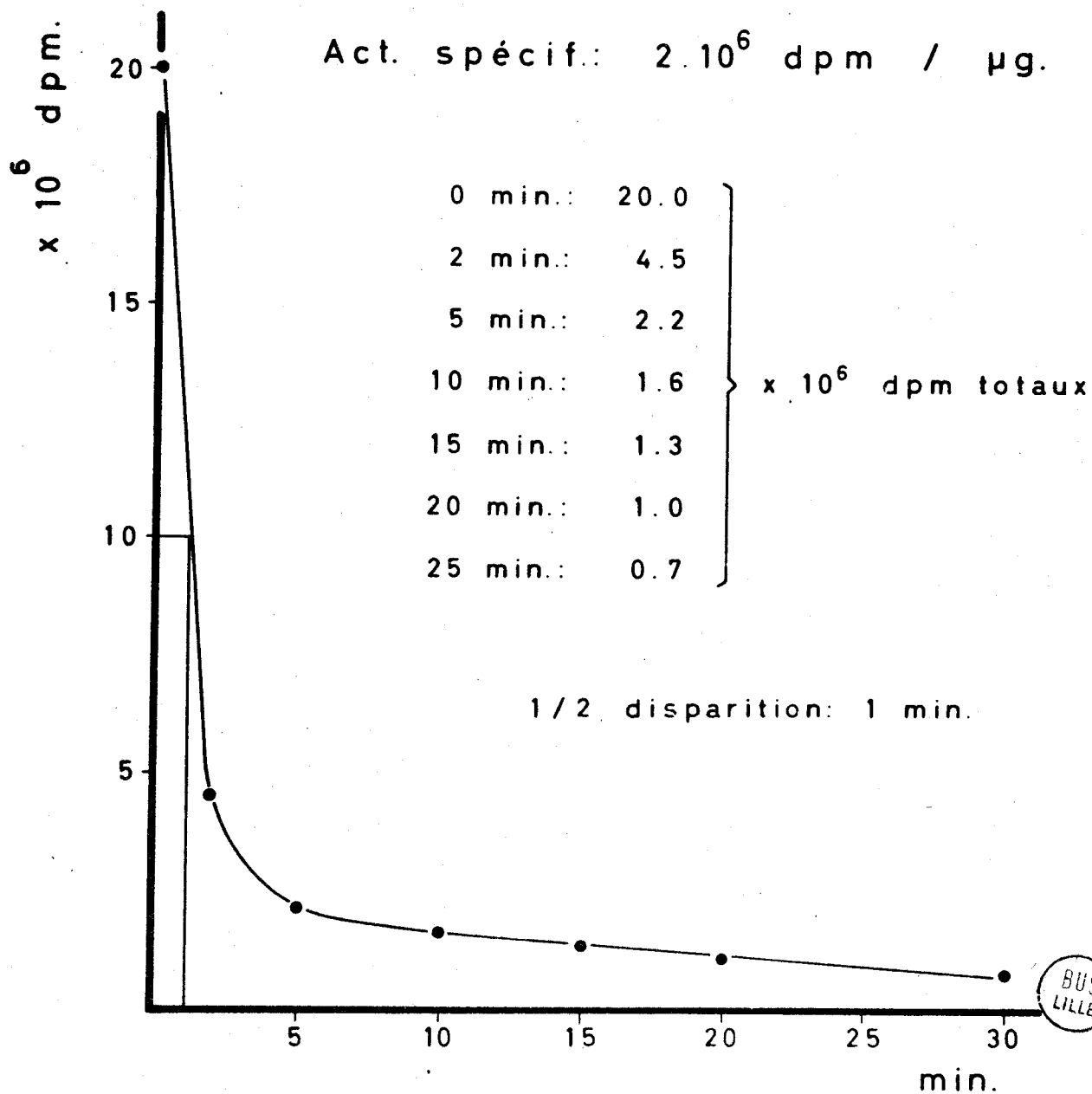


Figure 20.

Cinétique de la disparition de la radioactivité dans le sang après injection intraveineuse de DNA- ^3H .

Injection 20 μg .
 DNA- ^3H B. Prodigiosus.
 Act. spécif.: 40.000 dpm / μg

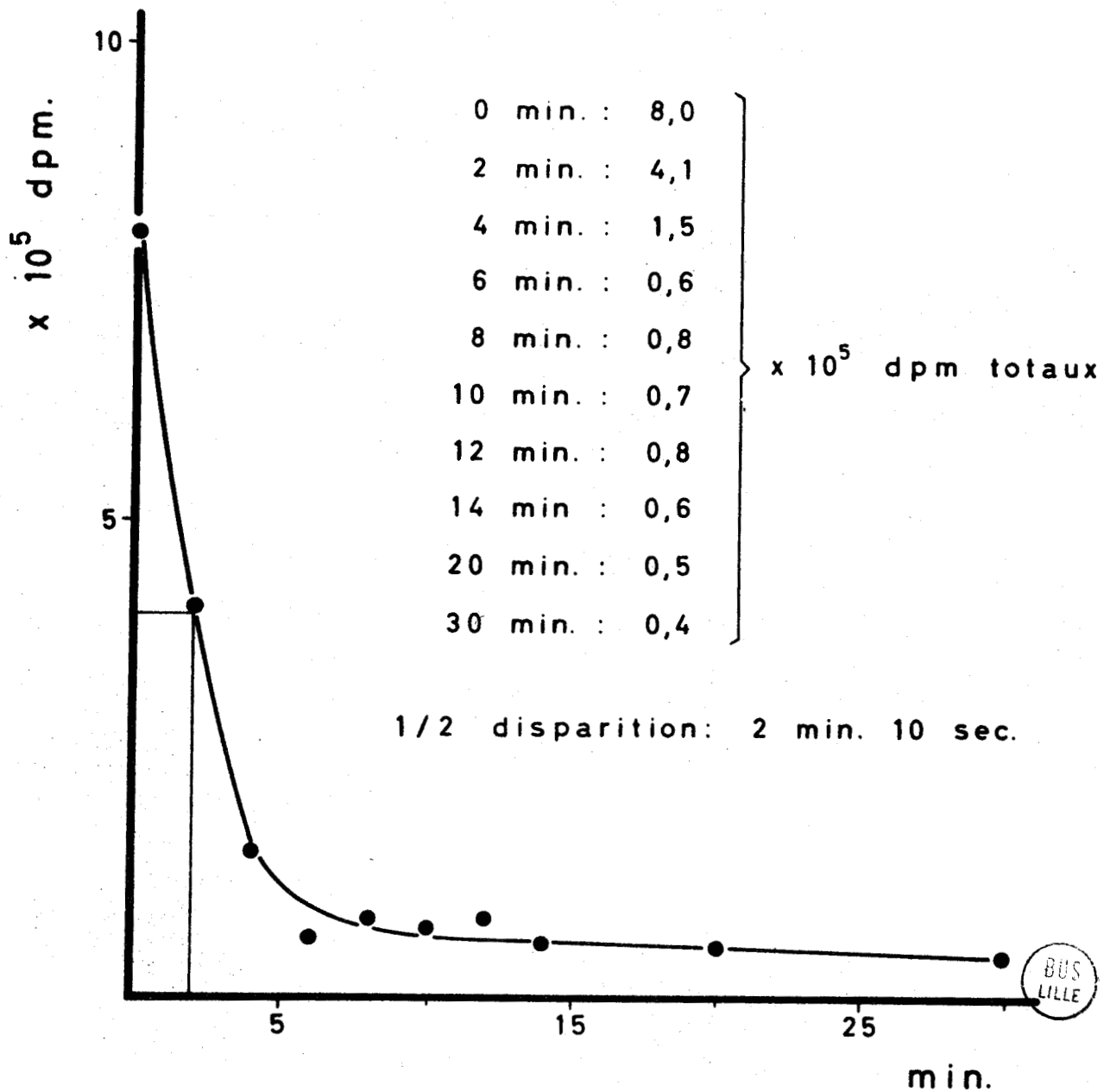


Figure 21.

Cinétique de la disparition de la radioactivité dans
 le sang après injection intraveineuse de DNA- ^3H .

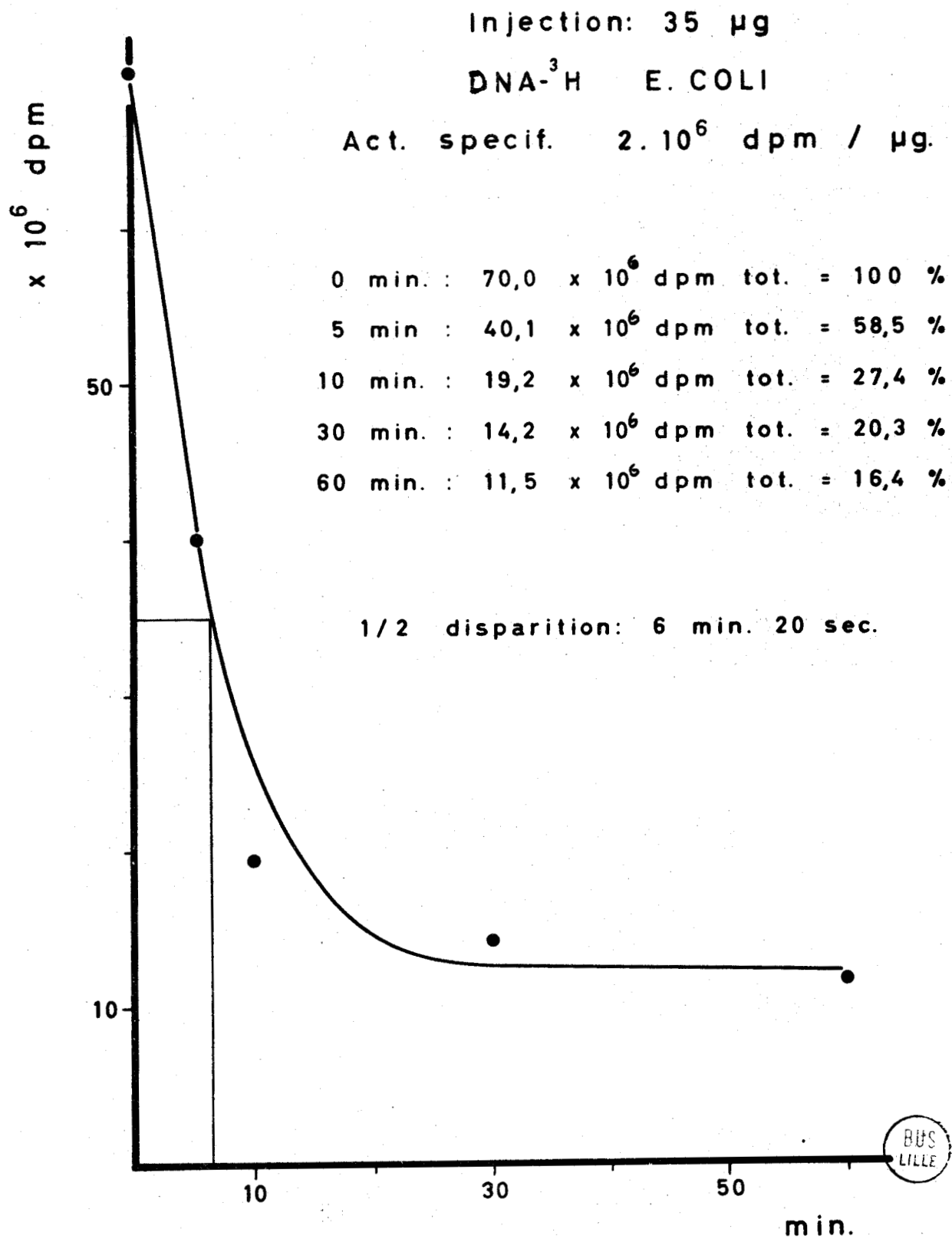


Figure 22.

Cinétique de la disparition de la radioactivité dans
le sang après injection intraveineuse de DNA-³H.

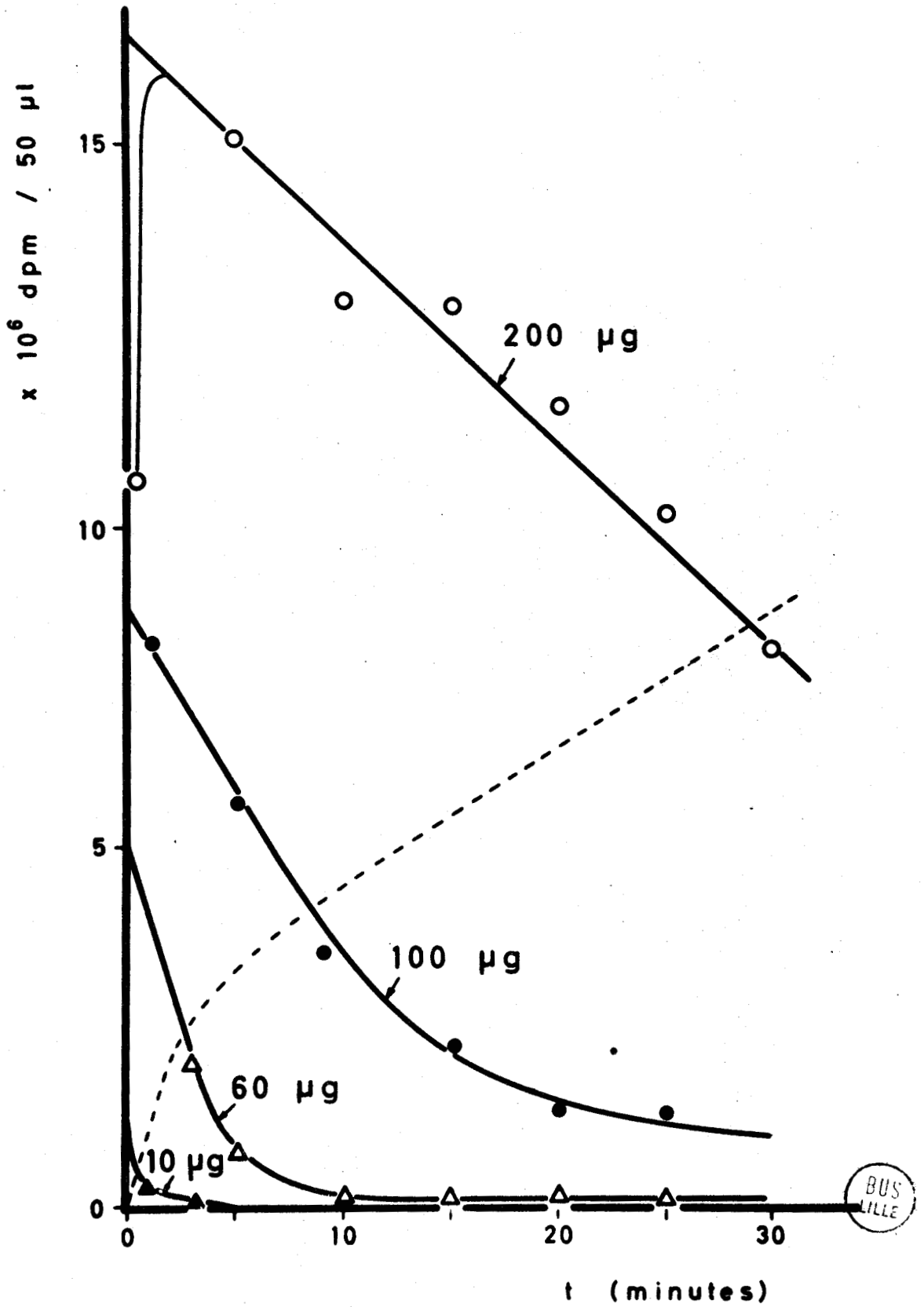


Figure 23.

Etude de la disparition de la radioactivité en fonction de la quantité de DNA-³H injectée.

(- - - - - courbe de demi-disparition).

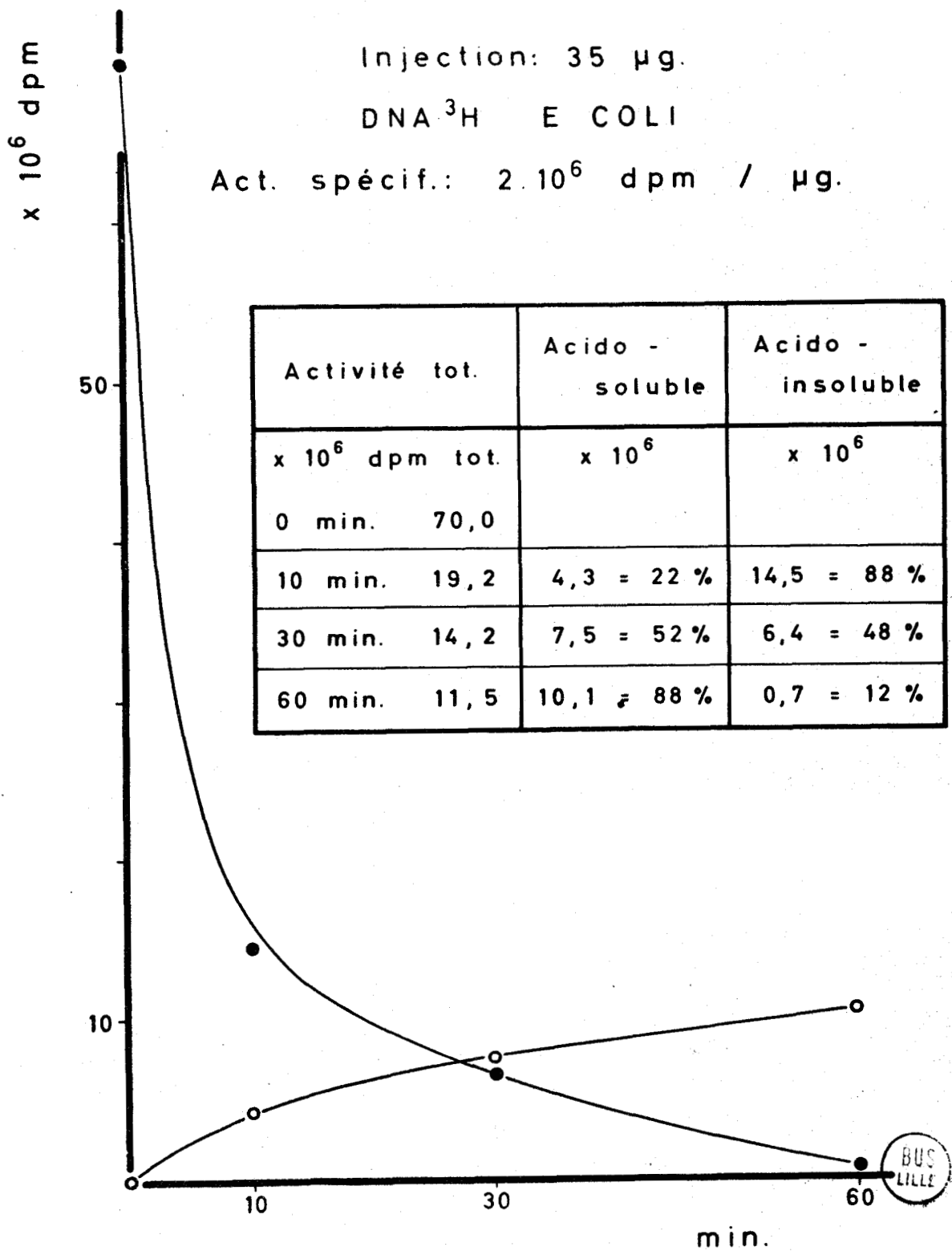


Figure 24.

Cinétique de la disparition de la radioactivité dans le sang après injection intraveineuse de DNA-³H.

- radioactivité acido-insoluble
- radioactivité acido-soluble.

Cinétique de la disparition
de la THYMIDINE - ³H
du sang circulant

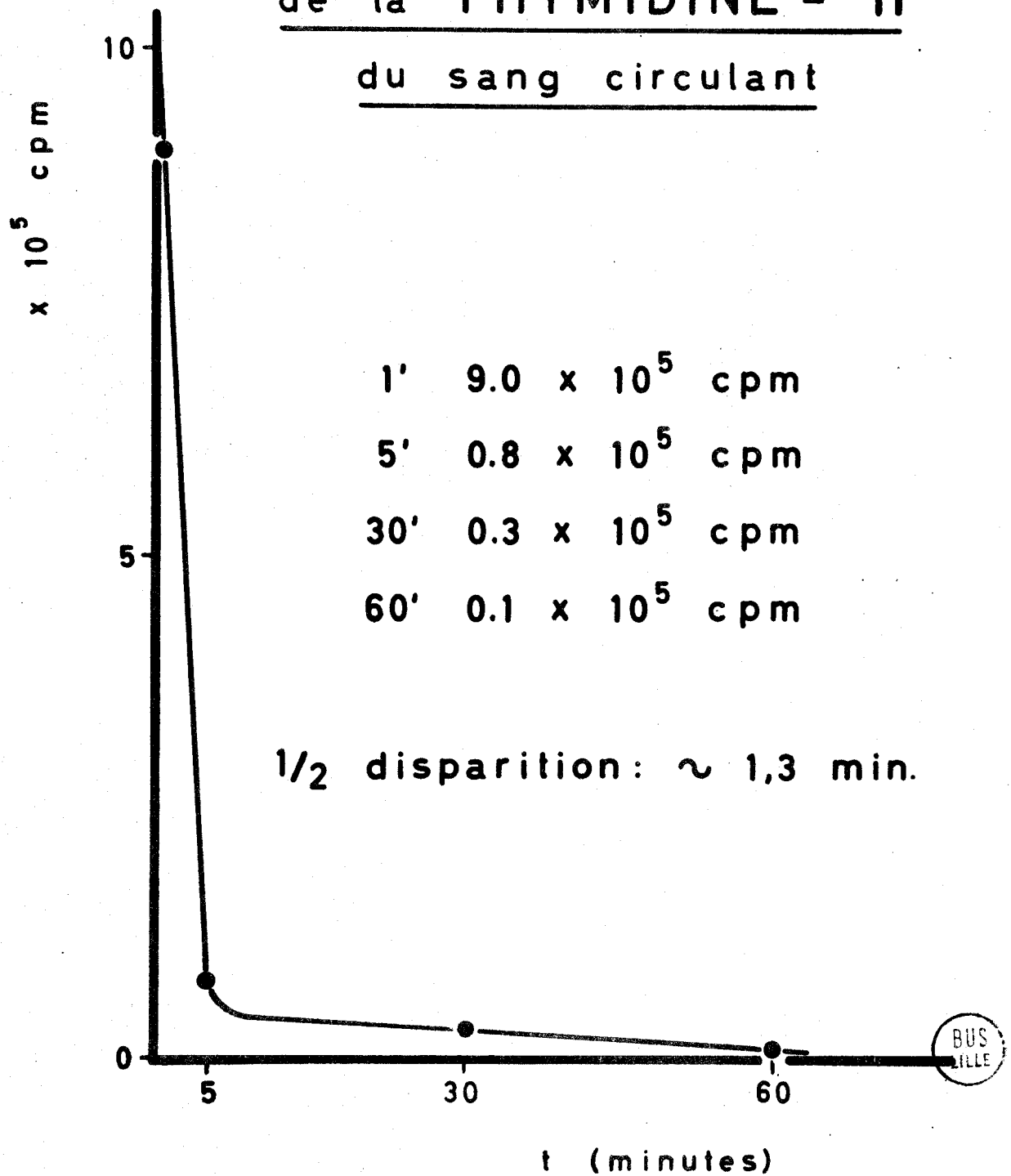


Figure 25.

Cinétique de la disparition de la radioactivité dans
le sang après injection de thymidine-³H.

Schmidt - Thannhauser

Temps	Constituants acido-solubles		Constituants acido-insolubles	
	0 min.	1650	1,8 %	88.370
5 min.	1780	1,9 %	89.800	98,1 %
10 min.	1930	2,1 %	91.530	97,9 %
20 min.	1850	2,0 %	91.610	98,0 %
40 min.	2010	2,2 %	88.480	97,8 %
60 min.	1980	2,2 %	88.840	97,8 %

Chromatographie

Fractions Temps	1	2	3	4	5	6
0 min.	400	260	1020	32.600	43.400	14.000
5 min.	590	420	800	34.900	44.100	10.100
10 min.	690	360	910	38.800	44.600	11.400
20 min.	510	300	940	37.500	43.000	10.000
40 min.	480	450	1050	40.700	39.000	9000
60 min.	660	340	1100	44.500	39.000	7500

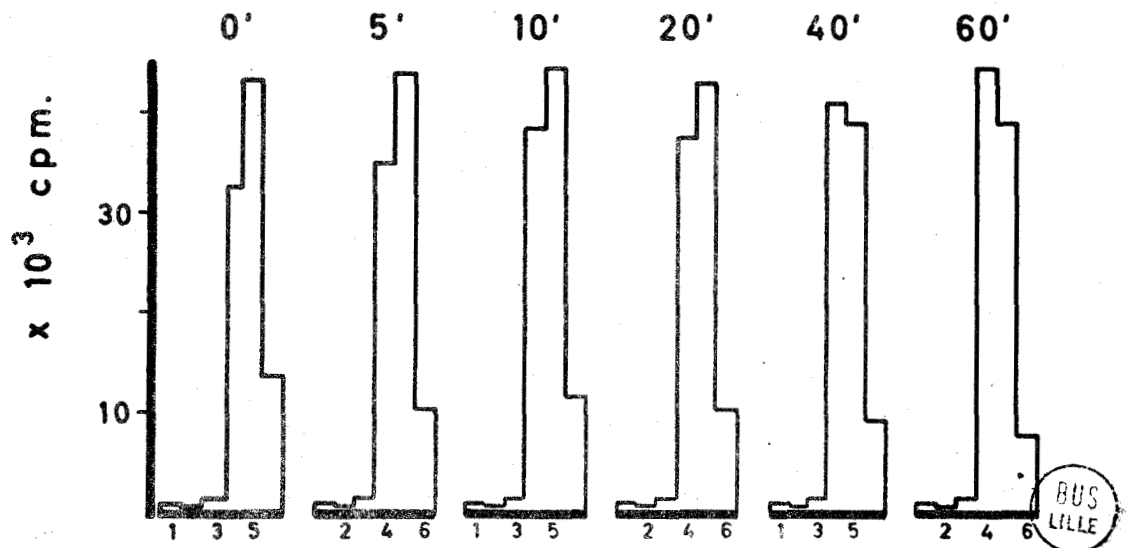


Figure 26.

Etude chimique et chromatographique du sang incubé
in vitro en présence de DNA- 3 H.

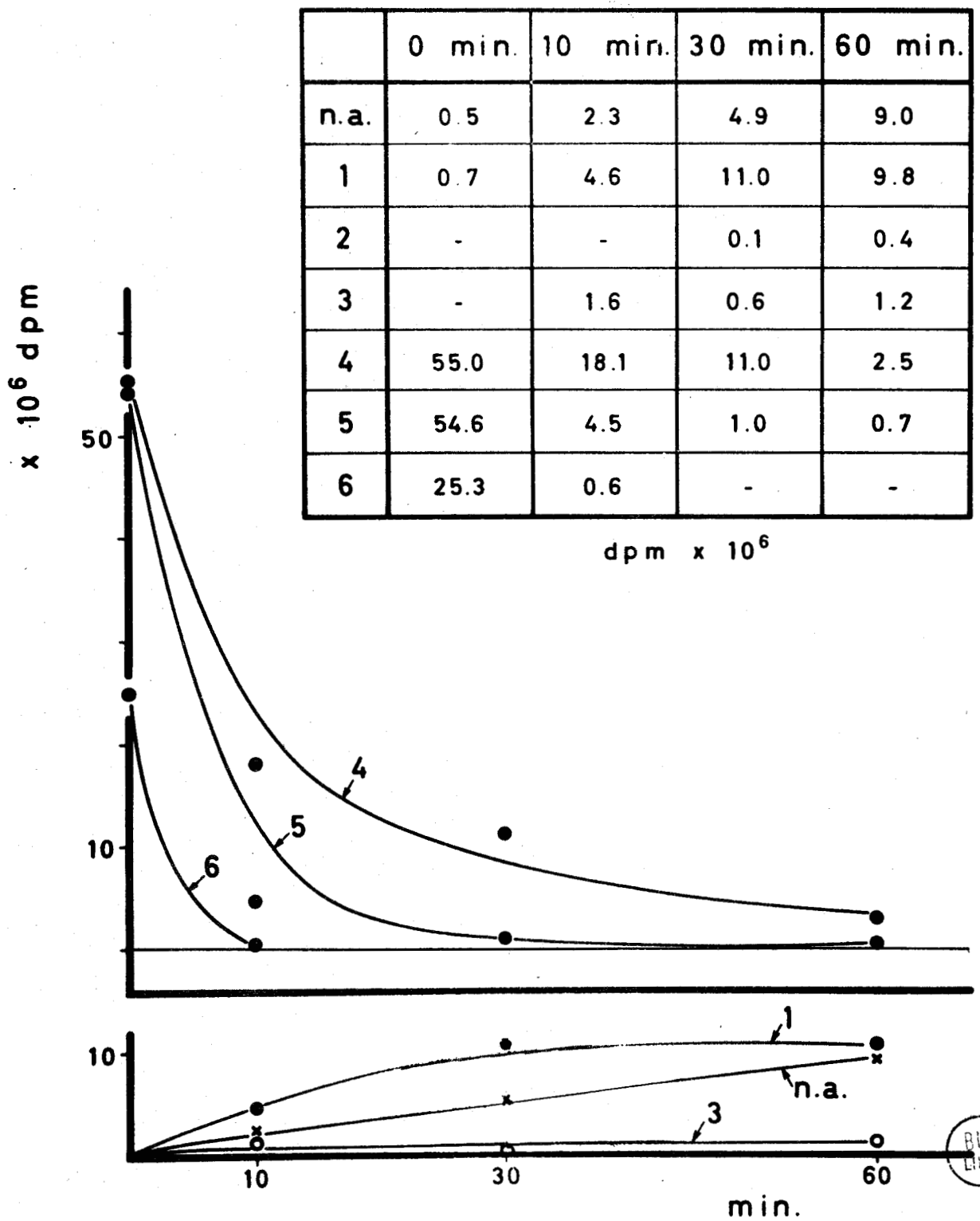


Figure 31.

Etude chromatographique de la disparition de la radioactivité dans le sang après injection intraveineuse de DNA-³H.

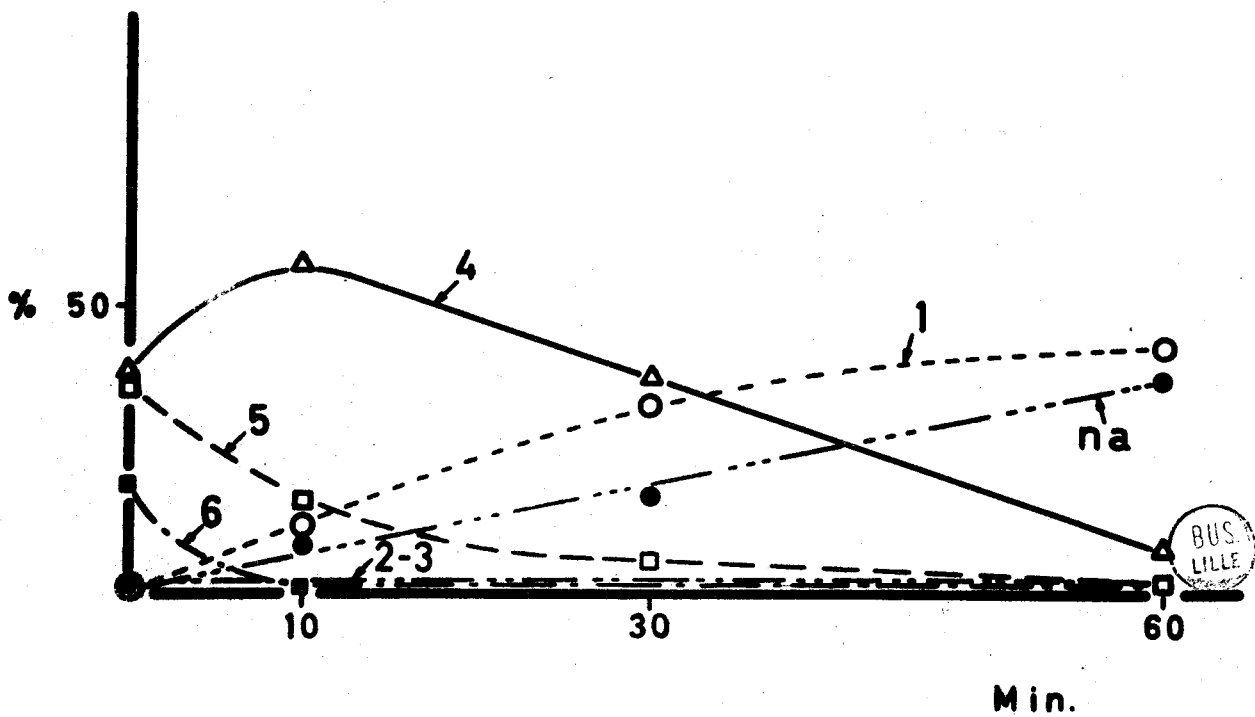
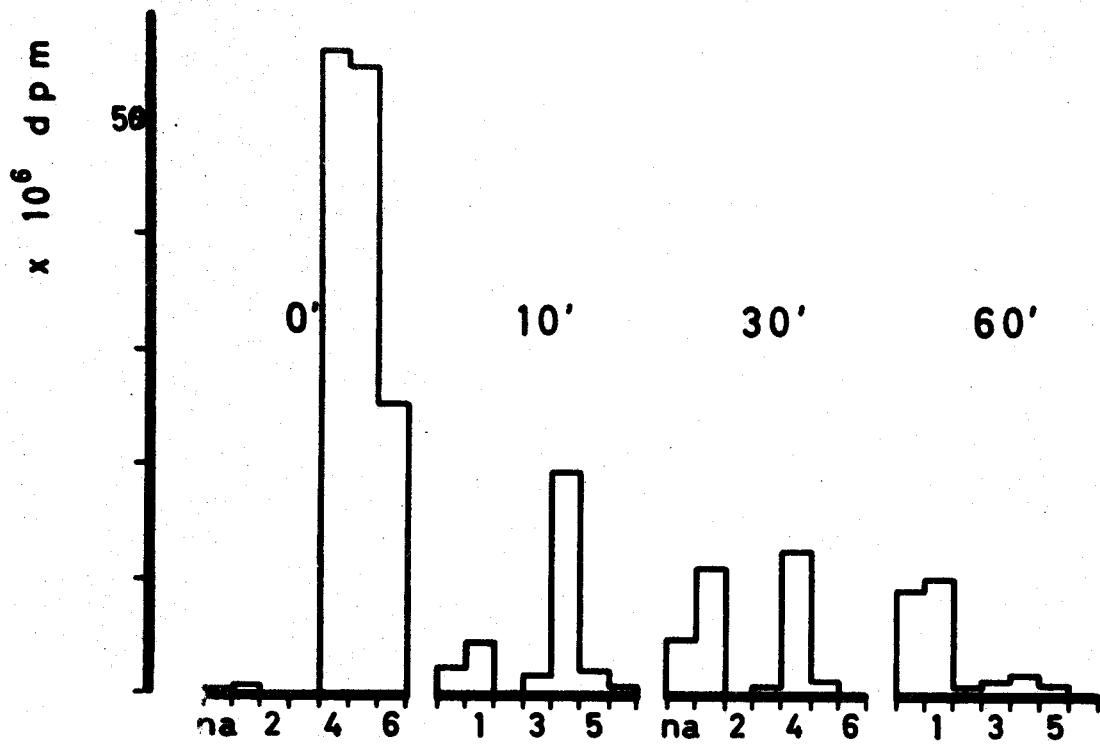


Figure 32.

Etude de la disparition des différentes fractions de DNA-³H du sang.

Injection: 60 μg DNA- ^3H
 Act. spécif.: 230.000 dpm / μg .
 Prises de sang après 5-10-30-60 min.
 (3 souris par temps)

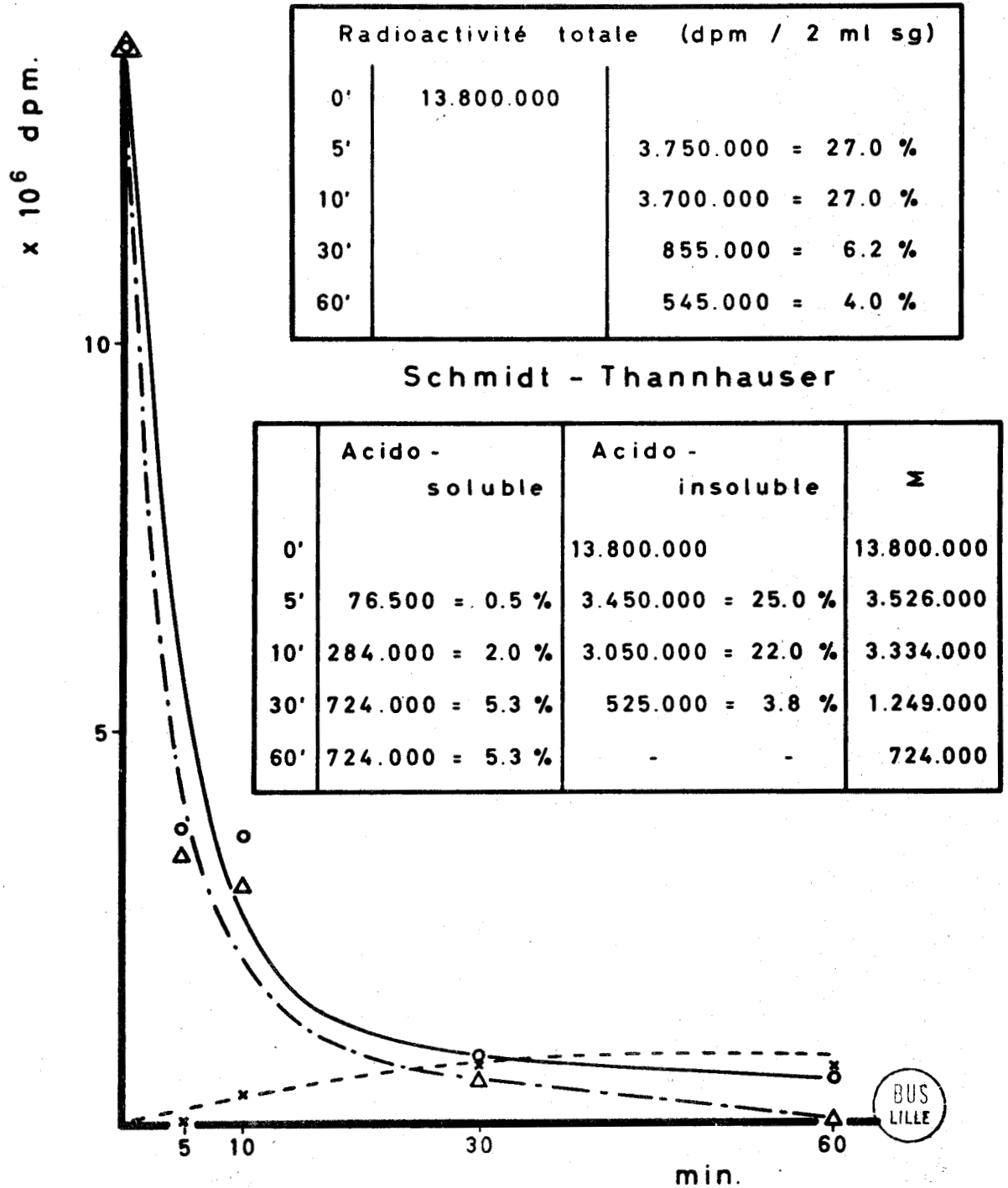


Figure 33.

Cinétique de la disparition de la radioactivité dans le sang après injection intraveineuse de DNA- ^3H .

- o radioactivité totale
- Δ radioactivité acido-insoluble
- x radioactivité acido-soluble

Temps de demi-disparition : environ 4 minutes.

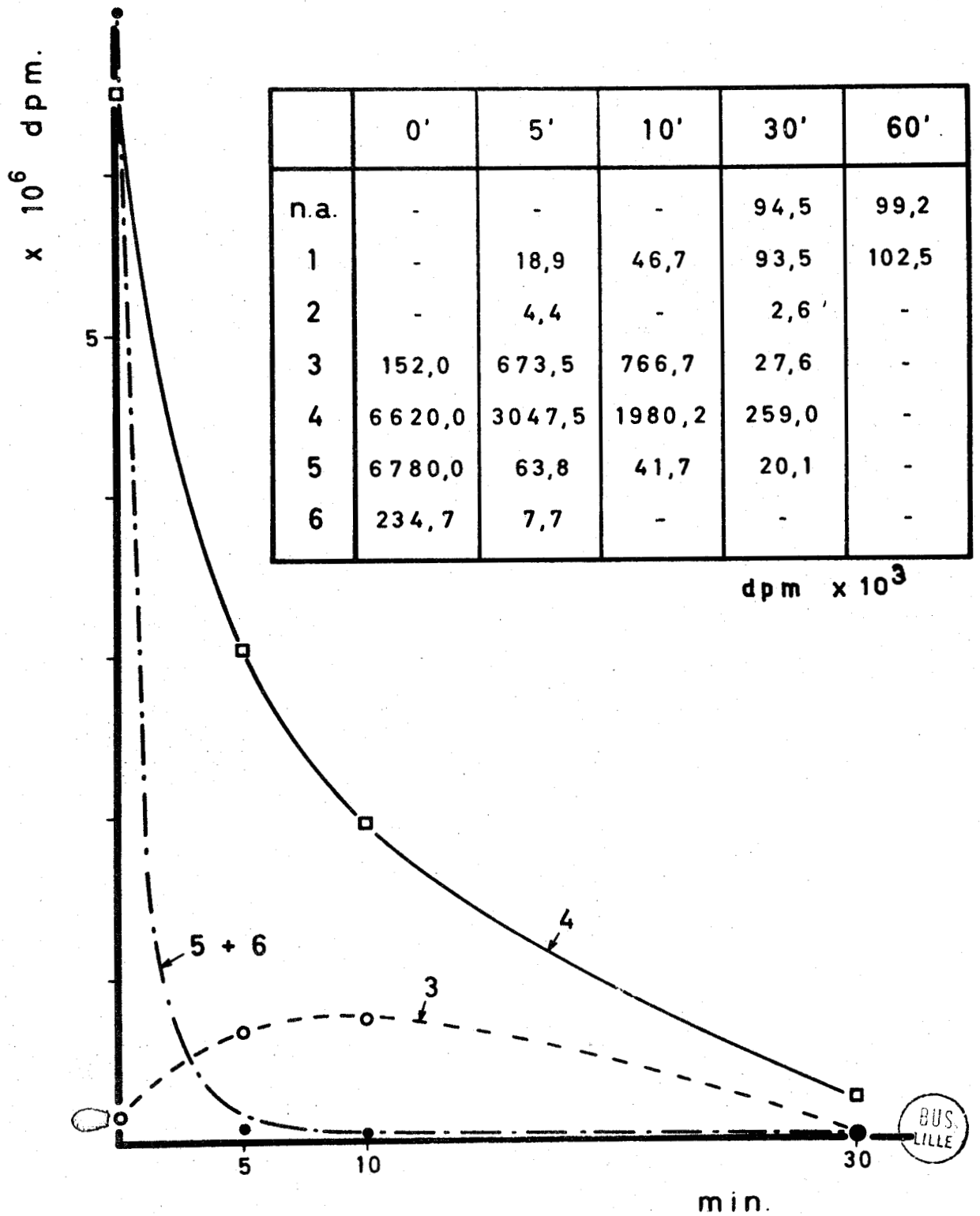


Figure 34.

Cinétique de la disparition des différentes fractions
de DNA-³H du sang.

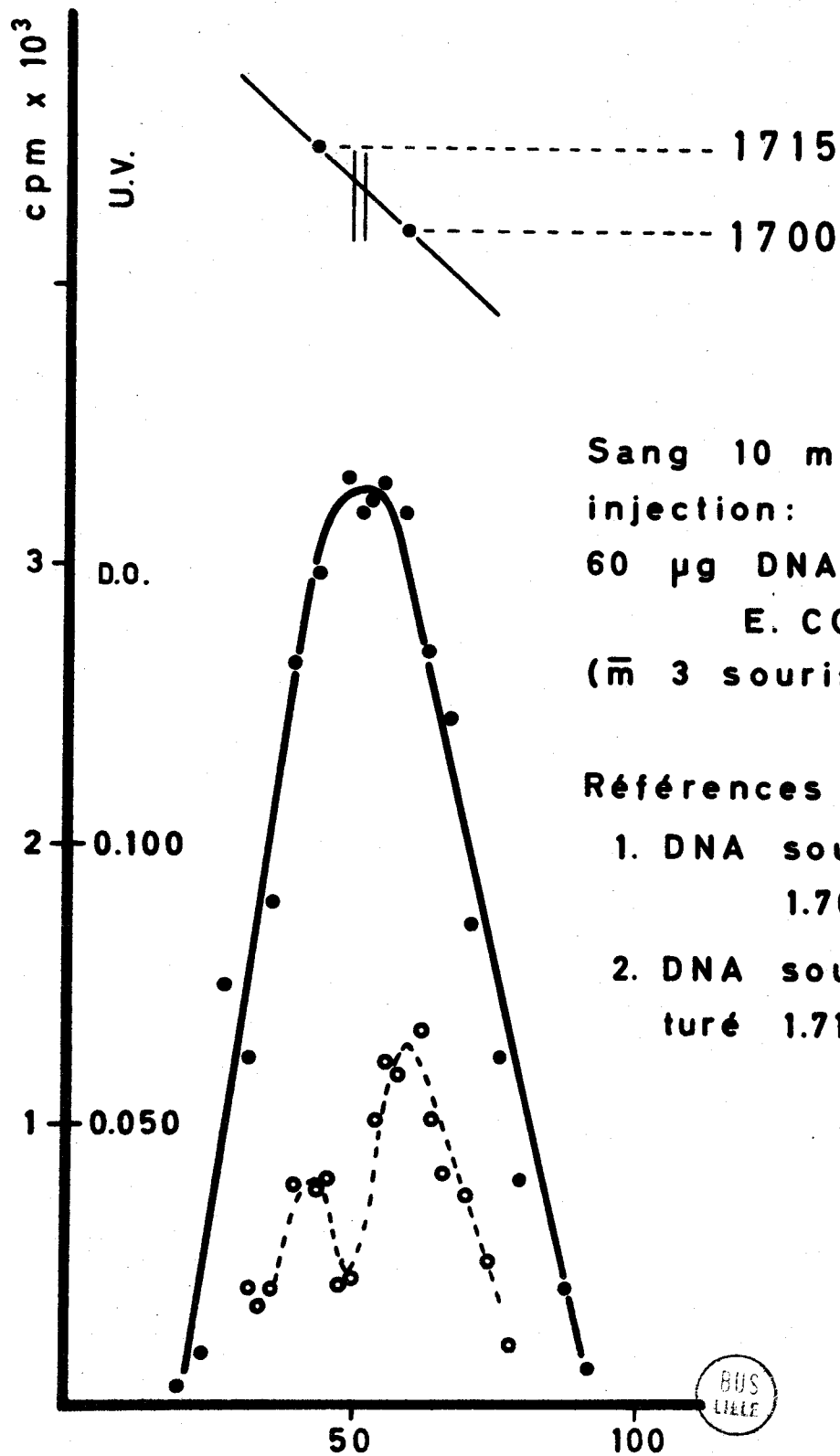


Figure 36.

Diagramme d'ultracentrifugation en gradient de CsCl d'un échantillon de sang prélevé 10 minutes après l'injection de DNA- ^3H .

- densité optique
- radioactivité

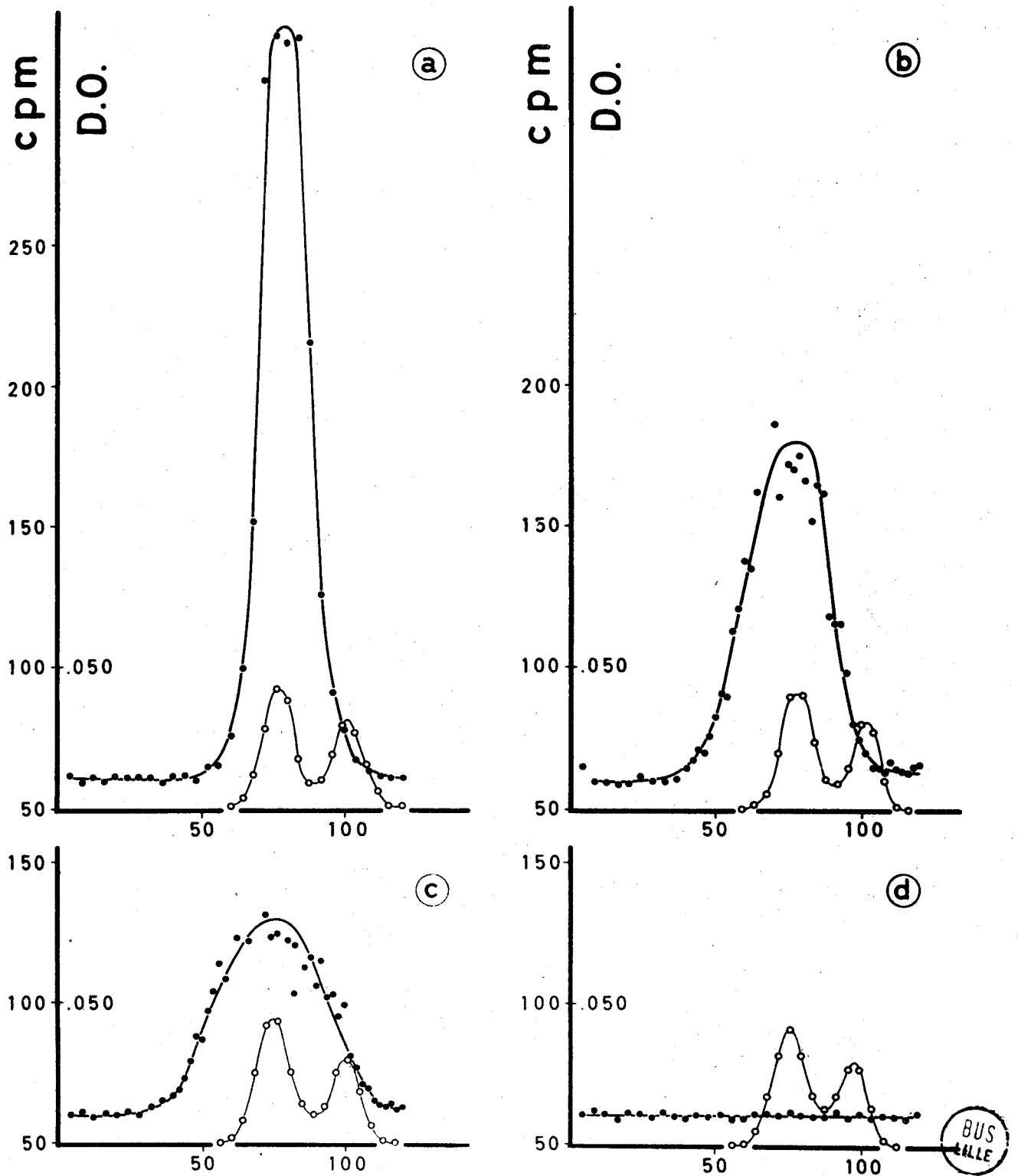
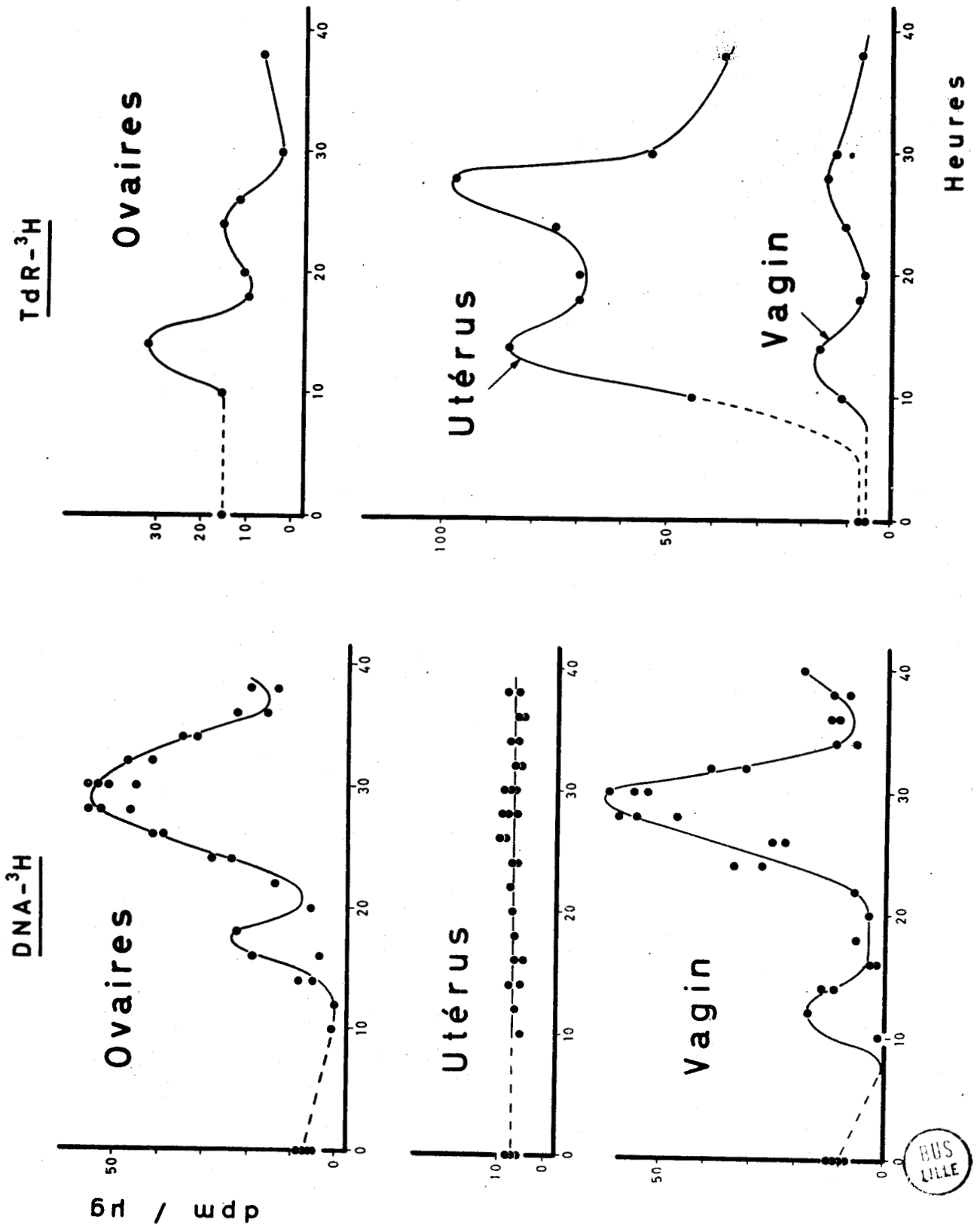


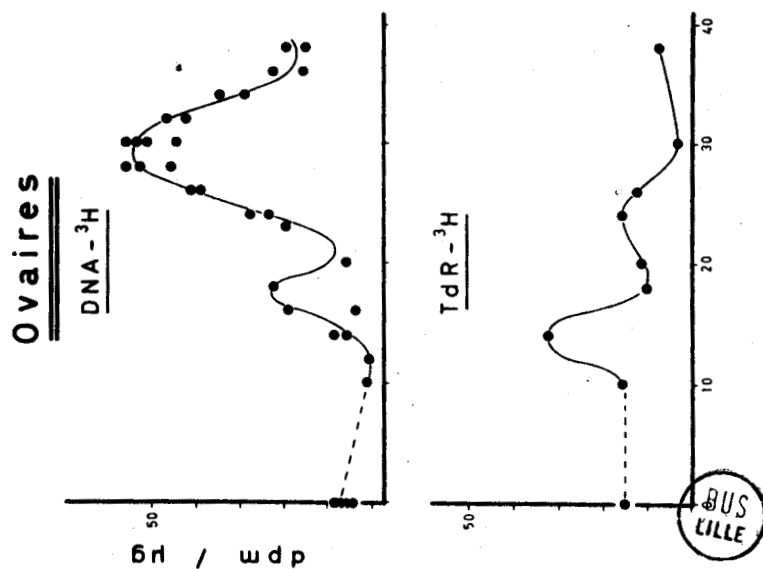
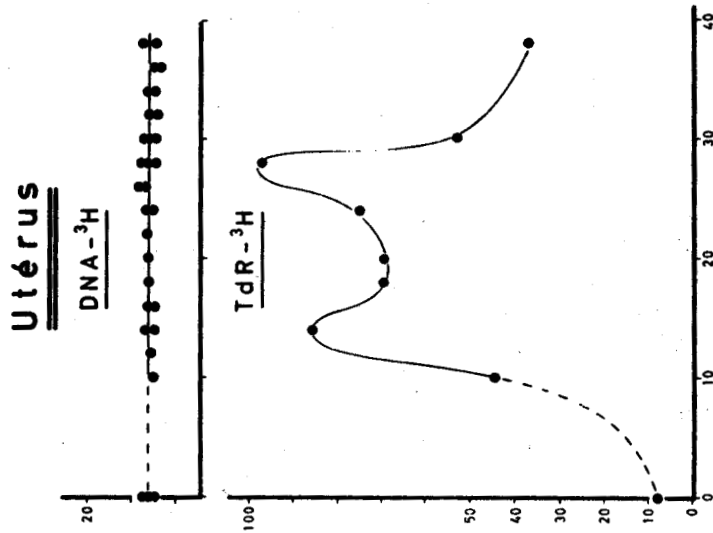
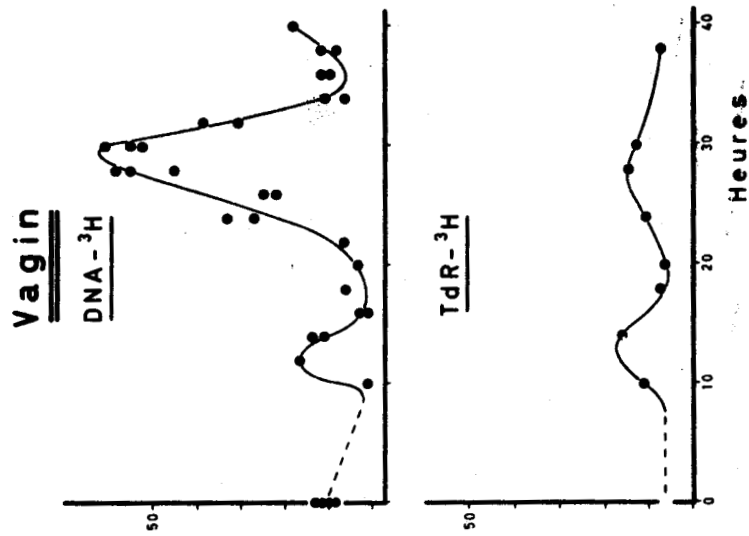
Figure 37.

Diagramme d'ultracentrifugation en gradient de CsCl d'échantillons de sang prélevés à 0 (a), 5 (b), 10 (c) et 30 minutes après l'injection de DNA-³H. o densité optique (références: DNA de souris et de M. lysodeikticus)
 ● radioactivité.



Figures 40 et 41.

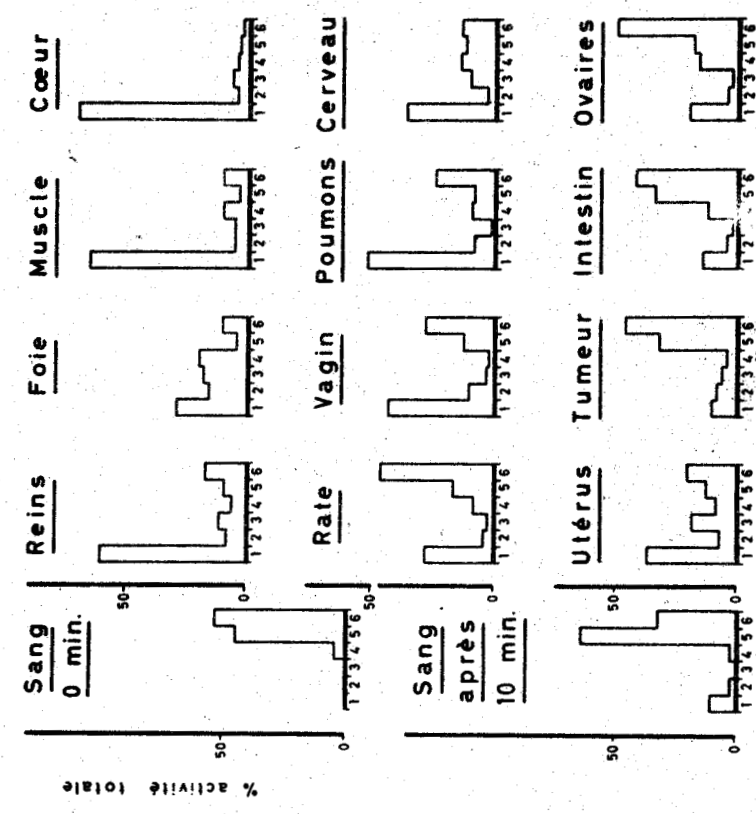
Radioactivité spécifique du DNA des organes génitaux de souris impubères injectées de benzoate d'oestradiol au temps 0 et de DNA-³H ou de TdR-³H aux temps indiqués en abscisse.



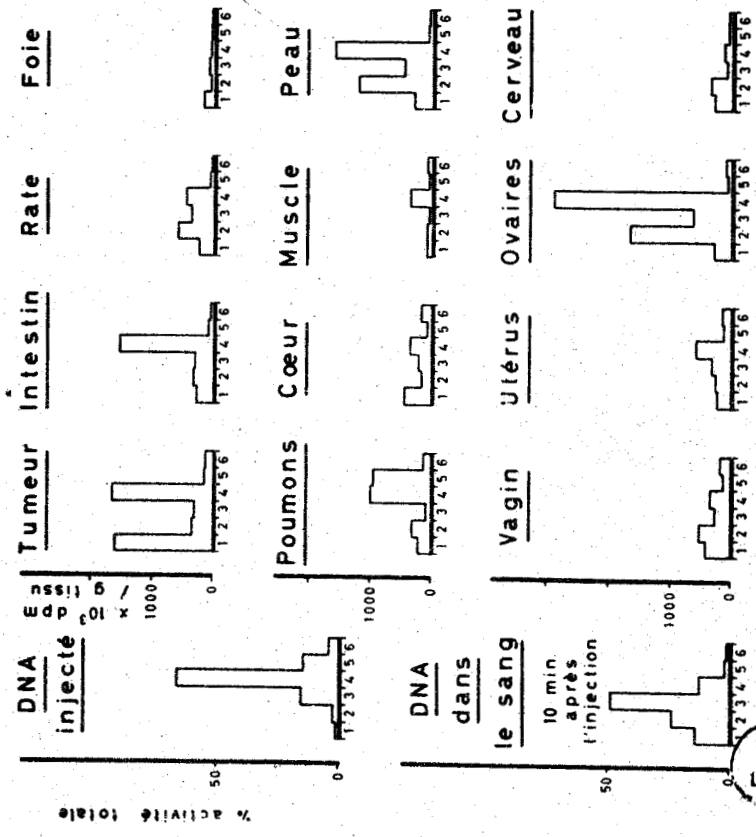
Figures 42 - 43 - 44.

Radioactivité spécifique du DNA des organes génitaux de souris impubères injectées de benzoate d'oestradiol au temps 0 et de DNA-³H ou de TdR-³H aux temps indiqués en abscisse.

47



46



BUS LILLE

Figures 46 et 47.

Diagrammes de chromatographie du DNA de différents organes ou tissus de souris injectées de DNA-³H et sacrifiées 10 minutes après l'injection.

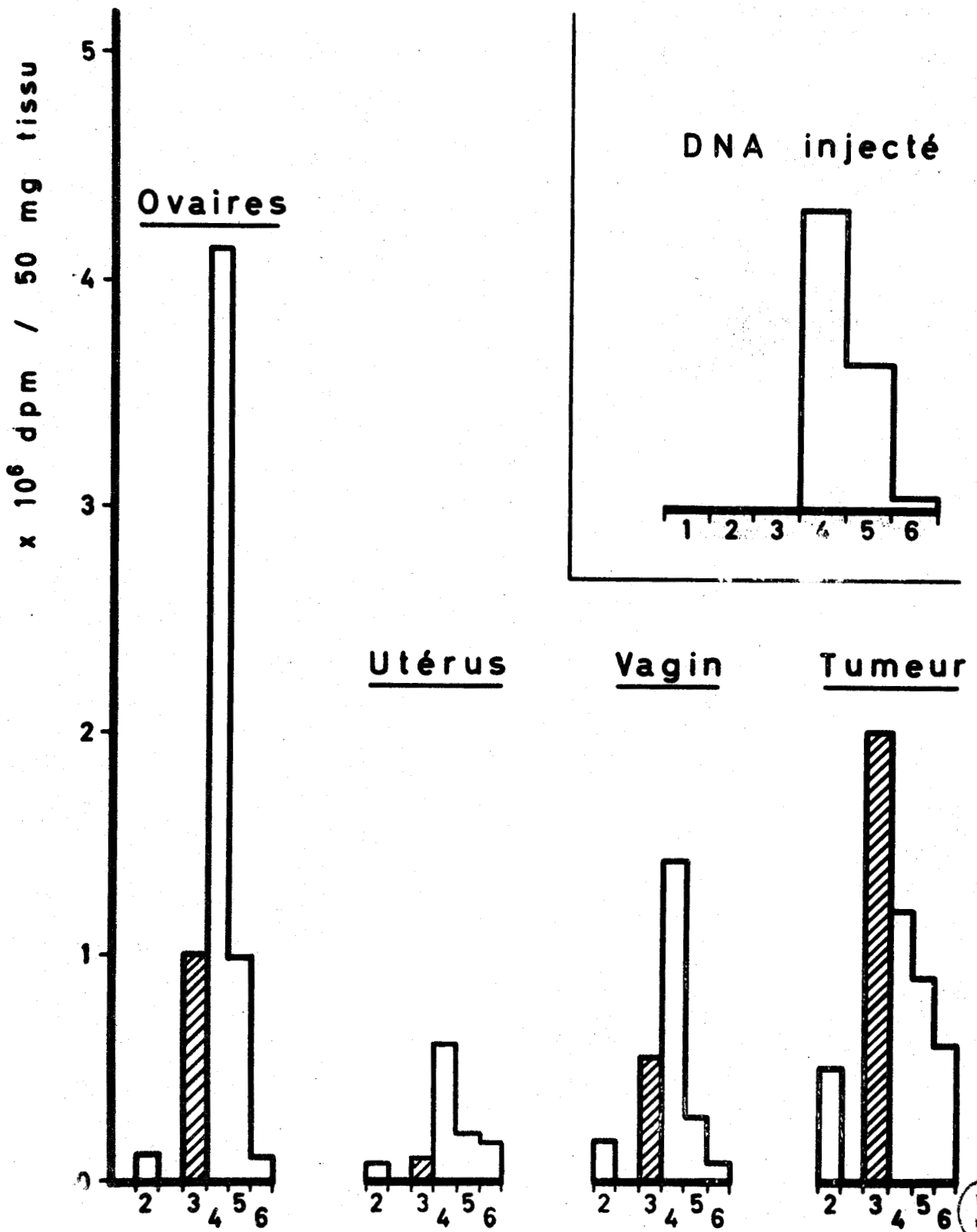
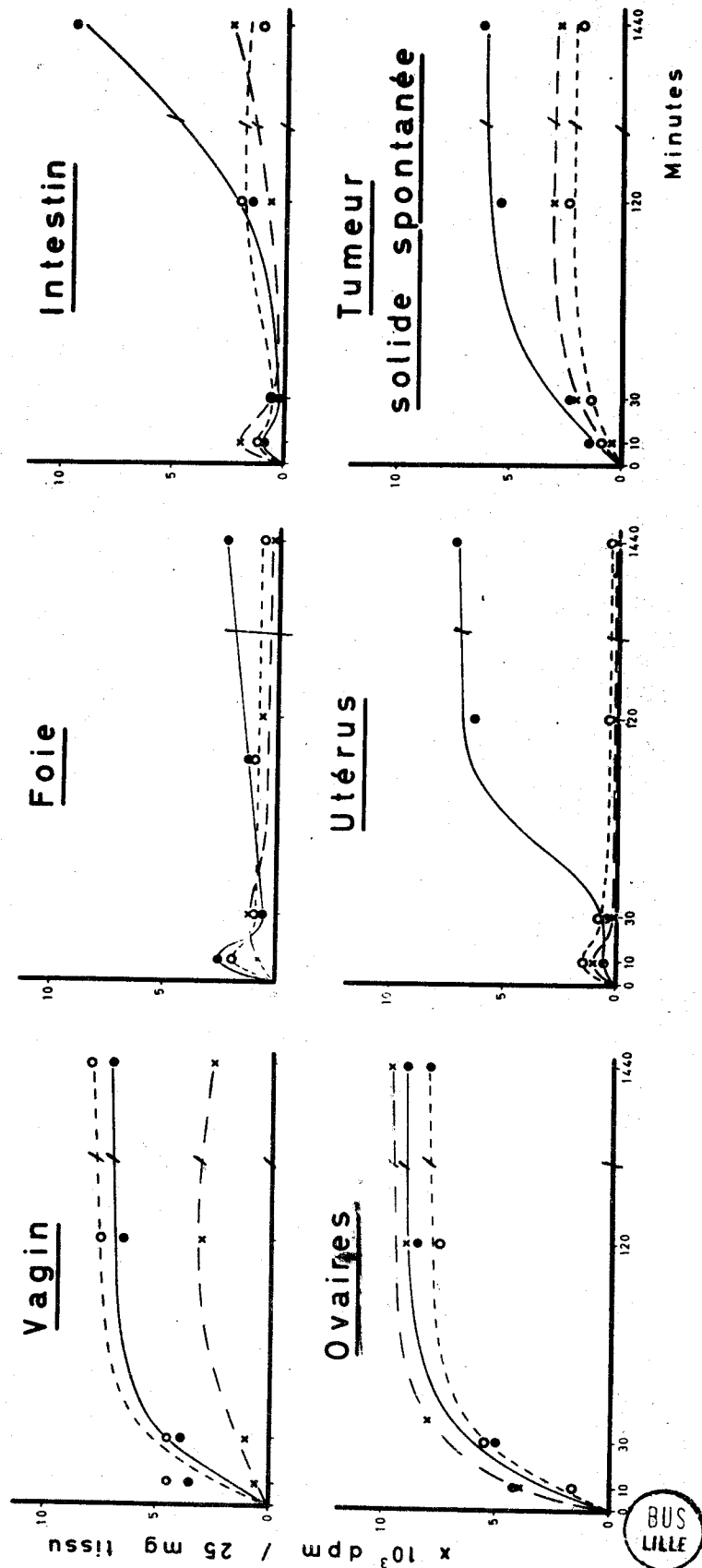


Figure 48.

Diagrammes de chromatographie du DNA de différents organes ou tissus de souris injectées de DNA-³H et sacrifiées 30 minutes après l'injection.

BUS
LILLE

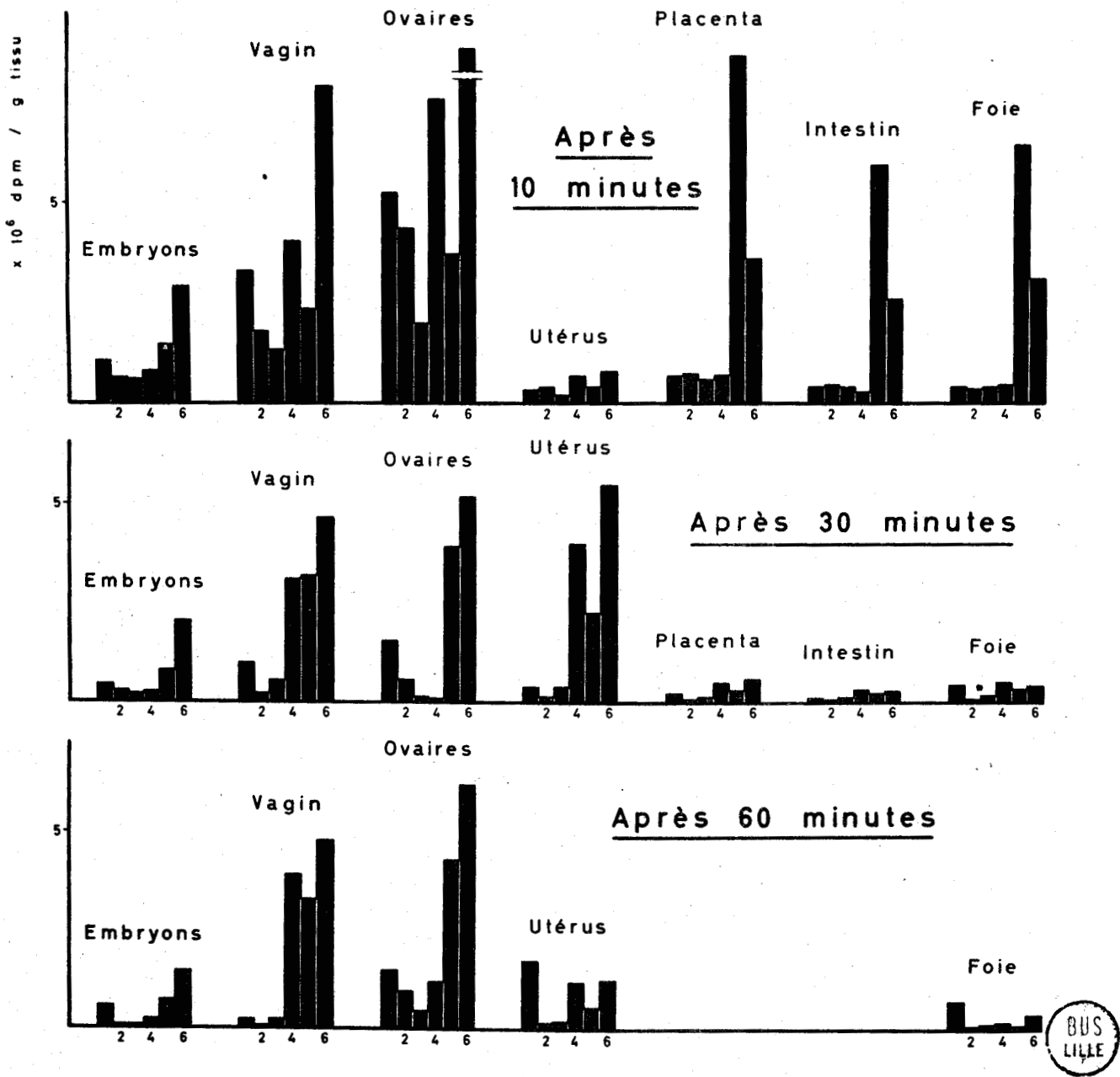


BUS
LILLE

Figures 50 - 51 - 52.

Etude chromatographique du DNA de différents organes de souris injectées de DNA-³H et sacrifiées aux temps indiqués en abscisse.

- fraction 6
- fraction 5
- x fraction 4



Figures 53 - 54 - 55.

Etude chromatographique du DNA de différents organes ou tissus de souris injectées de DNA-³H et sacrifiées 10, 30 ou 60 minutes après l'injection.

Embryons

Thymidine - ^3H

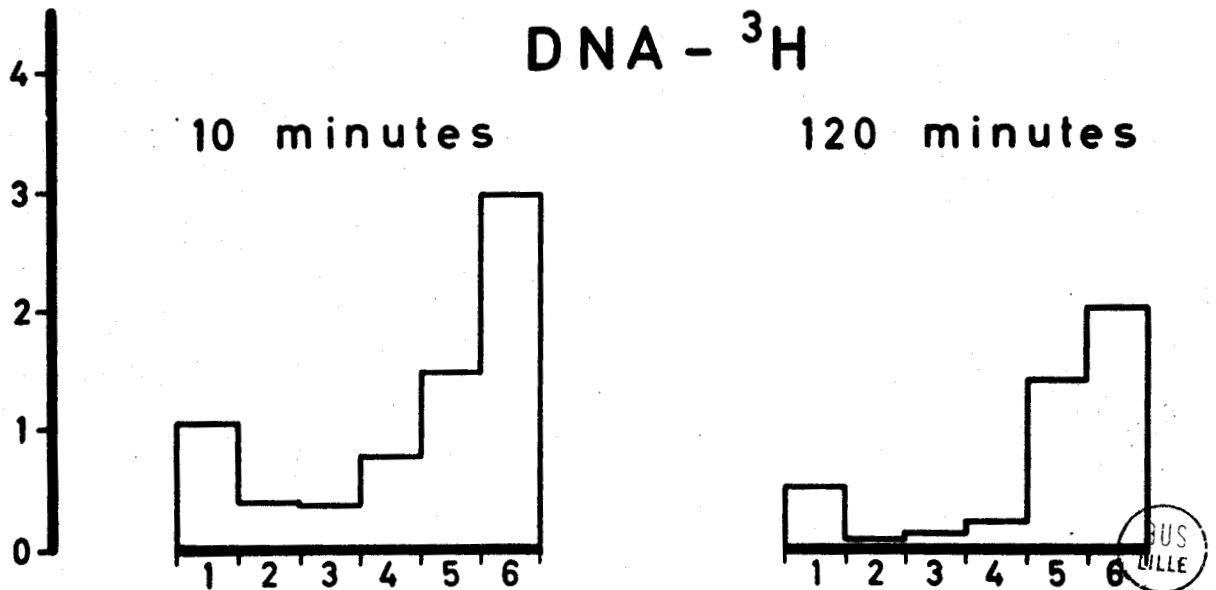
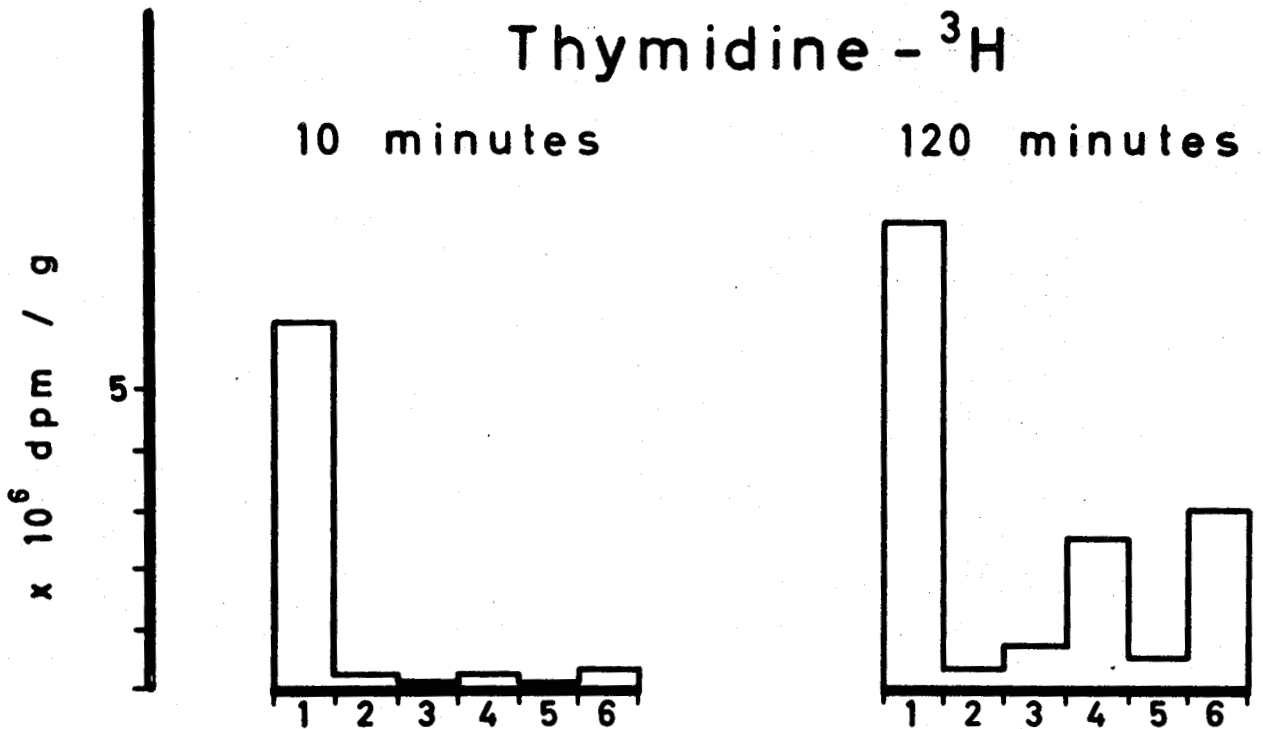
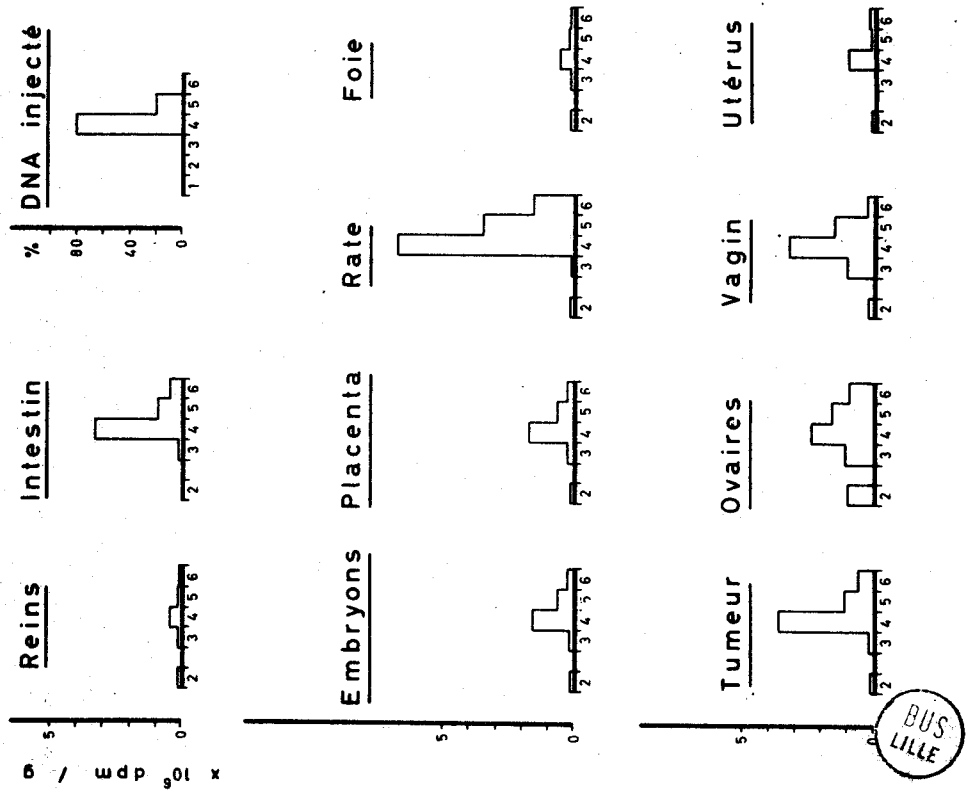


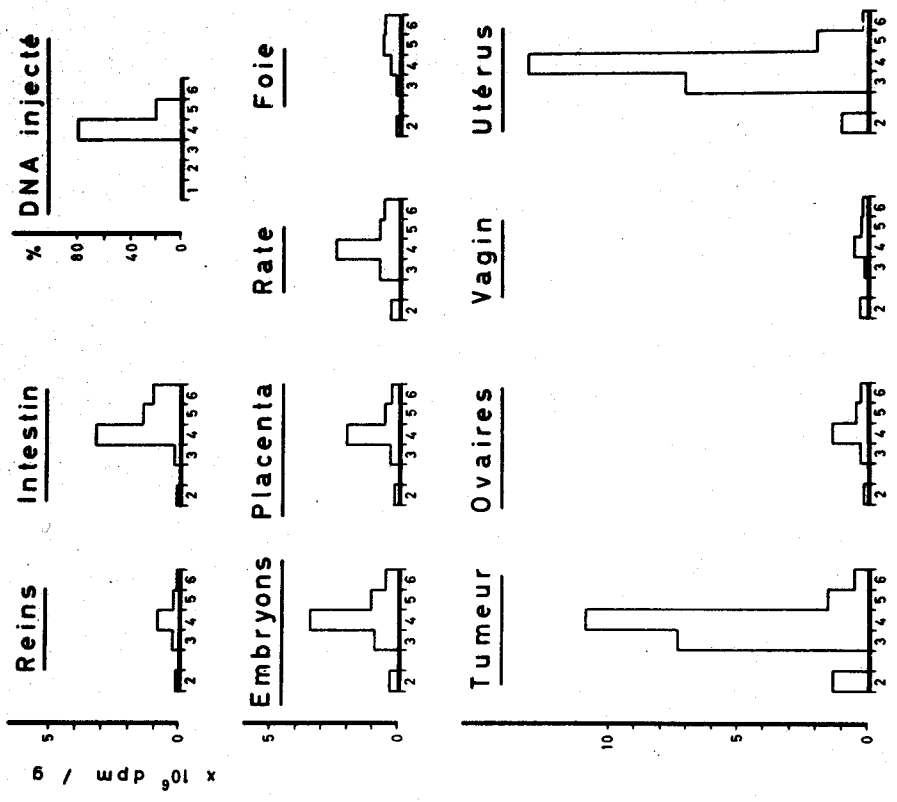
Figure 56.

Diagrammes chromatographiques du DNA d'embryons de souris injectées de DNA- ^3H ou de TdR- ^3H et sacrifiées 10 ou 120 minutes après l'injection.

Après 120 minutes



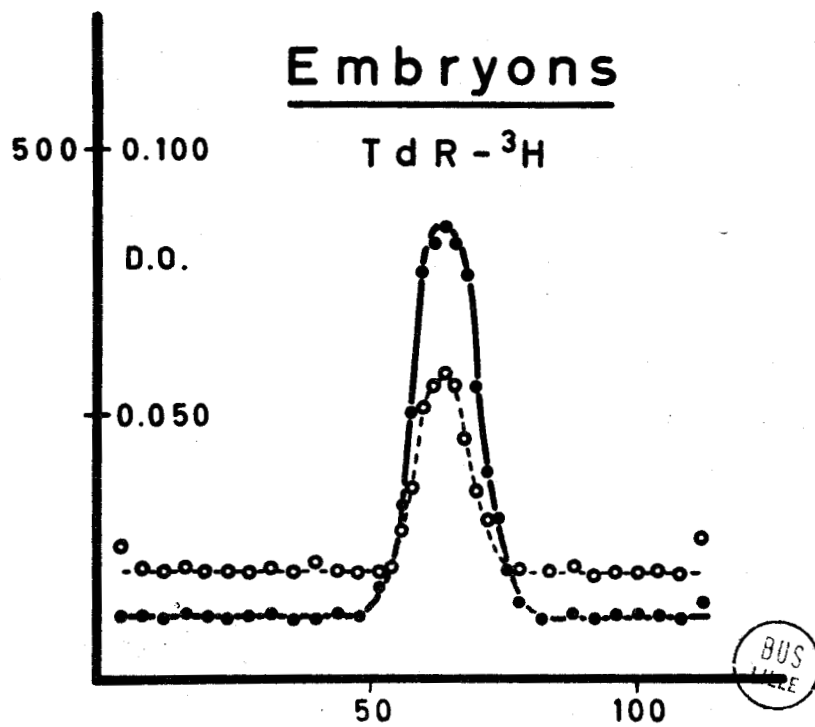
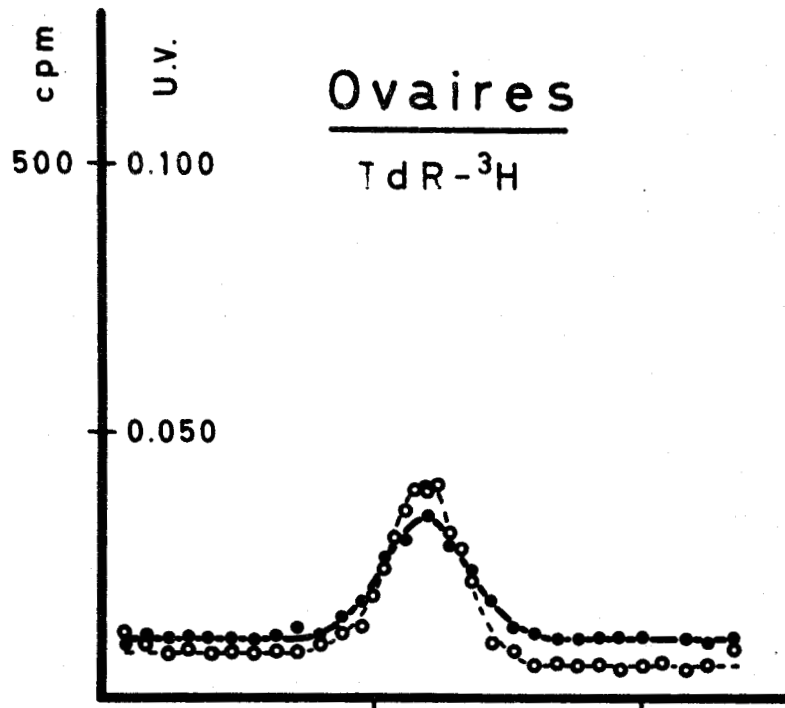
Après 1440 minutes



Figures 58 et 59.

Diagrammes chromatographiques du DNA de différents organes ou tissus de souris injectées de DNA-³H et sacrifiées 120 ou 1440 minutes après l'injection.





- = U.V.
- = Radioactivité

Figure 60.

Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de DNA isolés d'ovaires et d'embryons de souris injectées de TdR-³H et sacrifiées 60 minutes après l'injection.

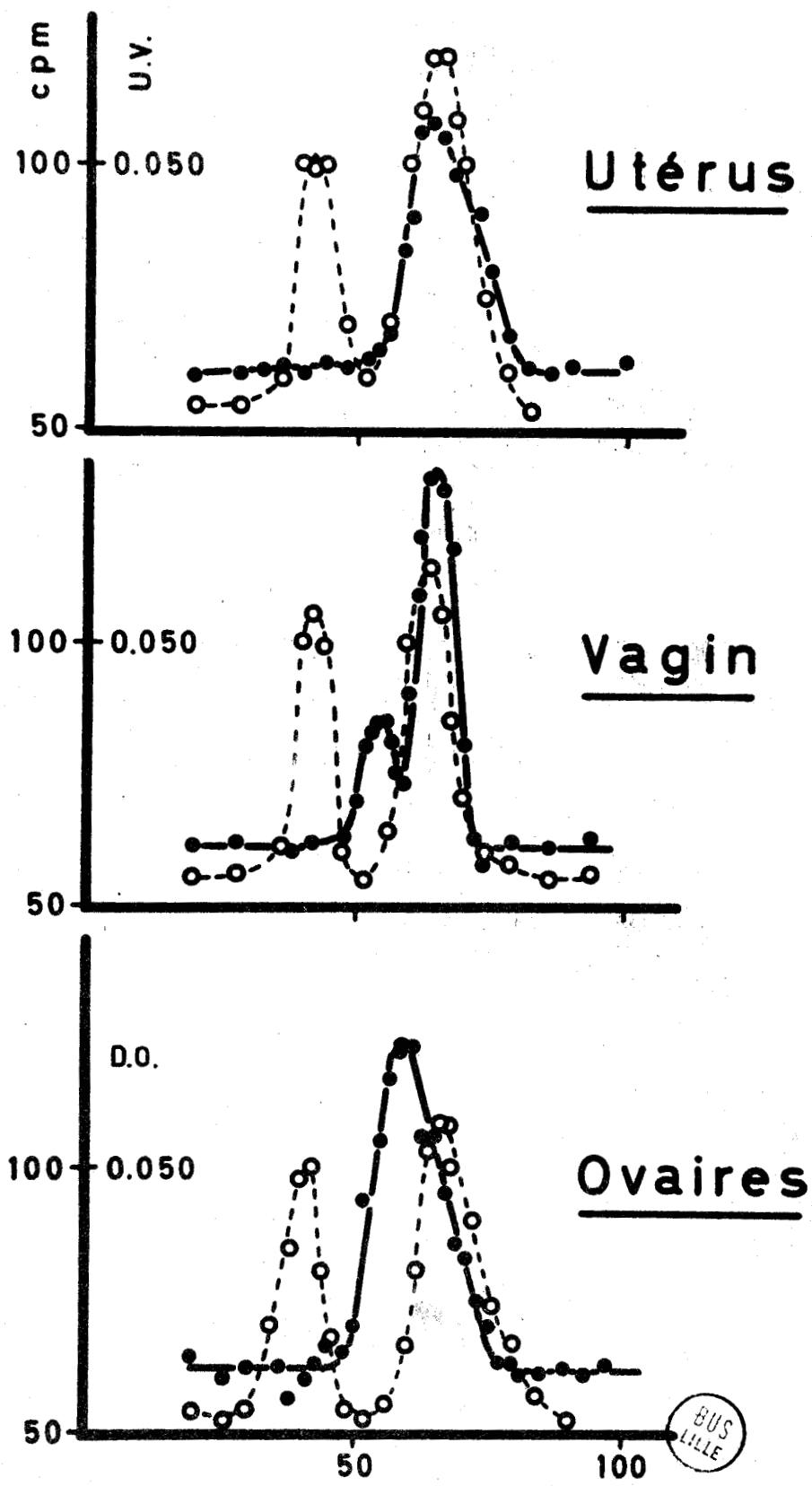


Figure 61.

Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de DNA isolés des organes génitaux de souris impubères traitées au benzoate d'oestradiol, injectées de DNA-³H de E.coli et sacrifiées 36 heures après l'injection.

- densité optique
- radioactivité

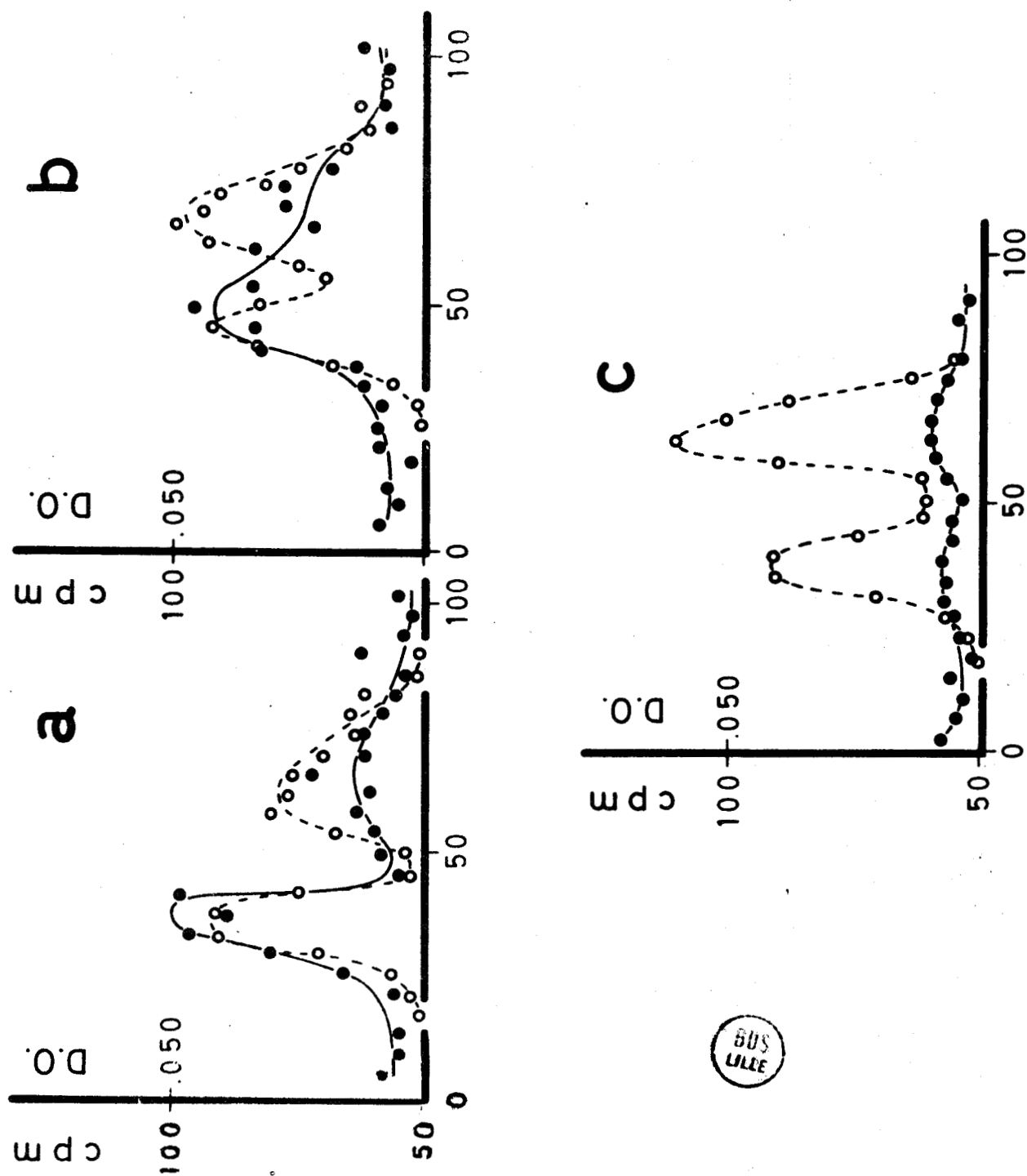
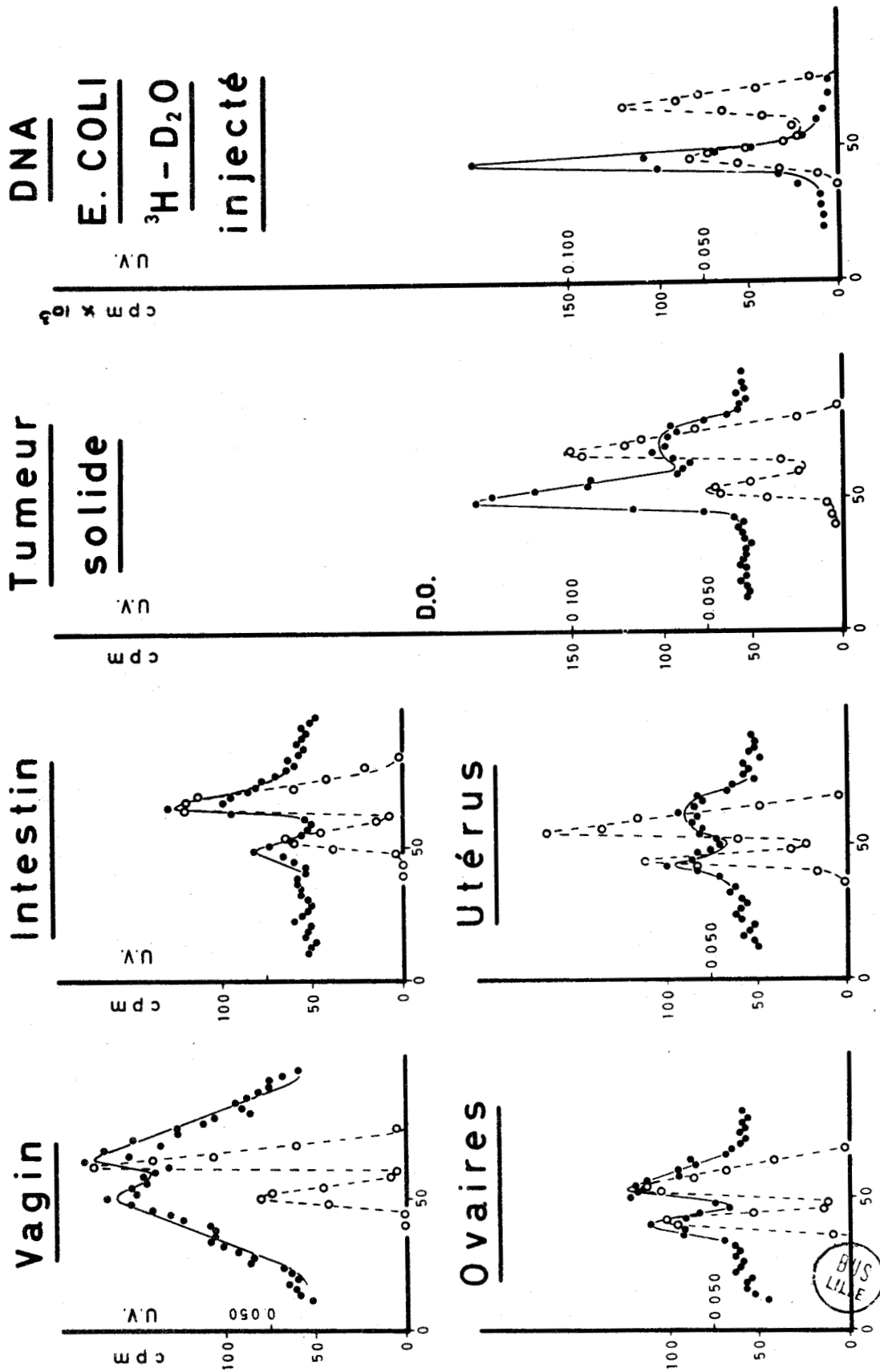


Figure 62.

Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de DNA isolés des organes génitaux de souris impubères traitées au benzoate d'oestradiol, injectées de DNA-³H D₂O de B.subtilis et sacrifiées 1 heure après l'injection. a = ovaires b = vagin c = utérus.

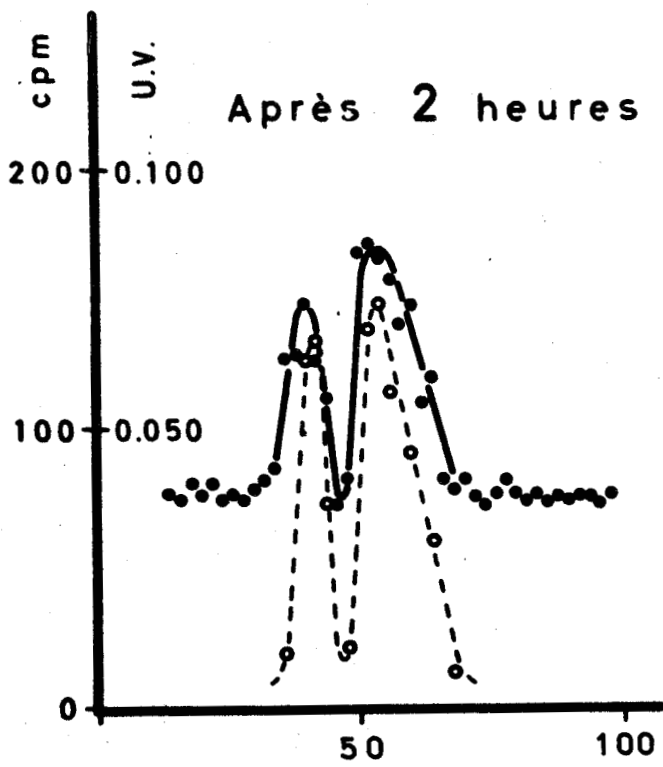
o densité optique - ● radioactivité



Figures 63 et 64.

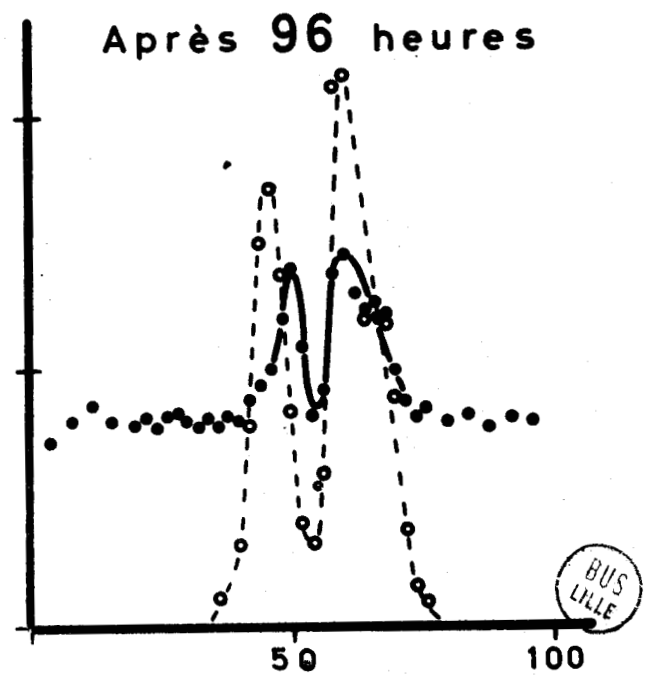
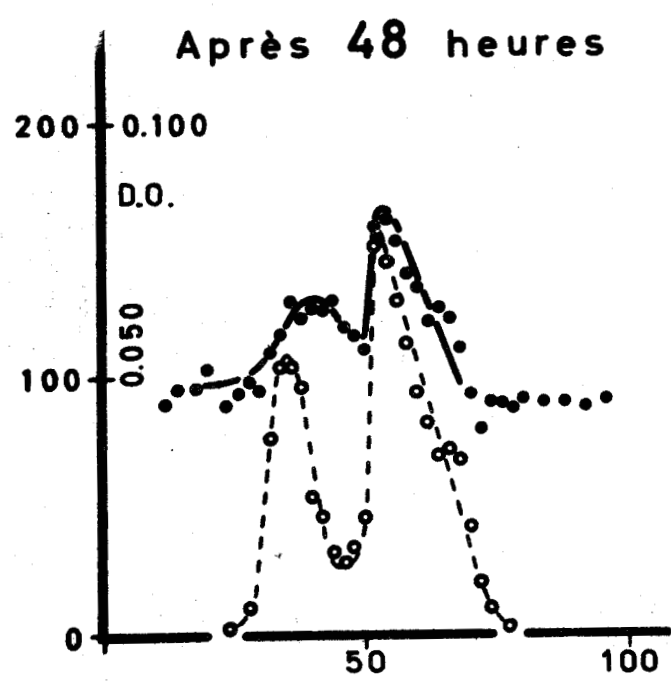
Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de DNA isolés de différents organes ou tissus de souris tumorales injectées de DNA- $^3\text{H D}_2\text{O}$ de E.coli et sacrifiées 24 heures après l'injection.

o densité optique - ● radioactivité



Ovaires

DNA E. COLI
³H-D₂O



BUS
LILLE

Figure 65.

Etude par ultracentrifugation en gradient de CsCl de la nature des molécules radioactives retrouvées dans les ovaires de souris tumorales injectées de DNA-³H D₂O de E.coli et sacrifiées 2, 48 ou 96 heures après l'injection.

- o densité optique
- radioactivité

VAGIN

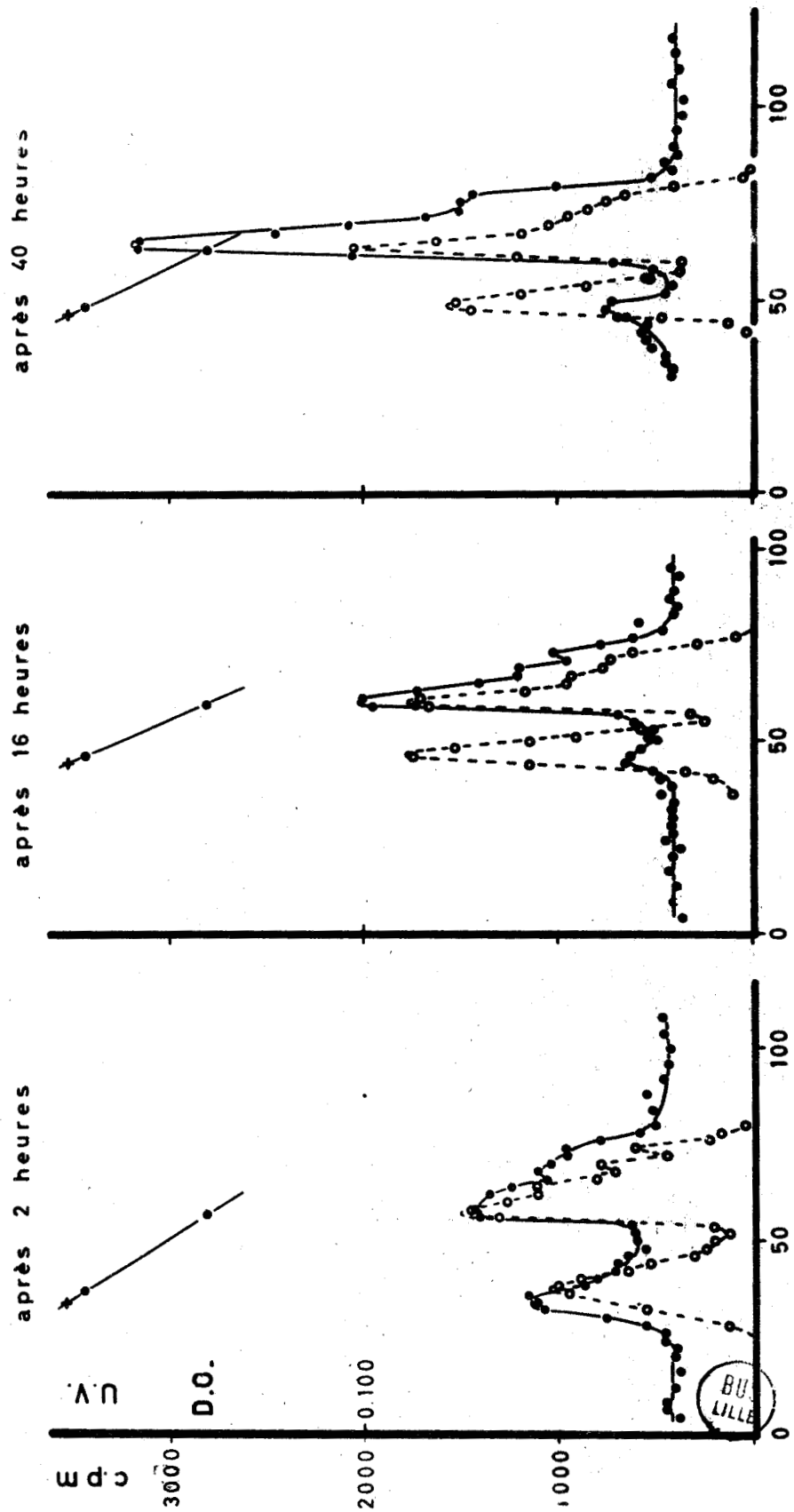


Figure 66.

Etude par ultracentrifugation en gradient de CsCl de la nature des molécules radioactives retrouvées dans le vagin de souris impubères traitées au benzoate d'oestradiol, injectées de DNA-³H D₂O de E.coli et sacrifiées 2, 16 et 40 heures après l'injection.

- densité optique
- radioactivité

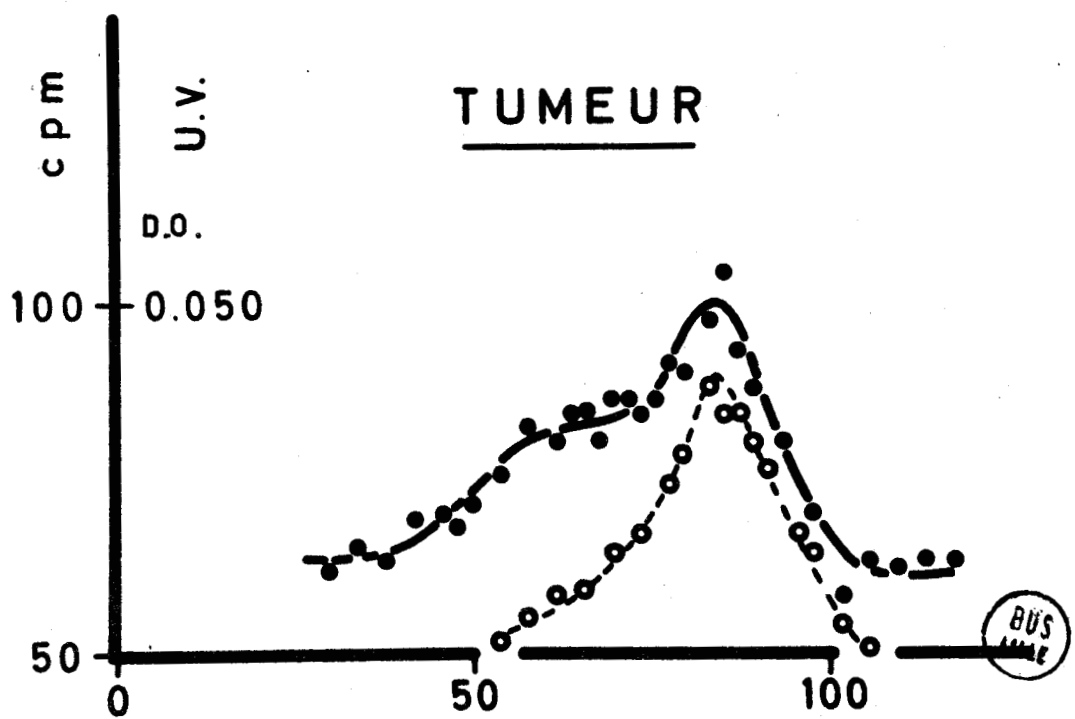


Figure 69.

Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de DNA isolé de carcinome spontané de souris injectées de DNA-³H et sacrifiées 1 heure après l'injection.

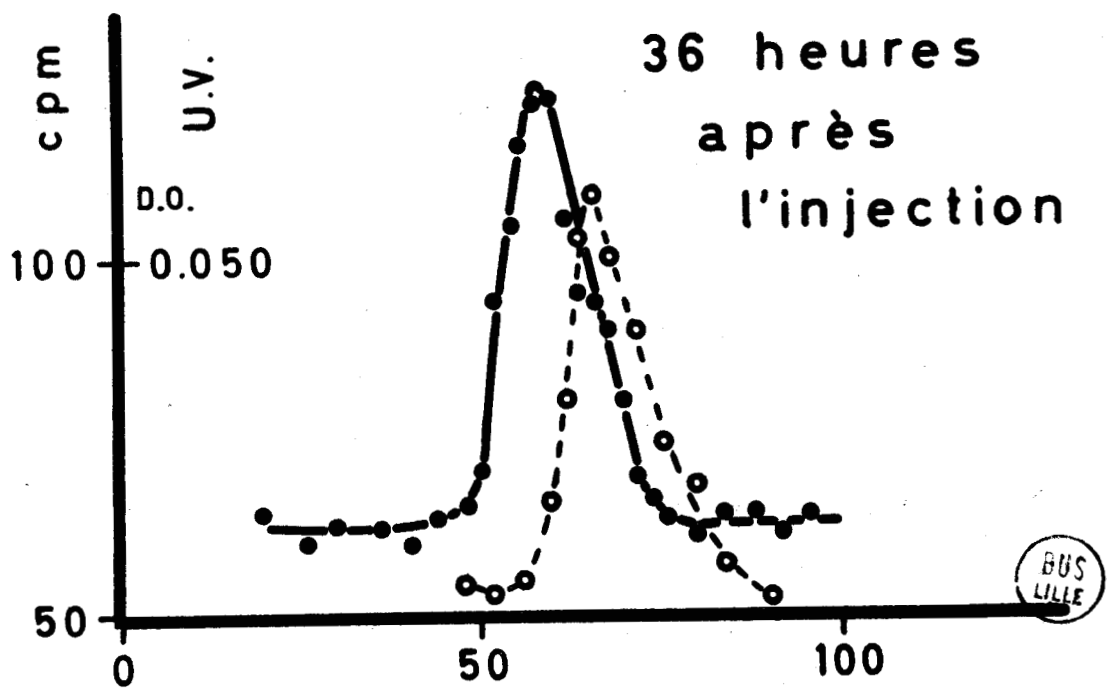
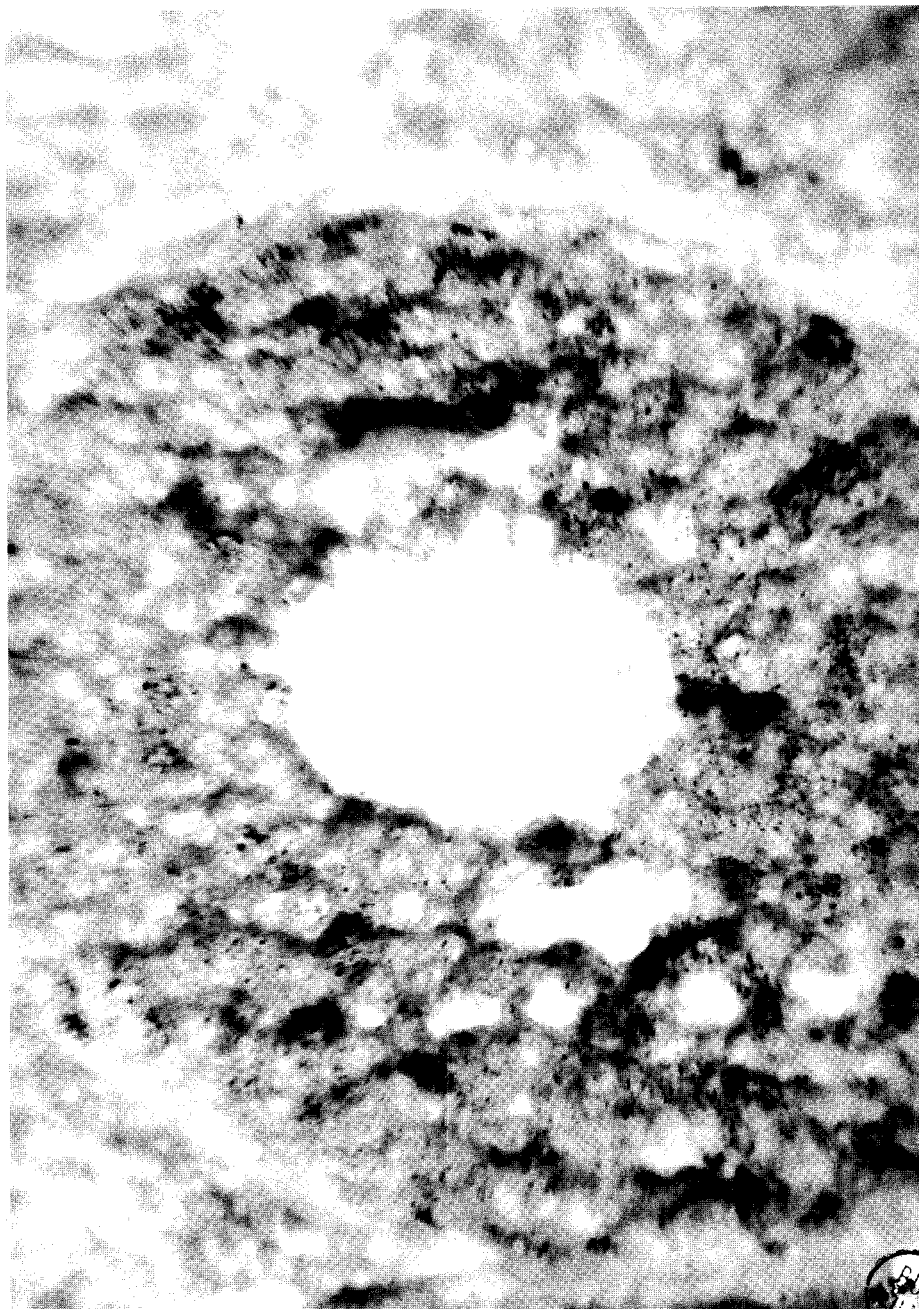


Figure 70.

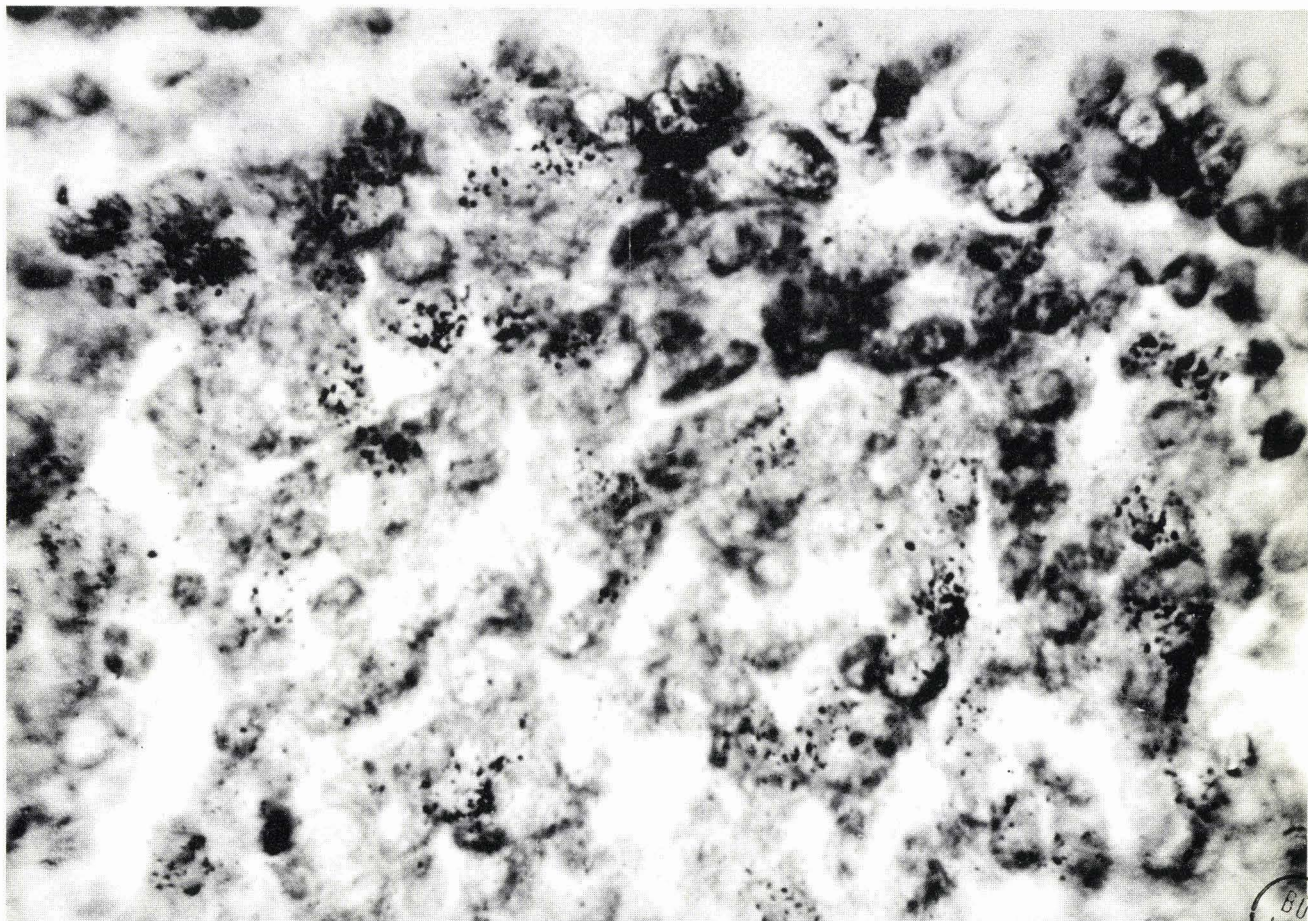
Diagrammes d'ultracentrifugation en gradient de CsCl de DNA isolé d'ovaires de souris impubères traitées au benzoate d'oestradiol, injectées, après 30 heures d'hyperplasie, de DNA-³H et sacrifiées 36 heures après l'injection.



515
VILLE

Photo 3.

Ovaire de souris porteuse d'un carcinome mammaire spontané, injectée de DNA-³H et sacrifiée 48 heures après l'injection.



BUS
LILLE

Photo 4.

Carcinome spontané de souris injectée de DNA-³H
et sacrifiée 1 heure après l'injection.

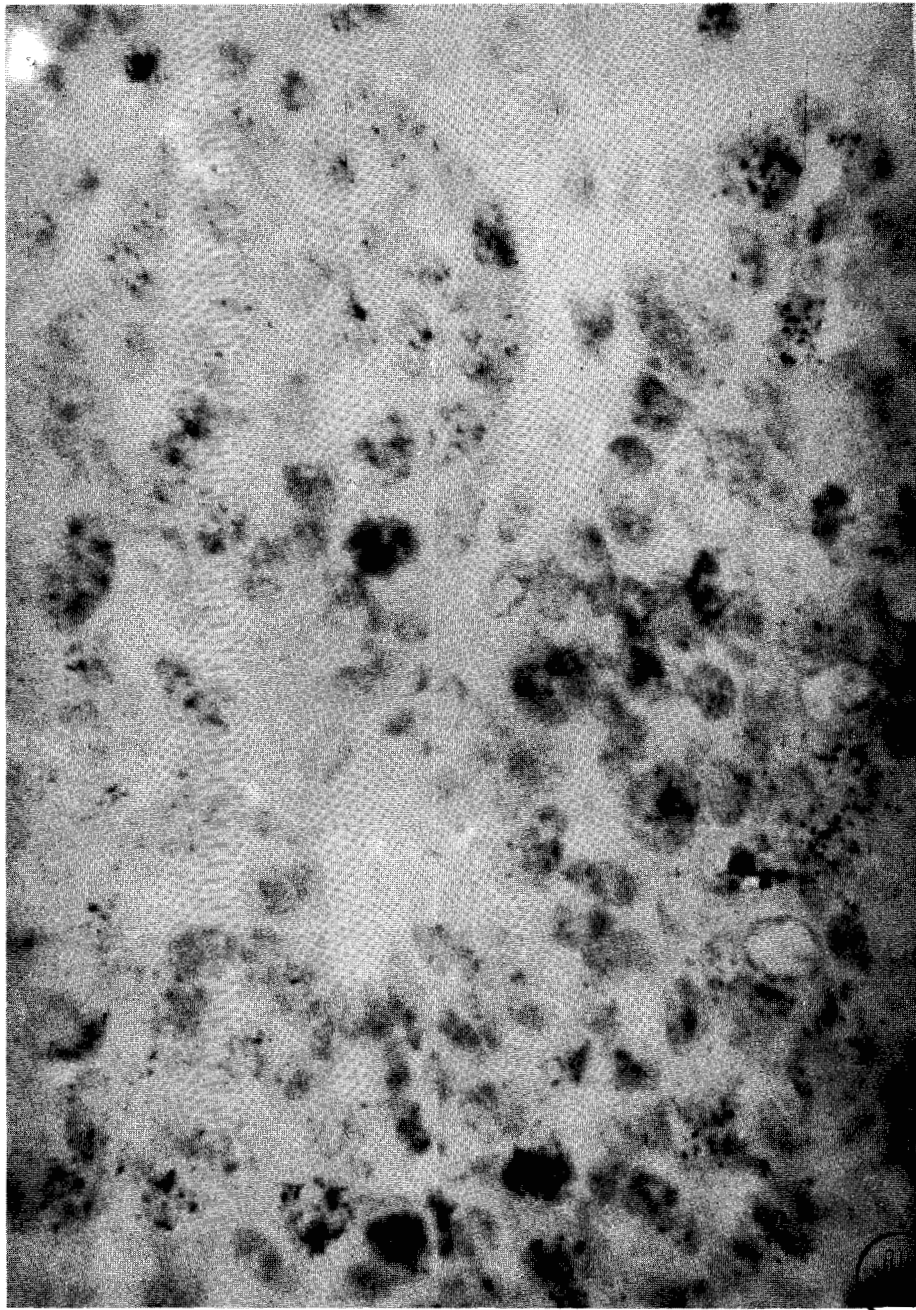


Photo 5.

Carcinome spontané de souris injectée de DNA-³H
et sacrifiée 48 heures après l'injection.

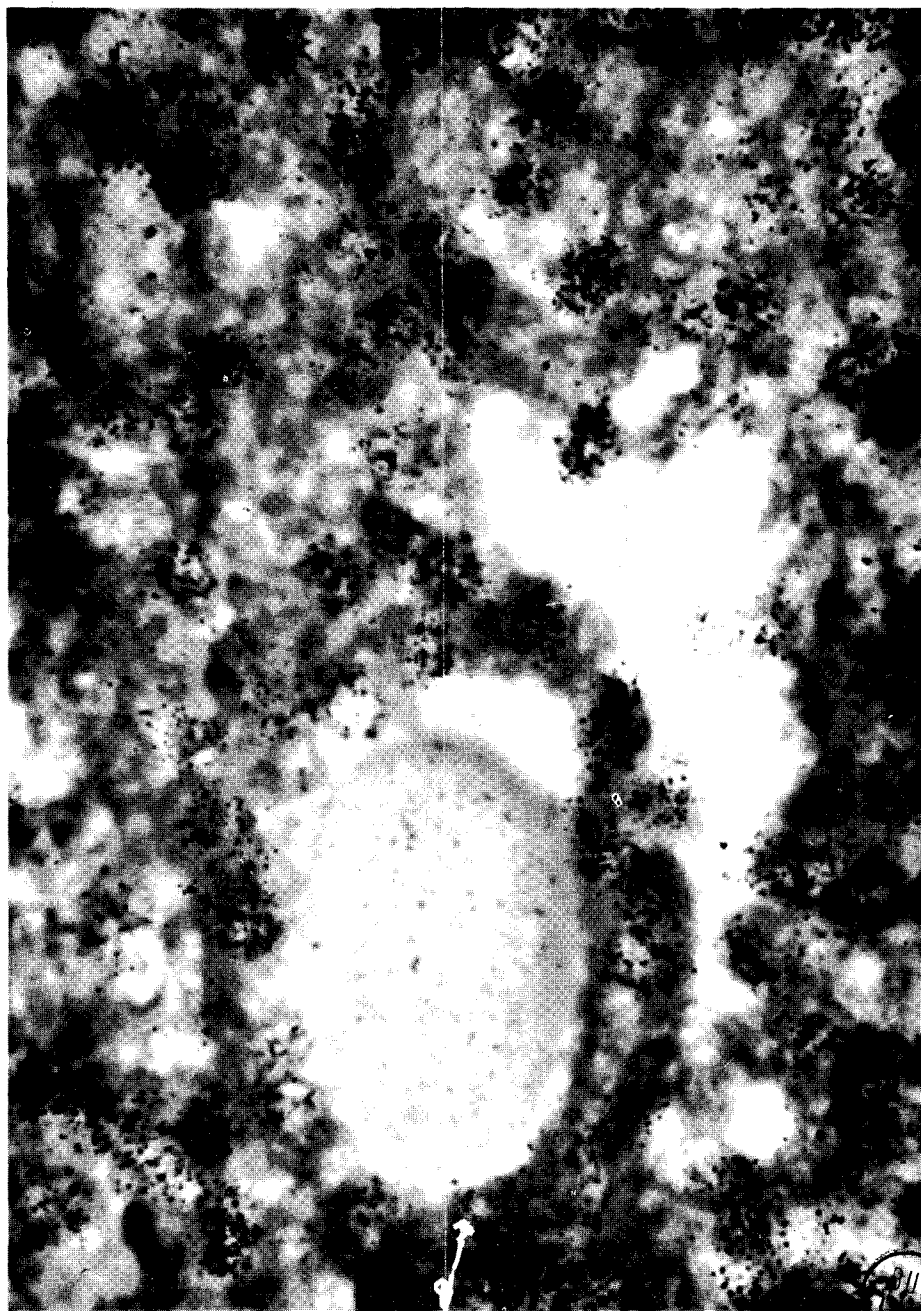


Photo 6.

Ovaire de souris impubère traitée au benzoate d'oestradiol,
injectée, après 40 heures d'hyperplasie, de $\text{DMA-}^3\text{H}$
et sacrifiée 36 heures après l'injection.

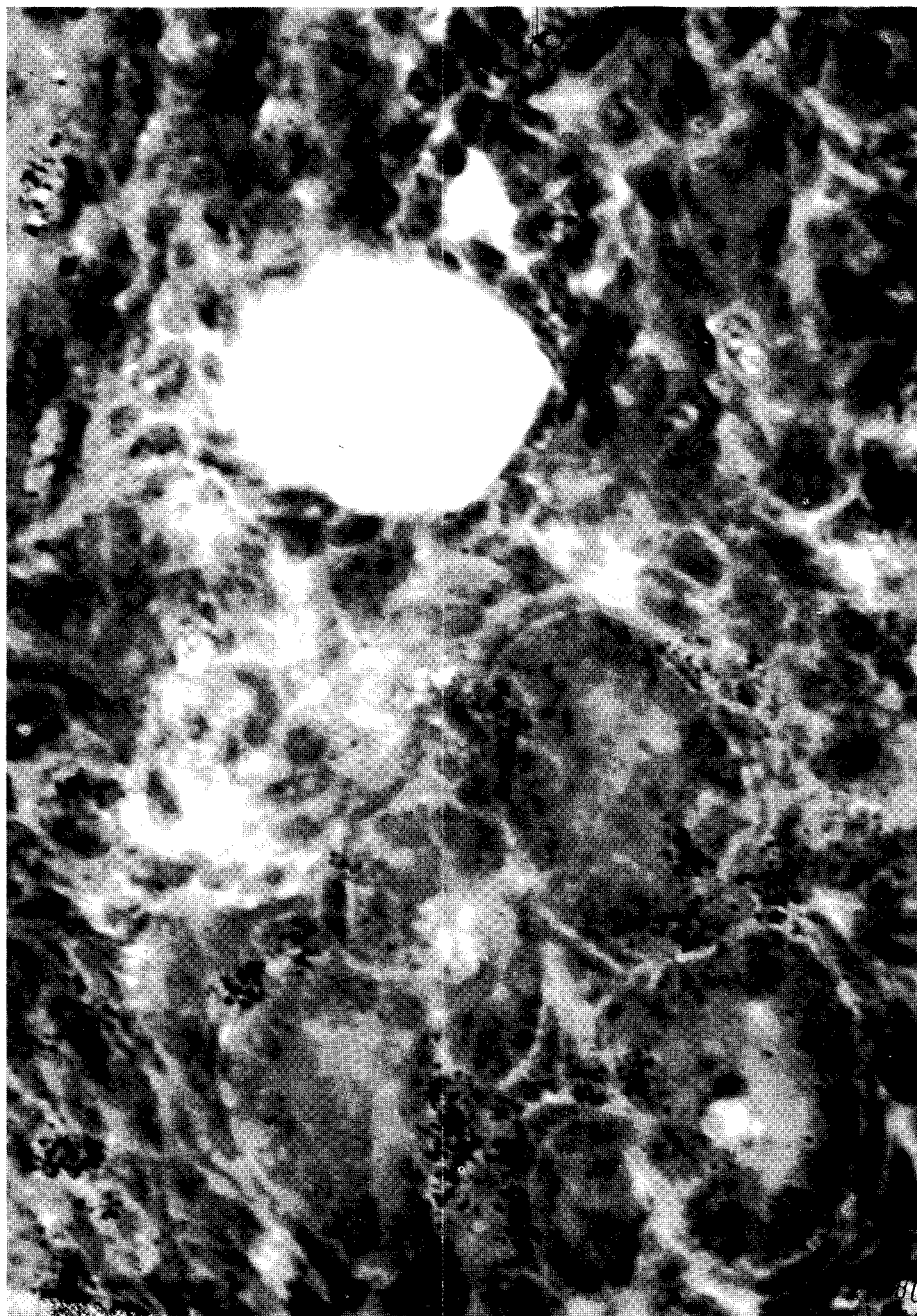


Photo 7.

Ovaire de souris impubère traitée au benzoate d'oestradiol,
injectée, après 30 heures d'hyperplasie, de DNA-³H
et sacrifiée 1 heure après l'injection.

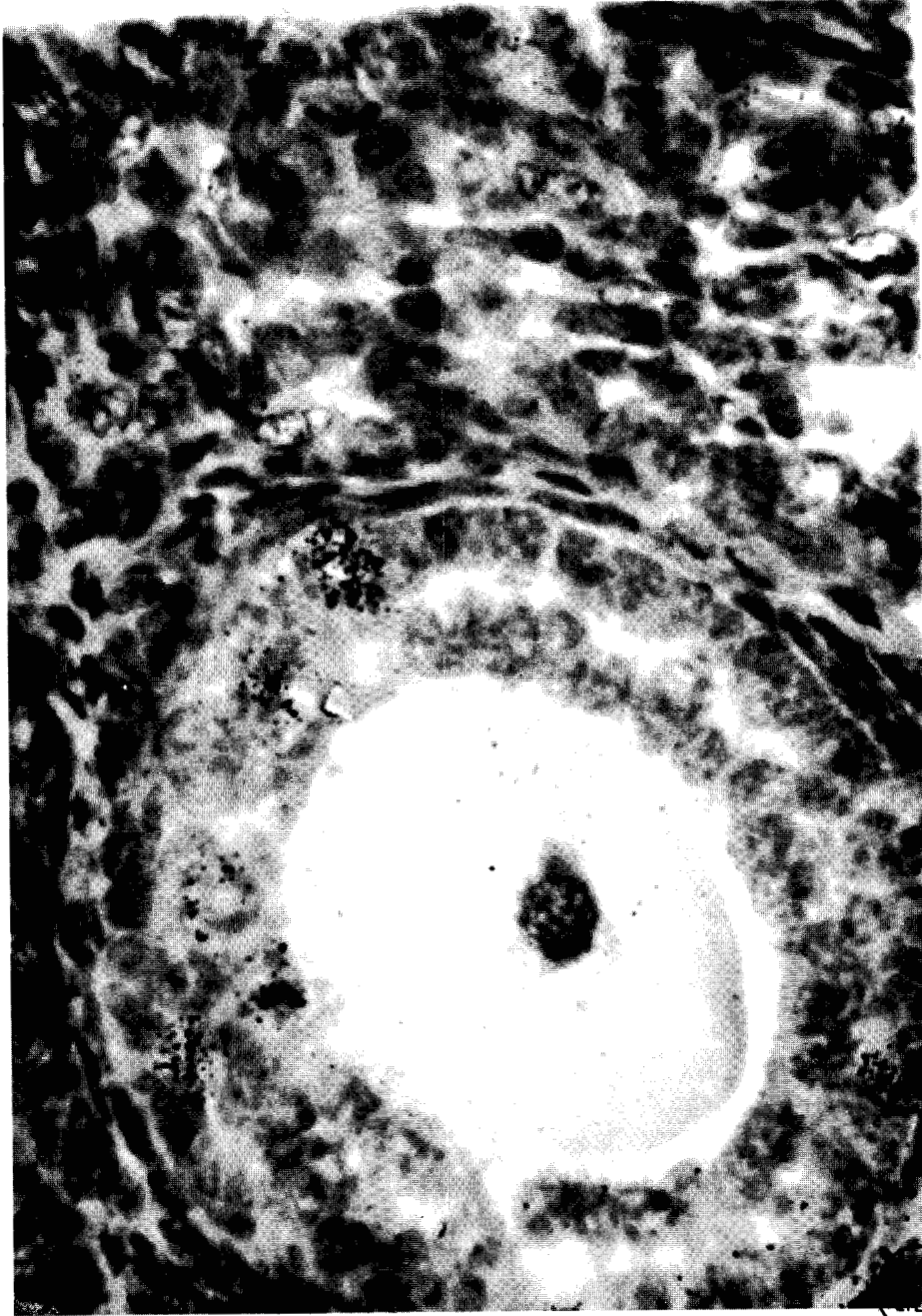
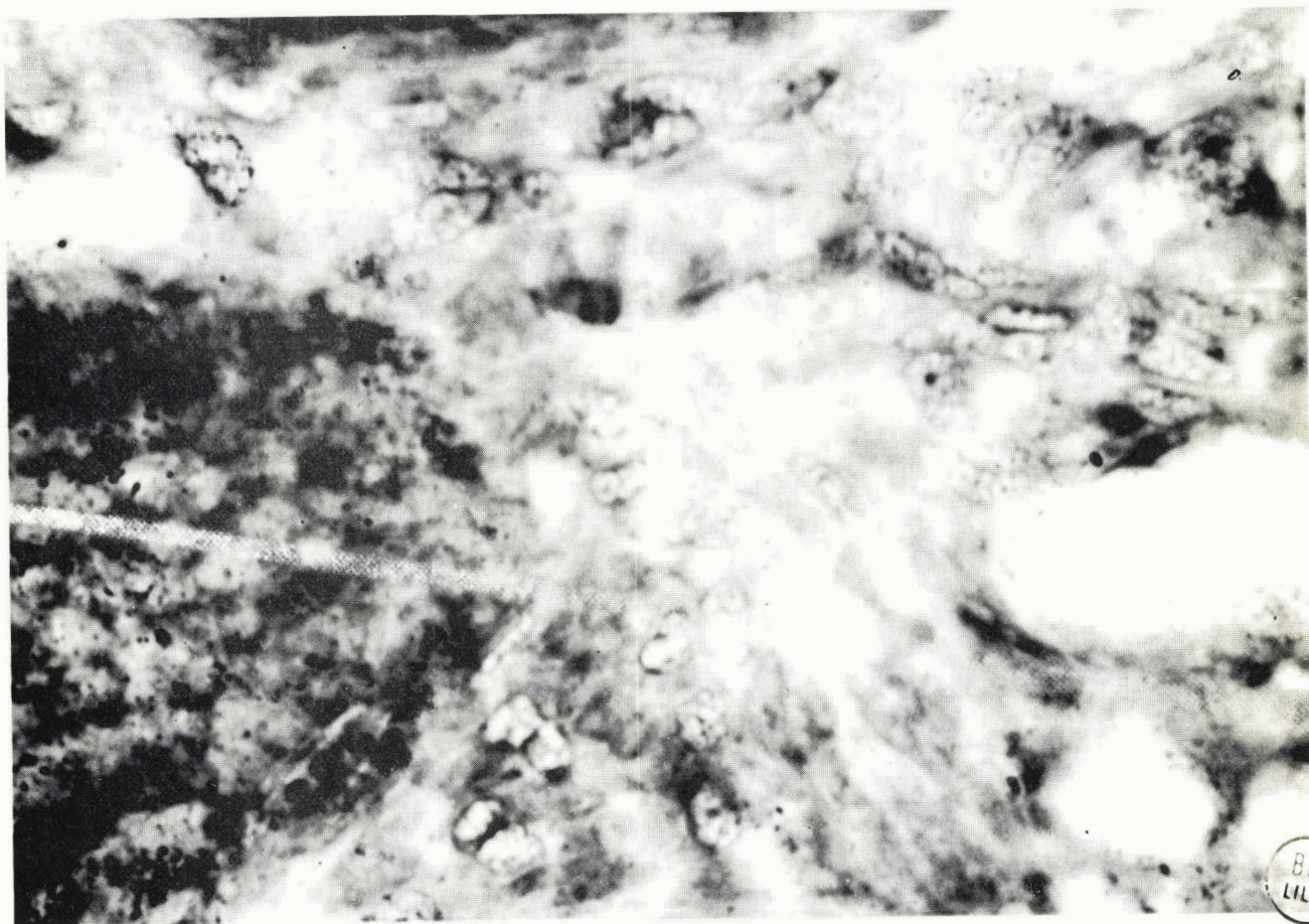
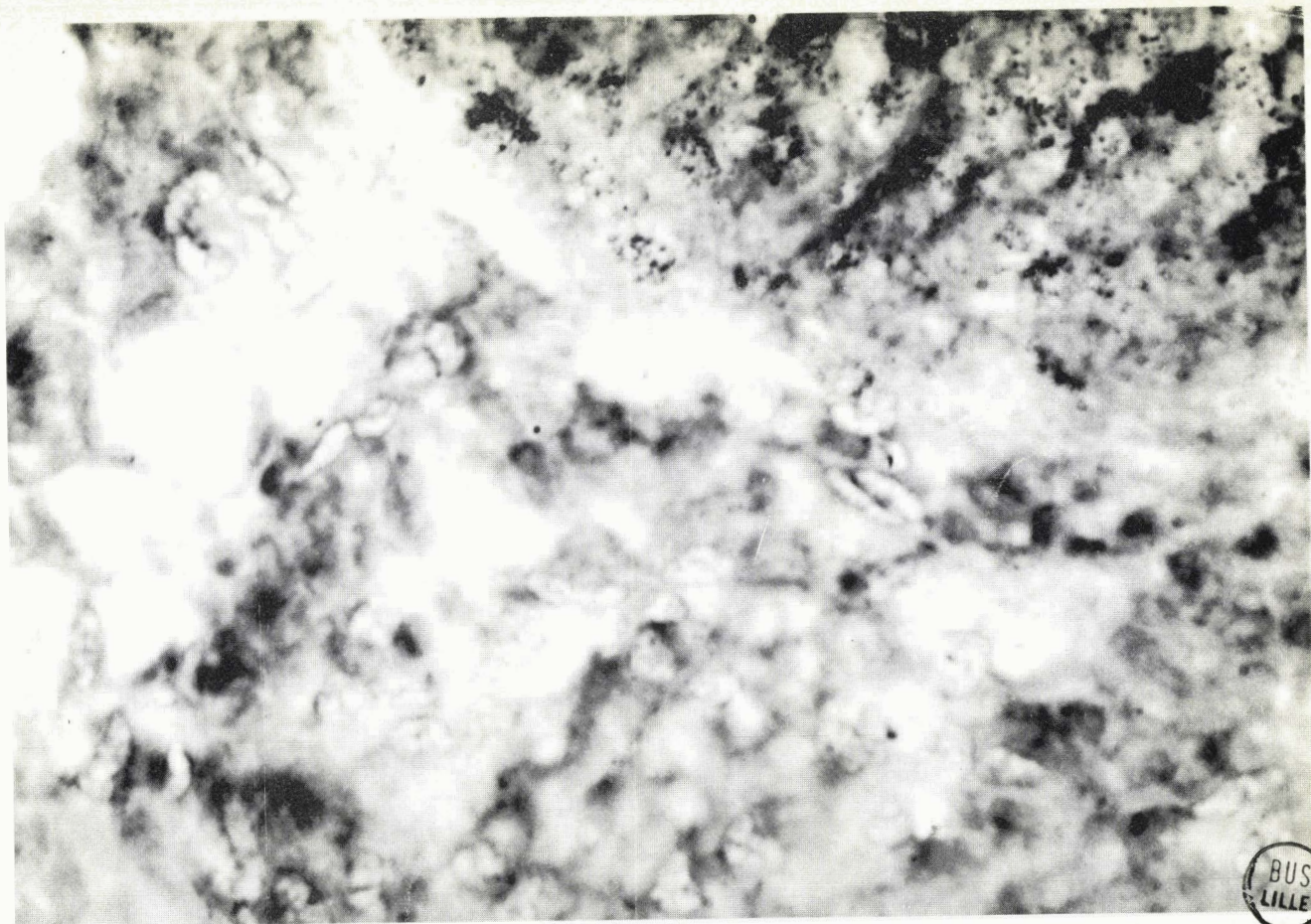


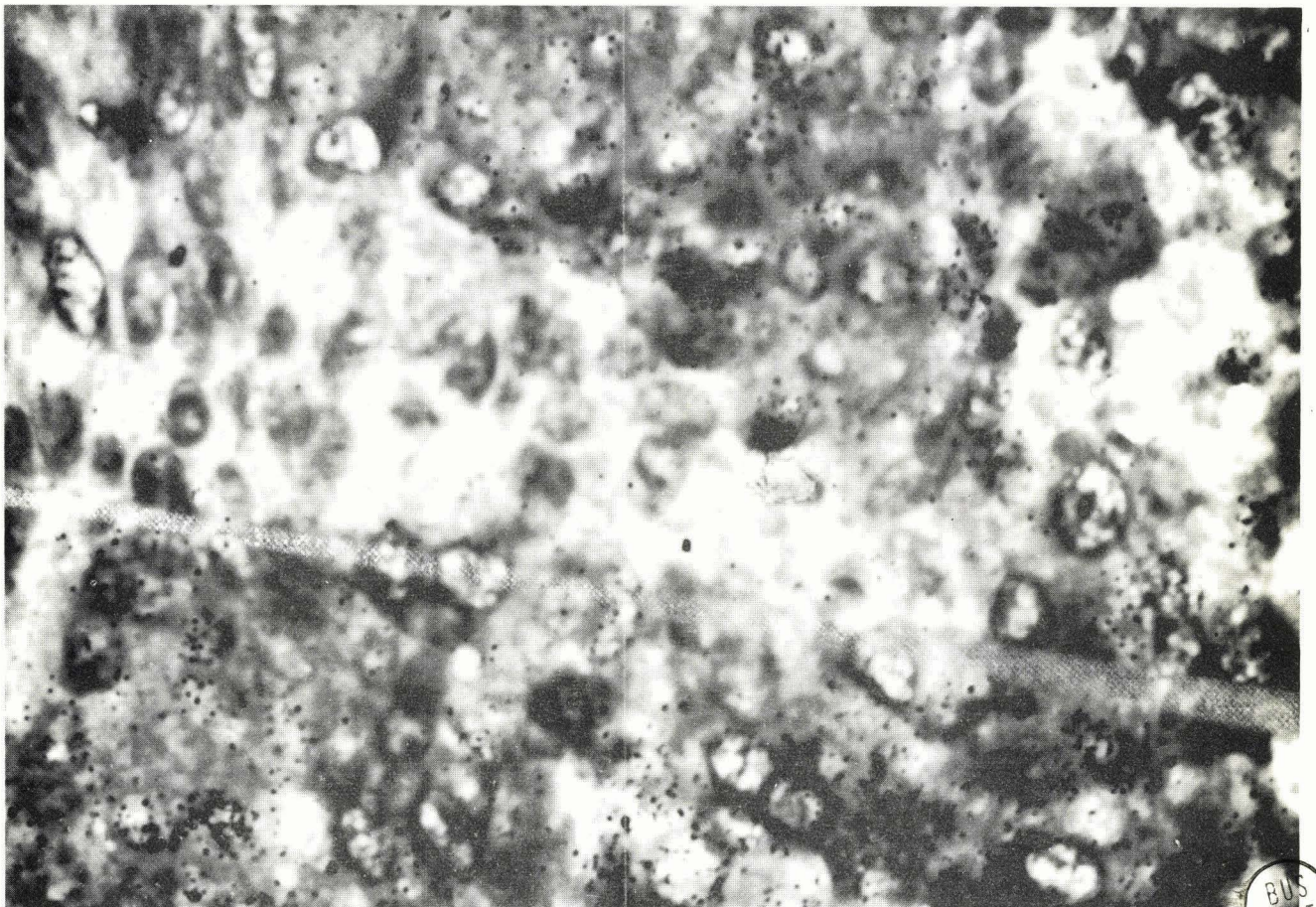
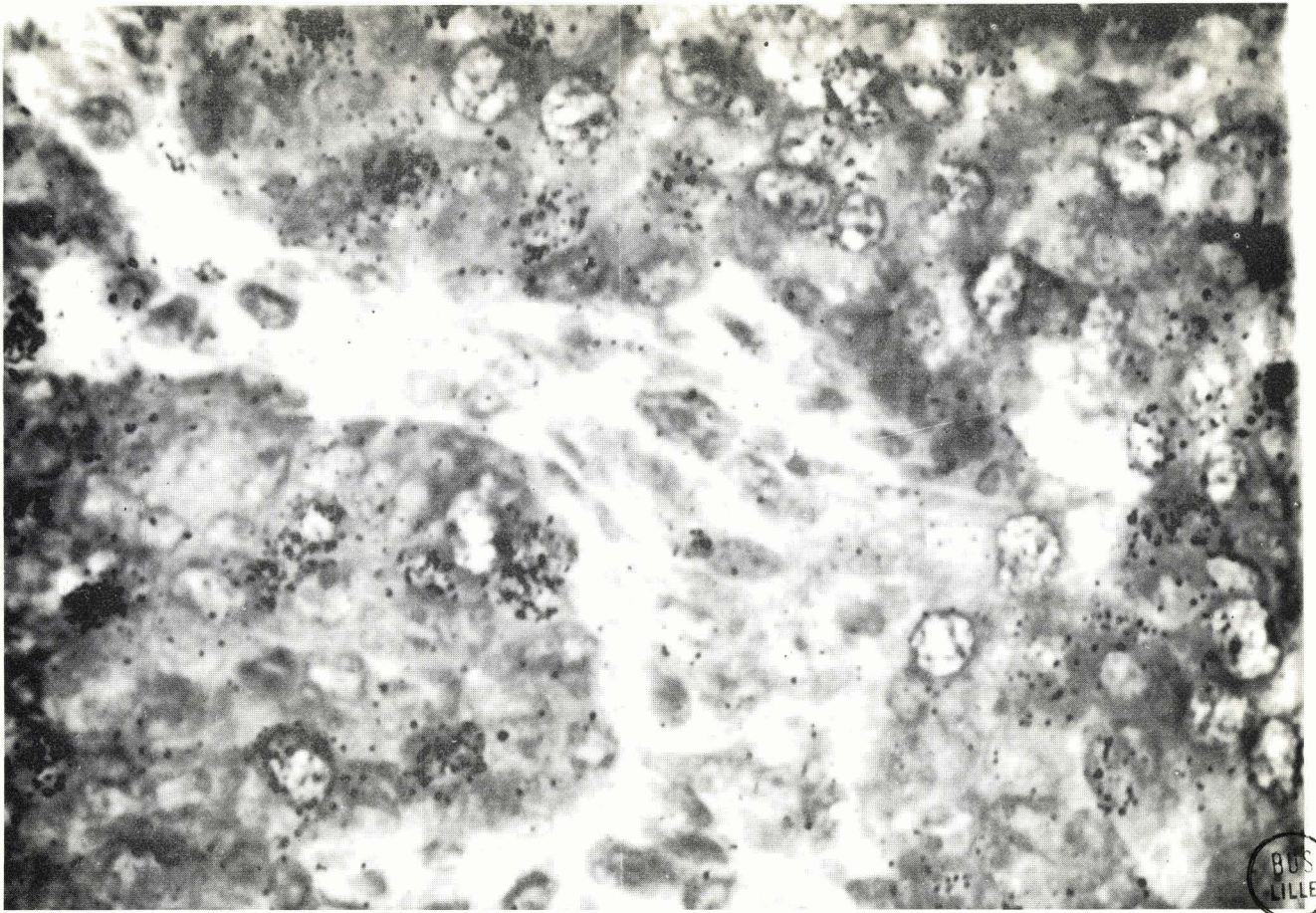
Photo 8.

Ovaire de souris impubère traitée au benzoate d'oestradiol,
injectée, après 30 heures d'hyperplasie, de DNA-³H
et sacrifiée 36 heures après l'injection.



Photos 9 et 10.

Ovaire de souris injectée de DNA-³H
(follicules et tissu conjonctif)



Photos 11 et 12.

Carcinome spontané de souris injectée de DNA-3
(cellules épithéliales et tissu conjonctif).