

O CROMOSOMA AGE POR PARTES E O DNA É O RESPONSÁVEL FUNDAMENTAL NA TRANSMISSÃO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA

WARWICK E. KERR

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
Rio Claro, S. Paulo

A dez de abril de 1962, recebi uma carta amável do meu antigo mestre e ainda amigo o Prof. Dr. S. DE TOLEDO PIZA JR., carta essa também enviada aos meus colegas Prof. Dr. C. PAVAN e Dr. NEWTON FREIRE-MAIA, respectivamente da Universidade de São Paulo e da do Paraná. Sobre este assunto houve um debate público na última reunião da S. B. P. C.. Aceitando o oferecimento do Prof. PIZA colocarei neste pequeno artigo resposta a algumas das questões, deixando as demonstrações sobre os virus para serem feitas pelo Dr. C. PAVAN. Também, vou orientar as respostas com diversas perguntas que, como um todo, responderão as perguntas 1, 2, 3, 4, e 5 do Prof. PIZA (veja sobre o assunto PIZA 1962 a, b, c).

1 — **Qual é o material celular responsável pela transmissão da informação genética?** Em 1928, na Inglaterra, GRIFFITH verificou que quando injetava em ratos uma mistura de duas linhagens de pneumococos (*Diplococcus pneumoniae*) obtinha resultados diferentes conforme o tipo de experiência realizada. Assim, quando injetava uma linhagem virulenta em ratos, estes morriam (nessa linhagem virulenta cada *Diplococcus* era provido de uma cápsula de polissacarídeo). Quando injetava uma linhagem não virulenta os ratos viviam. Quando injetava uma linhagem virulenta, aquecida de maneira a matar os pneumococos, os ratos viviam. Quando, todavia, injetava uma linhagem não virulenta misturada com linhagem virulenta aquecida (de maneira a morrer) os ratos morriam. Esses resultados não foram explicados pela ciência a não ser quando AVERY, MCLEOD & MCCARTY, em 1944, fizeram as primeiras experiências de transformação genética. Nessas experiências o

grupo de AVERY fez o seguinte: extraiu da linhagem virulenta, em forma praticamente pura, ácido desóxi-ribonucléico (DNA), completamente livre de proteínas e da cápsula de polissacarídeo. Depois, incorporou num meio de cultura esse extrato e nesse meio foi semeada uma linhagem RII de *Pneumococcus* (não virulenta). Nas placas de Petri testemunhas nada de extraordinário aconteceu. Porém, nas em que foi colocado um extrato de DNA extraído da linhagem SIII (que tinha cápsula e que portanto era virulento) verificou que a maioria das células era do tipo RII, porém algumas células incorporaram o DNA do doador e foram transformadas no tipo SIII virulento.

Tabela I — Transformação de *Pneumococcus* do tipo não capsular em tipo capsular (AVERY & outros 1944)

Doador do DNA	Células receptoras	Não transformadas	Transformantes
Linhagem SIII com cápsula	Linhagem RII sem cápsula	RII (maior parte)	"RII" com cápsula

Injetados em ratos matavam-nos. Uma pergunta, todavia, permanecia: será que esses experimentos de transformação não indicavam que o DNA agia como mutagênico e não como matéria incorporada ao patrimônio hereditário? Essa alternativa foi eliminada fazendo-se uso do DNA contendo fósforo radioativo (P32) em experimentos de transformação (LERMAN & TOLMACH 1957, FOX 1957). Verificaram que havia incorporação de DNA estranho nas células que estavam com cápsulas; desta maneira foi verificado experimentalmente que o número de células transformadas era paralelo à quantidade de incorporação de DNA. Ficou, assim, liquidado um problema importante, mostrando que o material da informação genética é o DNA.

MIRSKY (1947) argumentava que, possivelmente, quantidades muito pequenas de proteínas ainda seriam capazes de replicar e serem as responsáveis pela transformação genética. MCCARTY (1946) purificou desoxyribonuclease e demonstrou sua forte ação despolimerizante do DNA. MCCARTY & AVERY (1946) usaram essa enzima e cabalmente mostraram que com DNA afetado não há transformação. Se a DNase for adicionada no momento de se adicionar o DNA não haverá trans-

formação, porém, se for adicionada 10 segundos depois já haverá, mostrando que a penetração é um processo muito rápido.

Nem toda a bactéria pode ser transformada. AUSTRIAN (1952) diz que bactérias secretando muita DNase nas suas membranas não podem sofrer transformação.

2 — Será que o fato do DNA estar perfeitamente indentificado como o material responsável pela transmissão da informação genética é incompatível com a idéia dos gens agindo como uma unidade biológica? O seguinte experimento mostra que não há tal incompatibilidade. HOTCHKISS em 1954 (apud SAGER & RYAN 1901) mostrou que quando um bilhão de células de uma linhagem de *Pneumococcus* sensível à penicilina são colocadas em uma concentração de penicilina suficiente para matá-las, algumas sobrevivem e formam colônias resistentes. Desta maneira foi possível obter linhagens resistentes à penicilina, e, usando a mesma técnica, linhagens resistentes à estreptomina.

De uma linhagem, de *Pneumococcus*, resistente tanto para a penicilina como a estreptomina, extrairam o DNA. Esse DNA foi incorporado ao meio em que células suscetíveis à penicilina e à estreptomina foram semeadas. As transformantes foram de dois tipos: a) **Transformantes simples**, de linhagens que eram resistentes à penicilina, porém, suscetíveis à estreptomina, que foram obtidas na base de 1%, e linhagens que eram suscetíveis à penicilina, porém, resistentes à estreptomina (também na proporção de 1%). Ora, se essa incorporação se desse por partículas e não como um todo, a incorporação deveria ser aquela esperada pela multiplicação de 0,01 x 0,01 e foi exatamente isso o que se encontrou: o número de transformantes duplos quer dizer, penicilina resistente e estreptomina resistente, foi encontrado na proporção de 0,0001 (veja tabela II).

Tabela II — Transformação dupla com gens não ligados (HOTCHKISS, o. c.)

Doador de DNA	Células receptoras	Transformantes	
		de um só gen	dos dois gens
pen-r, str-r	pen-s, str-s	pen-r, str-s 0,01	pen-r, str-r 0,0001
		pen-s, str-r 0,01	

Com isso, então, provou-se que as duas partículas de DNA foram incorporadas independentemente. Se o cromosoma agisse como um todo e não por suas partes os transformantes deveriam ser 100% duplos.

Ora, se há partículas que não incorporadas independentemente deveriam também ser encontradas partículas que fossem incorporadas dependentemente, se estivessem situadas próximas umas das outras conforme são os mapas de ligação de qualquer organismo conhecido. Pois bem, esta ligação foi encontrada em alguns casos. O mesmo HOTCHKISS (o.c.), em 1954, mostrou que algumas linhagens são capazes de fermentar manitol e são estreptomicina resistentes. Quando o seu DNA é incorporado em um meio em que se semeia células que são incapazes de fermentar o manitol e que são estreptomicina suscetíveis, os transformantes simples aparecem na base de 1%, tanto para fermentadores de manitol e estreptomicina suscetíveis, como para não fermentadores de manitol e estreptomicina resistentes; o número de transformantes duplos, fermentadores de manitol e estreptomicina resistentes, foram obtidos na proporção de 0,0015, portanto quinze vezes mais frequentes do que se esperaria se esta operação fosse por acaso (veja tabela III).

Tabela III — Transformação dupla de *Pneumococcus* incapaz de fermentar manitol e susceptível à estreptomicina (HOTCHKISS 1954)

Doador de DNA	Células receptoras	Transformantes	
		de um só gen	dos dois gens
mtl ⁺ , str-r	mtl ⁻ , str-s	mtl ⁺ str-s 0,01 mtl ⁻ str-r 0,01	mtl ⁺ str-r 0,0015

As transformações genéticas deram, portanto, a relação funcional entre o DNA e os determinantes de informação genética. A definição moderna de gen dada por SAGER & RYAN (1961), é: "o gen é um determinante genético que em formas alternativas é responsável pelas diferenças num determinado caráter". A função desse gen tem sido precisada por diversos grupos e, sem dúvida, a hipótese de TATUM & BEADLE, de que a função de um gen consistiria de conformações impostas

às proteínas na fase final de sua síntese, e que uma dada enzima teria a sua especialidade final "determinada por um e somente um gen" teve um impacto muito grande na ciência quando estávamos na fase inicial das descobertas da função do gen. Hoje, todavia, podemos dizer com relativa segurança que a informação genética de células para células e de geração para geração, é enviada pelo DNA e que a informação genética no núcleo para o citoplasma é enviada através do RNA. Este RNA não é uma cadeia muito longa, mas cadeias pequenas, curtas, sobre as quais se moldarão proteínas devido à atração de diferentes moléculas de aminoácidos e, talvez, também outros compostos.

3 — Codon — unidade de informação genética. As proteínas são feitas de 25 tipos diferentes de aminoácidos. Os ácidos nucléicos são feitos de 4 espécies de nucleotídeos. A ordem das bases na cadeia de polinucleotídeos não é regular; é aí que se acredita ser transmitida a informação genética. CRICK (1962) relata que o comprimento de uma molécula de DNA capaz de produzir aminoácidos é de três bases. BENZER (1962) mostrou que cada gen é um segmento de cromosoma de 500 a 1000 bases de comprimento e que a molécula toda do vírus T4 contém cerca de 200.000 pares de bases.

Adições ou diminuições de uma única base podem ser feitas por meio de compostos chamados acridinas (CRICK 1962). Se a menor cadeia informadora fosse formada de um par de bases, teríamos $4 \times 4 = 16$ possibilidades (e existem pelo menos 25 aminoácidos). Assim, uma série de 3 bases nos permitiria 64 possibilidades. Como as experiências de CRICK mostraram que este é o tamanho mínimo de uma cadeia informadora, chamou a essa trinca de "codon" (derivada de "code" = código). CRICK chegou à conclusão de que a mensagem começa a ser lida a partir de uma certa extremidade fixa do codon e é lida três bases de uma vez. CRICK demonstrou que esta idéia é certa (ou que pelo menos ainda não se obteve dados contra ela).

Usando as mutações provocadas por acridina que serão + ou — caso tenham uma base adicionada ou subtraída, CRICK (o. c.) verificou que em qualquer dos casos, positivos ou negativos, o gen é inativo a partir do acréscimo ou diminuição de uma base. Se combinar um gen + com outro + ou um — com outro —, o gen continuará a ser não funcional. Se, todavia + for combinado com — o gen será funcional se o par em ques-

tão não estiver muito longe um do outro (veja fig. 1 que exemplifica cada um desses três casos).

Havendo 64 trincas possíveis e somente 25 aminoácidos temos duas possibilidades: ou que um mesmo aminoácido seja ordenado por duas ou três trincas diferentes, ou que algumas combinações se "traduzem" em compostos diferentes dos aminoácidos. Recente revisão de HENDLER (1962) mostra que a coisa não é assim tão simples: tanto há combinação de bases responsável pela ordenação de mais de um aminoácido como há um mesmo aminoácido sendo traduzido por mais de uma trinca. Todavia, JUKES (1962) mostrou que a ordem das moléculas na trinca é importante.

Como dissemos, as pesquisas sobre os códigos genéticos já vão tão adiantadas que até já foram determinadas, por diversos autores como MATTHAEI e colaboradores (1962), SPEGIER e colaboradores (1962) e JUKES (1962), as sequências de bases que, numa trinca, determinam certos aminoácidos.

Na tabela IV citamos a lista das possíveis sequências de bases em trincas de RNA mensageiro e respectivos aminoácidos que ordenam conforme JUKES (1962).

Tabela IV — Sequência de bases possíveis nas trincas do RNA mensageiro e respectivos aminoácidos (JUKES 1962)

AUA - lisina	AUU - tirozina	UAA - asparagina-2
CUC - prolina	UAU - leucina	UCC - prolina-2
GUG - glicina	UUA - isoleucina	UGG - triptofano
AUC - histidina	CUU - serina	UUU - fenilalanina
CUA - asparagina	UCU - serina-2	UCA - treonina
AUG - ácido glutâmico	UUC - leucina-2	UGA - metionina
GUA - ácido aspártico	GUU - cisteina	UCG - glutamina
CUG - alanina	UGU - leucina-3	
GUC - arginina	UUG - valina	

Uma tal lista, uma tal precisão, mostra claramente que o assunto do código genético não é mais uma hipótese, ou uma idéia, mas uma teoria que está sendo provada na sua estrutura mais íntima.

4 — Será que há algum espaço entre os gens? No mutante T4 existe uma deleção (fig. 2) chamada 1589. Sem a deleção 1589, uma mutação provocada por acridina não tem efeito sobre as funções do gen B, porém faltando o pedaço corres-

pondente a essa deleção a função do gen B é completamente destruída. Isso sugere que há na deleção 1589 alguma coisa que separa um gen do outro no que há de mais fundamental: na interrupção da "leitura" da informação genética. MAZIA sugere que essa interrupção seja feita, nos animais e plantas superiores, por moléculas de Ca, ou de Mg, ou de ambas, que ligariam um gen a outro. Essa, todavia, não é a maneira de interrupção nas moléculas dos fagos, pois nelas se demonstrou não haver Ca. Talvez, sejam sequências de bases que não determinam amino ácidos (como por exemplo CCC, AAA, GGG).

5 — **Relação entre o gen e a molécula de DNA.** De acordo com COREY & PAULING (1955), uma molécula de timina é atraída a uma de adenina por meio de duas cadeias de hidrogênio. Por sua vez uma molécula de citosina é atraída a uma de guanina por 3 cadeias de hidrogênio. Verificou-se que o DNA se arreventa por aquecimento e isso devido à quebra das cadeias de hidrogênio entre as bases nitrogenadas; as moléculas, assim arreventadas, perdem a sua atividade transformante. Devido às duas cadeias de hidrogênio entre adenina e timina e as 3 entre citosina e guanina, a temperatura na qual a molécula da DNA se rompe é indiretamente relacionada ao seu conteúdo guanina-citosina. Quanto mais alto for o conteúdo G-C, tanto maior será a temperatura necessária para arreventar a molécula. Contrôlando, cuidadosamente, a temperatura de um preparado de DNA foi possível verificar (ROGER, 1961) que um gen é inativado antes que outro. Por exemplo: há uma perda de atividade transformadora de um gen para resistência à micrococina a uma temperatura de 88°C. Essa temperatura não afeta o gen para a resistência à estreptomina, entretanto, a atividade de dois gens responsáveis pela resistência à sulfanilamida e outro à estreptomina são perdidas conjuntamente à temperatura de 89,5°C. Por experiências de transformação, mostrou-se que esses gens são ligados. Portanto, a perda paralela de atividades de gens ligados e a perda de atividade independente para gens não ligados, à temperaturas determinadas, é uma grande evidência da independência de ação de pedaço de cromosomas, de que os gens que estão na mesma molécula se inativam concomitantemente, e de que gens não ligados estão em moléculas diferentes. Um outro gen, que confere resistência à ametopterina, perde o seu poder transformante somente quando aquecido a 91,5°C. Este é um novo método que, sem dúvida, levou ao fracasso preferencial do DNA.

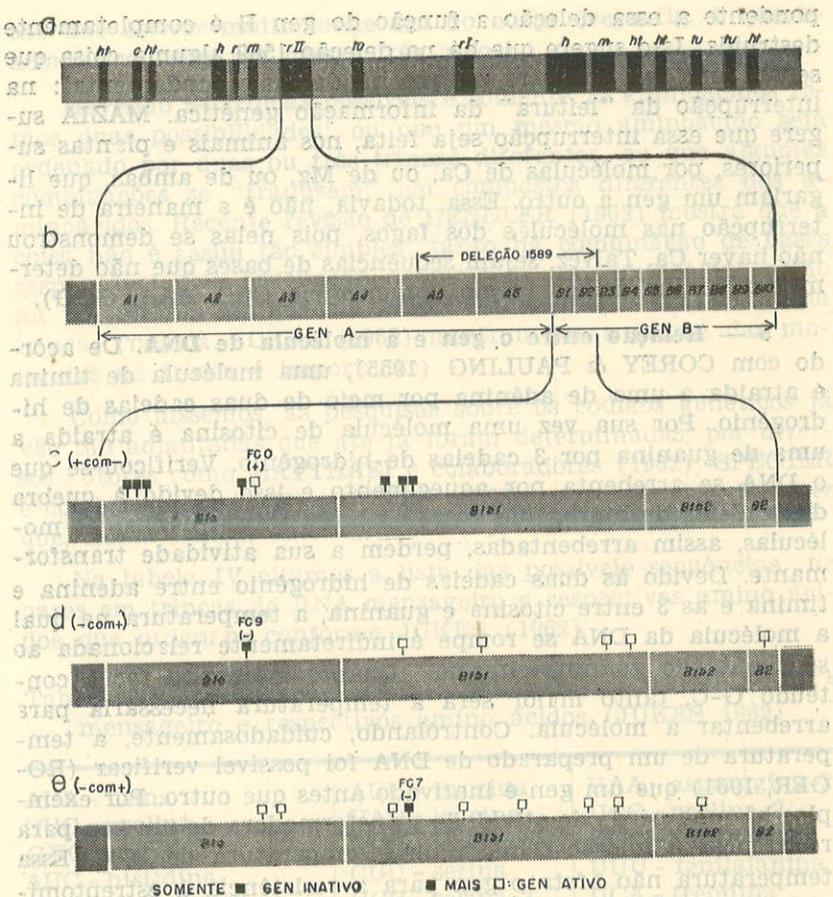


Figura 1

A Região II do Virus T4 representa apenas uma pequena porcentagem da molécula do DNA (ácido desoxyribo-nucleico) responsável pela total reprodução do virus. Essa Região II consiste de 2 gens, A e B. O gen A foi sub-
peado em seis segmentos e o gen B em 10 segmentos (b).
As experiências relatadas neste artigo envolvem mutações no primeiro e no segundo segmento. O gen B é inativado por qualquer mutação que adicione uma base (quadrado branco) ou que a remove (quadrado negro). Mas a atividade é restaurada pela adição e remoção simultânea de uma base, como demonstrado em c, d, e. (redesenhado de CRICK, 1962, pág. 67)

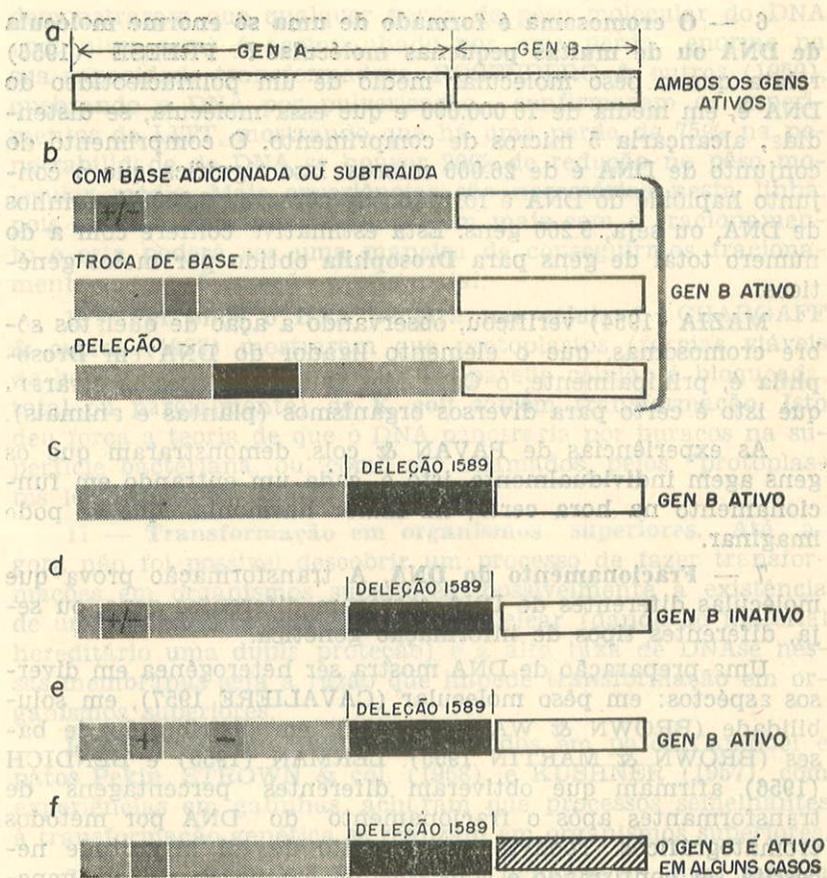


Figura 2

A deleção elimina a barreira entre os gens A e B, unindo-os e tornando o gen B vulnerável às mutações do gen A. As mensagens em dois gens selvagens (a) são lidas independentemente, começando na extremidade esquerda de cada gen. Qualquer que seja o tipo de mutação no gen A, o gen B permanece ativo (b). A deleção, conhecida como 1589, inativa o gen A, mas deixa o gen B ativo (c). Agora, porém, alterações do gen A poderão afetar o gen B, demonstrando que alguma coisa que bloqueava um gen do outro foi retirada e agora são lidos como se fossem um único gen (d, e, f). (Redesenhado de CRICK, 1962, pág. 72).

6 -- O cromosoma é formado de uma só enorme molécula de DNA ou de muitas pequenas moléculas? FREESE (1956) relata que o pêso molecular médio de um polinucleotídeo do DNA é, em média de 10.000.000 e que essa molécula, se distendida, alcançaria 5 micros de comprimento. O comprimento do conjunto de DNA é de 26.000 micros. Isso significa que o conjunto haplóide do DNA é formado de cerca de 5.200 bloquinhos de DNA, ou seja, 5.200 gens. Esta estimativa confere com a do número total de gens para *Drosophila* obtido por meios genéticos.

MAZIA (1954) verificou, observando a ação de quelatos sobre cromosomas, que o elemento ligador do DNA em *Drosophila* é, principalmente, o Ca e Mg. Outros autores mostraram que isto é certo para diversos organismos (plantas e animais).

As experiências de PAVAN & cols. demonstraram que os gens agem individualmente, isto é, cada um entrando em funcionamento na hora certa, na maior harmonia que se pode imaginar.

7 — Fracionamento do DNA. A transformação prova que moléculas diferentes de DNA carregam diferentes gens, ou seja, diferentes tipos de informação genética.

Uma preparação de DNA mostra ser heterogênea em diversos aspectos: em pêso molecular (CAVALIERE 1957), em solubilidade (BROWN & WATSON 1953), em distribuição de bases (BROWN & MARTIN 1955). LERMAN (1955) e BENDICH (1956) afirmam que obtiveram diferentes percentagens de transformantes após o fracionamento do DNA por métodos cromatográficos. Todavia, um assunto de tal magnitude necessita ser confirmado e constitui um campo aberto aos geneticistas-bioquímicos.

Talvez este campo do fracionamento do DNA possa ser atacado por processos imunológicos pois descobriu-se (LEVINE 1960) que o DNA tem capacidade de produzir antígenos.

8 — Biosíntese do DNA. KORNBERG e sua escola mostraram que é possível fazer a síntese do DNA desde que se tenha no meio: DNA (index), Mg^{++} e os trifosfatos desoxinucleosídeos (de timina, adenina, guanina e citosina).

9 — Será que o DNA entra na célula altamente polimerizado ou precisa ser quebrado em pequenas unidades e reformado dentro de bactérias? LERMAN & TOLMASH (1957) demonstraram que a molécula de DNA marcada penetra na célula, porém a pergunta, se ela seria desintegrada ou penetraria integralmente, ficou por resolver-se. LITT & col. (1958)

demonstraram que qualquer perda de pêso molecular do DNA (por ultra som) é acompanhado por uma perda enorme na sua capacidade transformadora. ROSENBERG & outros (1959), quebrando o DNA por pulverização, confirmaram os experimentos de LITT, mostrando que há uma perda de 75% na penetrabilidade do DNA se houver 20% de redução no pêso molecular médio. Mais experiências são necessárias nesta linha, pois os DNA mais compridos sofrem mais com o fracionamento e esta poderá ser uma maneira de conseguirmos fracionamento e transformação preferencial.

10 — **Por onde o DNA penetra nas células?** CHARGAFF & outros (1957) mostraram que protoplastos (formas viáveis de bactérias na qual a síntese da parede celular é bloqueada, total ou parcialmente) de *E. coli* sofrem transformação. Isto deu força a teoria de que o DNA penetraria por buracos na superfície bacteriana, ou, como são chamados, pelos "protoplastos localizados".

11 — **Transformação em organismos superiores.** Até agora não foi possível descobrir um processo de fazer transformações em organismos superiores; possivelmente a existência de uma membrana celular e outra nuclear (dando ao material hereditário uma dupla proteção) e a alta taxa de DNase nessas membranas seja a razão que impede transformação em organismos superiores.

BENOIT & col. (1960), com estudos em patos Campbel e patos Pekin, STROWN & col. (1958), e KUSHNER (1957), com experiências em galinhas, acharam que processos semelhantes à transformação genética se realizam em organismos superiores.

Todavia, BUSCHINELLI (1961) demonstrou que faltava base científica àquelas experiências, sendo que a transformação genética não ocorreu em experimentos que repetiu conforme aqueles feitos pelos pesquisadores russos, suíços e franceses.

12 — **Que faz no olho de uma mosca os gens que afetam as antenas, as patas, a cor do corpo?** Como sabemos cada célula viva, a não ser que tenha perdido pedaços de cromossomas, possui no seu núcleo, codificado nas moléculas de DNA, toda a informação genética que necessita tanto para sua duplicação, como para ser transmitida à geração seguinte (fertilização). Todavia, os seres unicelulares não utilizam toda a informação que possuem num só instante, e nos metazoários muitas células são especializadas (olho, antena) e só necessitam de uma pequena parte da informação contida em todos os

seus gens. O mecanismo que controla tal atividade, ou seja, que permite ao gen de antena agir na antena e que bloqueia sua ação quando estiver no olho, foi recentemente descoberta por RU-CHIH C. HUANG & J. BONNER (1962). Segundo eles uma capa de proteínas serve para "abrir" ou "fechar" o gen. ALLFREY & MIRSKY (1962) conseguiram controlar a ação do DNA por doses determinadas de DNase. Com tal técnica verificaram que a síntese do RNA em timo isolado é diretamente proporcional a quantidade de DNA que não é destruída. O mesmo é verdade para a incorporação de timidina no DNA. Todo o RNA sintetizado no núcleo é do tipo "mensageiro".

A maior parte do DNA é inativa quanto à sua produção de RNA. Todavia, é possível aumentar a produção de RNA fantásticamente (300 a 400%) tratando suspensões nucleares com tripsina, que destruirá 2/3 da capa protéica de histona. A repressão da atividade do DNA por histonas é apresentado como significando o método biológico de controle da síntese do RNA em diferentes sitios dos cromosomas.

Ficou assim descoberta a função das histonas, proteínas encontradas nos cromosomas e que ninguém sabia qual sua função. O funcionamento dos cromosomas, por meio de pequenas partes individuais, já tinha sido há tempos constatado por PAVAN & colaboradores em *Rhynchosciara angelae*.

13 — Será o centrômero a única força no pareamento dos cromosomas? MAGUIRE (1962) mostrou que, em milho, isocromosomas complementares, possuindo homologia somente para a região do cinetocore e um ou dois cromômeros adjacentes, só se pareiam raramente. Com essas observações ela demonstrou que o papel do cinetocore não é tão importante para promover a sinapse, nem é a única.

BIBLIOGRAFIA

- ALLFREY, V. G. & A. E. MIRSKY, 1962 — Evidence for the complete DNA dependence of RNA synthesis in isolated thymus nuclei. *Proc. Nat. Ac. Sc.* 48(9): 1590-1956.
- AUSTRIAN, R., 1952 — Bacterial transformation reactions. *Bacterial Rev.* 16: 31-50.
- AVERY, O. T., C. M. MACLEOD & M. MCCARTY, 1944 — Studies on the chemical nature of the substance in inducing transformation of pneumococcal types. I. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *J. Exptl. Med.* 79: 137-158.

- BENDICH, A., H. B. PAHL & S. M. BEISER, 1956 — Chromatographic fractionation of desoxyribonucleic acids with special emphasis on the transforming factor of *Pneumococcus*. *Cold Spring Harbor Symposia of Quantitative Biol.* 21: 31-48.
- BENOIT, JACQUES, PIERRE LEROY, Mme. COLLECTTE VENDRELY & ROSER VENDRELY, 1960 — Nouvelles observations sur le Canards Pekin injectés d'acide désoxyribonucleique de Khaki en 1956 et sur leurs descendants. Comparaison des sujets modifiés et des Pekin témoins. Extrait des Comptes rendus des séances de l'Academie des Sciences, t. 250, p. 211-213. Séance du 4 janvier 1960.
- BROWN, G. L. & M. WATSON, 1953 — Heterogeneity of desoxyribonucleic acids. *Nature* 172: 339-342.
- BROWN, G. L. & A. V. MARTIN, 1955 — Fractionation of the desoxyribonucleic acid for T2r bacteriophage. *Nature* 176: 971-972.
- BUSCHINELLI, A., 1961 — Injeções periódicas de sangue em aves e suas implicações genéticas, tese para doutoramento em Ciências, 142 pp., 11 figs., Rio Claro, S. P.
- COREY, R. B. & L. PAULING, 1955 — *Ren. Inst. Lombard Sci.* 89-90.
- CAVALIERI, L. F., 1957 — Paucidisperse desoxyribonucleic acid and its use in the study of genetic determinants. *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 5319.
- CHARGAFF, E., H. M. SCHULMAN & H. J. SHAPIRO, 1957 — Protoplasts of *E. coli* as sources and acceptors of deoxypentose nucleic acid: rehabilitation of a deficient mutant. *Nature* 180: 851-852.
- CRICK, F. H. C., 1962 — The genetic code. *Scient. Amer.* 207(4): 66-74.
- FOX, M. S., 1957 — Desoxyribonucleic acid incorporation by transformed bacteria. *Biochim. et Biophys. Acta* 26: 83-85.
- FREESE, E., 1958 — The arrangement of D.N.A. in the chromosome. *Cold Spring Harbor Symposia of Quant. Biol.* 23: 13-18.
- GRIFFITH, F., 1928 — Significance of pneumococcal types. *J. Hyg.* 27: 113-159.

- HENDLER, R. W., 1962 — On the agreement of amino acid replacement data with code designations for the amino acids. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 48(8): 1402-1408.
- HUANG, RU-CLUH C. & JAMES BONNER, 1962 — Histone, a suppressor of chromosomal R.N.A. synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 48: 1216-1222.
- JUKES, THOMAS H., 1962 — Relation between mutations and base sequences in the amino acid code. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 48(10): 1809-1815.
- KORNBERG, A., 1960 — Biologic synthesis of deoxyribonucleic acid. *Science* 131: 1503-1508.
- KUSCHNER, H. F., 1957 — The influence of metabolic factors on the heredity of animals. *Proceedings of the International Genetics Symposia*, 515-519. Supplement. Vol. of International Genetics Symposia, 1956: 515-519. Supplement. Vol. of International Journ. of Cytology. Issued July 30, 1957.
- KUSHNER, KH. F., E. TOLOKNONNIKOVA & L. G. MOISFEVA, 1959 — Changes in the plumage coloration of the offspring of hens infused with various components of "foreign" blood. (Presented by Academician T. D. Lysenko).
- LERMAN, L. S., 1955 — Chromatographic fractionation of the transforming principle of the pneumococcus. *Biochim. et Biophys. Acta* 18: 132-134.
- LERMAN, L. S. & L. J. TOLMACH, 1957 — Genetic transformation. I. in *Pneumococcus*. *Biochim. et Biophys. Acta* 26: 68-82.
- LEVINE, L., W. T. MURAKAIL, H. VAN VUMAKIS & L. GROSSMAN, 1960 — Specific antibodies to thermally denatured deoxyribonucleic acid of phage T-4. *Proc. Nat. Acad. Sci. W. S.* 46: 1038-1043.
- LITT, M. & A. B. PARDEE, 1956 — Production of bacteriophage mutants by a disturbance of deoxyribonucleic acid metabolism. *Nature* 178: 529-532.
- MAGUIRE, MARJORIE P., 1962 — Pachytene and diakinesis behavior of the isochromosomes 6 of maize. *Science* 138 (3538): 445-446.
- MAZIA, DANIEL, 1954 — The particulate organization of the chromosome. *Trans. Nat. Acad. Sc.* 40(6): 521-527.

MCCARTY, M., H. E. TAYLOR & O. T. AVERY, 1946 — Biochemical studies of environmental factors essential in transformation of pneumococcal types. **Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.** 11: 177-183.

MIRSKY, A., 1947 — Discussion, following paper by Boivin. **Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.** 12: 16.

MATTHAEI, J. H., O. W. JONES, R. G. MARTIN & N. W. NIRENBERG, 1962 — Characteristics and composition of R.N.A. coding units. **Proc. Nat. Acad. Sc.** 48: 666-677.

RANGER, M., 1961 — (in Sager and Ryan 1961).

ROSENBERG, B. H., F. M. SIROTNAK & L. P. CAVALIERI, 1959 — On the size of genetic determinants in **Pneumococcus** and the nature of the variables involved in transformations. **Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.** 45: 144-156.

PIZA, S. DE TOLEDO JR., 1962a — Considerações em torno do código genético. **Rev. de Agric.** 37(3): 115-122.

PIZA, S. DE TOLEDO JR., 1962b — Chromosomes at work in Heredity. **Rev. de Agric.** 37(2): 105-106.

PIZA, S. DE TOLEDO JR., 1962c — A velha e a nova Genética. **Rev. de Agric.** 37(4): 163-170.

SAGER, RUTH & FRANCIS J. RYAN, 1961 — **Cell Heredity**, xi + 411 pp., John Wiley & Sons, Inc., N. York.

SPEYER, J. F., P. LENGYEL, C. BASILIO & S. OCHOA, 1962 — Synthetic polynucleotides and the amino acid code. IV. **Proc. Nat. Ac. Sc.** 48: 441-448.

STROUN, J., STROUN GUTIERRES, L. ROSSI-ROESGEN, J. ROSSI & M. STROUN, 1958 — Modification provoked in the White Leghorn chicken by blood injections from the grey Guinea-fowl (Problems in unsettling the stability of characters). Sep. Xth. International Congress of Genetics. Montreal, 1958.