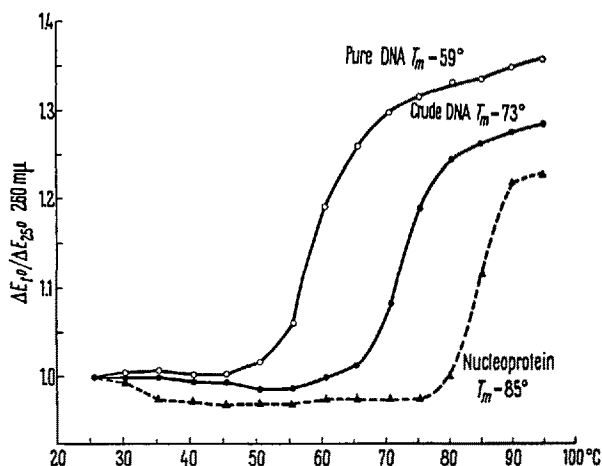


Atomic extinction coefficients  $\epsilon(P)$  of 'crude' and 'pure' DNA preparations before and after thermal denaturation, 'melting point'  $T_m$  and residual histone content. The standard error is given

	'pure' DNA	'crude' DNA	Nucleoprotein
Residual histone (% of DNA)	$0.43 \pm 0.06$ (14)	$3.11 \pm 0.26^a$ (14)	—
$\epsilon(P)$ in native state	$6725 \pm 82$ (10)	$7457 \pm 75^a$ (11)	$7538 \pm 263$ (6)
$\epsilon(P)$ in denatured state	$8958 \pm 127$ (10)	$9473 \pm 71^a$ (11)	—
$\Delta\epsilon(P)$ of individual experiments	$+ 2278 \pm 75$ (10)	$+ 2015 \pm 87^b$ (11)	—
$\Delta\epsilon(P)$ in % of $\epsilon(P)$ native	$+ 33.8\%$	$+ 27.0\%$	—
$T_m$ in $0.0025 M NaNO_3$	$58.5^\circ \pm 1.6^\circ$ (8)	$65.6^\circ \pm 1.9^\circ$ (9)	$83.8^\circ \pm 1.4^\circ$ (6)

\* Difference crude-pure signif. at  $p < 0.005$ . <sup>b</sup> Difference crude-pure signif. at  $p < 0.05$ . <sup>c</sup> Difference crude-pure signif. at  $p < 0.02$ .

or 33.8%) than in the 'crude' DNA (+ 2015, 27.0%). Since the increase in UV-extinction at 260 m $\mu$  on heating a DNA solution is considered to be a sign of the breaking of the purine-pyrimidine hydrogen bonds holding the double helix together<sup>11</sup>, the lower value for  $\Delta\epsilon(P)$  shown by the



Thermal denaturation of 'pure' DNA (0.45% residual histone), 'crude' DNA (3.65% residual histone), and intact nucleoprotein from the same individual bovine thymus. Extinctions read at ambient temperatures, in  $0.0025 M NaNO_3$ .

DNA with the higher histone content would appear to indicate incomplete denaturation due to a stabilizing effect of the residual protein. The possible objection that the higher  $\epsilon(P)$  of the unheated 'crude' DNA shows a partial denaturation, does not seem valid, since on further purification the 'pure' DNA with the expected  $\epsilon(P)$  for undenatured DNA is obtained<sup>6,12</sup>. The considerable increase in  $T_m$  from the 'pure' to the 'crude' DNA and to the intact nucleoprotein also suggests a stabilizing effect of the histones on the DNA structure<sup>13</sup>.

**Zusammenfassung.** Durch grösseren Gehalt an Rest-histon wird die Stabilität von Desoxyribonucleinsäure gegenüber der thermischen Denaturierung in  $0.0025 M NaNO_3$  erhöht, und die Zunahme des atomaren Extinktionskoeffizienten  $\epsilon(P)$  während der Denaturierung verringert.

H. P. VON HAHN

*Institut für experimentelle Gerontologie, Basel (Switzerland), November 18, 1964.*

<sup>11</sup> J. MARMUR, R. ROWND, and C. L. SCHILDKRAUT, *Progr. Nucl. Acid Res.* 1, 232 (1963).

<sup>12</sup> S. L. BUNCH and B. V. SIEGEL, *Exper.* 20, 14 (1964).

<sup>13</sup> I would like to express my gratitude to Prof. F. VERNER for his encouragement and advice, and to Mrs. G. PRANNER for skilled assistance.

### Résultats de greffes coelomiques d'ébauches gonadiques de Poulet de 4 jours

Le hasard est à l'origine du présent travail. Nous nous étions proposé d'étudier l'évolution du mésonephros d'embryon de Poulet dans les conditions de la greffe coelomique et avions choisi entre autres des embryons de 4 jours comme donneurs. Or, à ce stade, l'ébauche gonadique ne se détache pas encore très nettement du mésonephros et il nous était arrivé, dans 3 cas sur douze, de la transplanter en tout ou en partie en même temps que le fragment de mésonephros. Dans les 3 cas, elle s'était diffé-

renciée en un testicule apparemment normal au sein d'un hôte femelle qui, dans les 3 cas, était pratiquement dépourvu de canaux de Müller. Mais en soumettant les transplantés à l'examen histologique, nous nous aperçûmes de la féminisation partielle de l'un d'eux (WENIGER et MALINOWSKA<sup>1</sup>). Nous avons voulu reproduire ces résultats.

**Matériel et méthode.** L'œuf de Poule de race Leghorn blanche (*Gallus gallus* L.) nous servit de matériel d'expérience.

<sup>1</sup> J.-P. WENIGER et W. MALINOWSKA, *Zool. pol.* 14, fasc. 1-2 (1964).

La technique utilisée fut celle des greffes coelomiques (HAMBURGER<sup>2,3</sup>, WOLFF<sup>4</sup>). A la suite d'ANCEL<sup>5</sup>, nous fermions la fenêtre ouverte dans la coquille à l'aide d'un morceau de ruban adhésif.

L'ébauche gonadique gauche d'embryons donneurs de 4 jours fut découpée en deux et chaque moitié transplantée dans la cavité coelomique d'un hôte de 53 à 60 h.

Les pièces destinées à l'examen histologique furent fixées au liquide de Bouin, incluses dans la paraffine, débitées en coupes sériées de 5  $\mu$  d'épaisseur et colorées à la laque ferrique de l'hématoxyline et à l'éosine.

**Résultats.** Trois des 34 embryons hôtes moururent avant l'âge de 11 jours, les trente-et-un autres furent sacrifiés entre 11 et 13 jours. Chez cinq d'entre eux, nous ne retrouvâmes pas le transplant; chez un, nous le trouvâmes libre dans la cavité abdominale, chez un autre, relié par un ligament au mésonephros, mais sans s'être développé. Les vingt-quatre transplants restants s'étaient développés. Les combinaisons suivantes s'étaient réalisées:

- 6 combinaisons hôte ♂ – transplant testiculaire
- 6 combinaisons hôte ♀ – transplant ovarien
- 7 combinaisons hôte ♂ – transplant ovarien
- 5 combinaisons hôte ♀ – transplant testiculaire.

Chez quatre des 7 hôtes mâles porteurs d'un transplant ovarien, celui-ci était fixé à la paroi abdominale latérale,

chez un cinquième, à la paroi thoracique. Dans aucun de ces cas, le testicule gauche ne parut féminisé et ne fut examiné histologiquement. Les deux autres transplants ovariens étaient fixés l'un sur le mésonephros, l'autre à la paroi abdominale dorsale. Dans ce dernier cas, le testicule gauche parut féminisé, non dans le premier, mais l'examen histologique révéla qu'il l'était dans les 2 cas (Figure 1).

Chez tous les 5 hôtes femelles porteurs d'un transplant testiculaire, les canaux de Müller avaient régressé pratiquement complètement. Un transplant était féminisé, celui qui, par rapport aux quatre autres, s'était trouvé dans une situation privilégiée, fixé sur l'ovaire (Figures 2 et 3).

**Discussion.** Au sein du couple hôte femelle de 2½ jours – ébauche testiculaire de 4 jours, les actions hormonales se font dans les deux sens, du transplant vers l'hôte et vice versa. C'est aussi ce qui se passe chez les embryons jumeaux de sexe opposé, issus d'œufs de Poule à deux jaunes (LUTZ et LUTZ-OSTERTAG<sup>6</sup>). Toutefois, ce qu'il y a

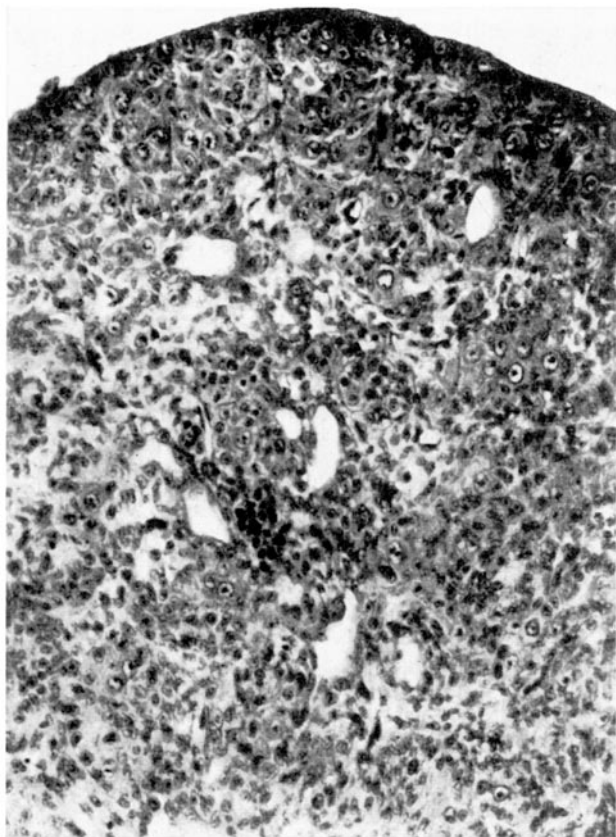


Fig. 1. La moitié antérieure de l'ébauche gonadique gauche d'un embryon de Poulet de 4 jours a été transplantée dans la cavité coelomique d'un hôte de 54 h. Elle se différencie en un ovaire au sein d'un hôte mâle dont elle féminisa le testicule gauche. La photographie montre la structure histologique de ce testicule féminisé: sous un cortex bien développé, on trouve une médulla lacunaire. 10 jours de transplantation.  $\times 290$ .

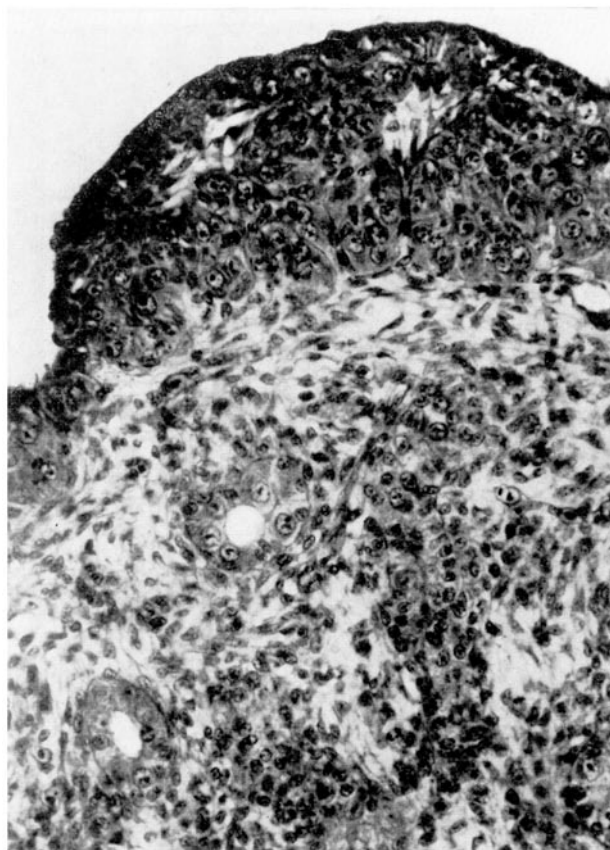


Fig. 2. Moitié postérieure d'une ébauche testiculaire de 4 jours féminisée du fait de sa transplantation dans la cavité coelomique d'un hôte femelle de 55 h où elle s'est fixée sur l'ovaire. 11 jours de transplantation. La photographie montre très bien le processus de formation des lacunes médullaires.  $\times 360$ .

<sup>2</sup> V. HAMBURGER, J. exp. Zool. 77, 379 (1938).

<sup>3</sup> V. HAMBURGER, *A Manual of Experimental Embryology* (The University of Chicago Press, Chicago 1942).

<sup>4</sup> Et. WOLFF, Arch. Anat. micr. Morph. exp. 36, 69 (1946–1947).

<sup>5</sup> P. ANCEL, J. Embryol. exp. Morph. 7, 330 (1959).

<sup>6</sup> H. LUTZ et Y. LUTZ-OSTERTAG, Bull. Soc. zool. 84, 135 (1959); Developmental Biol. 1, 364 (1959).

lieu de faire remarquer, c'est que les actions dans les deux sens, masculinisante et féminisante, sont plus fortes dans le cas de la transplantation que dans celui du free-martinisme. Mais cela se comprend, puisque le transplant est logé dans la cavité abdominale même de l'hôte, alors que les embryons jumeaux n'entrent en rapport que par l'intermédiaire de leur allantoïde et seulement à partir du 7<sup>e</sup> jour.

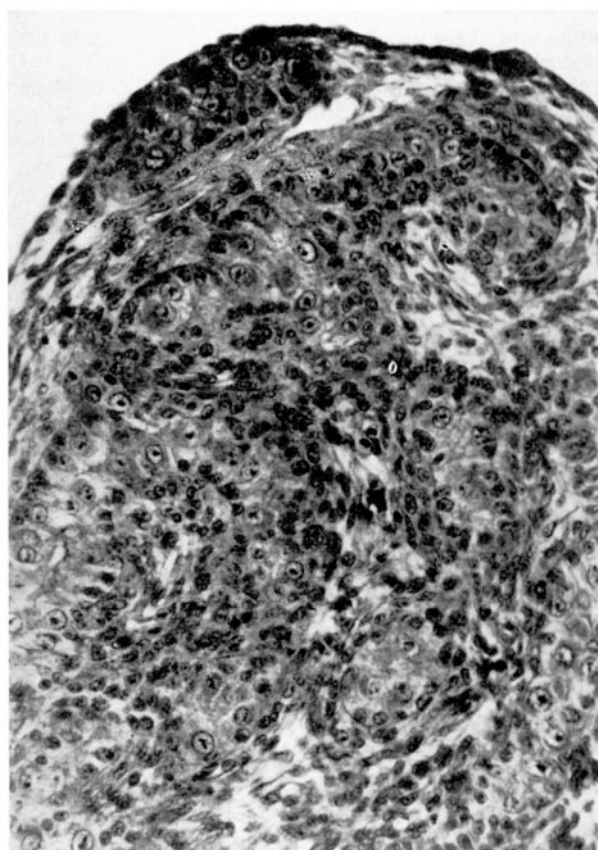


Fig. 3. Moitié antérieure de la même ébauche différenciée en un testicule normal au sein d'un hôte mâle.  $\times 360$ .

Au sein du couple hôte mâle-transplant ovarien, celui-ci exerce son effet féminisant sur l'hôte, mais échappe à toute action de sa part. En fait, jamais encore, dans aucune condition expérimentale, le développement de l'ovaire ne s'est trouvé modifié (WOLFF<sup>7</sup>, WENIGER<sup>8</sup>).

Comparons maintenant nos résultats à ceux obtenus par WOLFF<sup>4</sup> en 1946. WOLFF avait greffé des fragments de gonades mâles et femelles d'embryon de Poulet de 6 à 11 jours dans la somatopleure d'embryons hôtes de 48 à 52 h et avait constaté, chez les hôtes mâles porteurs d'un transplant ovarien, la transformation du testicule gauche en un ovotestis, accompagnée, dans 1 cas au moins, de la persistance d'un segment proximal du canal de Müller gauche, chez les hôtes femelles porteurs d'un transplant testiculaire, la disparition complète des deux canaux de Müller.

A l'aide de transplants de 2 jours plus jeunes que les plus jeunes des transplants de WOLFF, nous aboutissons aux mêmes résultats, sauf que nous n'avons jamais observé la persistance d'un tronçon de canal de Müller. En revanche, nous avons obtenu la féminisation partielle du transplant testiculaire, selon ce qu'avait prévu WOLFF: «Il est vraisemblable», avait-il écrit, «que si l'on utilisait comme transplants des ébauches gonadiques contemporaines de l'hôte, elles subiraient l'action des hormones de l'hôte» (WOLFF<sup>4</sup>, p. 88).

*Zusammenfassung.* Wie WOLFF vorausgesagt hat, entwickelt sich eine 4 Tage alte Hodenanlage, auf einen zweieinhalbtägigen Hühnerembryo weiblichen Geschlechts überpflanzt, zu einem Ovotestis, bewirkt aber beim Wirt die völlige Zurückbildung der Müllerschen Gänge. Bei der Überpflanzung einer Ovarialanlage auf einen männlichen Wirt wird dessen linker Hoden feminisiert, das verpflanzte Ovarium hingegen entwickelt sich normal weiter.

W. MALINOWSKA et J.-P. WENIGER

*Chaire d'Anatomie et d'Histologie animales de l'École d'Agriculture, Cracovie (Pologne) et Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale de la Faculté des Sciences, Strasbourg (France), le 7 octobre 1964.*

<sup>7</sup> ET. WOLFF, Arch. Anat. micr. Morph. exp. 39, 426 (1950).

<sup>8</sup> J.-P. WENIGER, Arch. Anat. micr. Morph. exp. 30, 269 (1961).

### N,N'-di(piperidino-methyl)-3,3'-diindolyl-methane (DIM), a Diindolylmethane Derivative of Neuroplegic Action

In the past years, several synthetic chemical trials have been performed to prepare serotonin-antagonists by substitution on the indole nucleus. Most of these compounds possess no central effects whatever, although some of them antagonized serotonin almost as potently as LSD<sup>1-6</sup>. Other compounds, however, showed a marked central depressant activity<sup>7,8</sup>. The latter results indicated that by

<sup>1</sup> E. N. SHAW and D. W. WOOLLEY, J. Pharmacol. exp. Therap. 116, 164 (1956).

<sup>2</sup> G. ERHART and J. HENNING, Arch. Pharm. 294, 550 (1961).

<sup>3</sup> G. QUADBECK and E. RÖHM, Hoppe-Seyler's Z. 297, 229 (1954).

<sup>4</sup> R. N. CASTLE and CH. W. WHITTLE, J. org. Chem. 24, 1189 (1959).

<sup>5</sup> CH. W. WHITTLE and R. N. CASTLE, J. pharm. Sci. 52, 645 (1963).

<sup>6</sup> L. S. HARRIS and F. C. UHLE, J. Pharmacol. exp. Therap. 128, 358 (1960).

<sup>7</sup> T. B. O'DELL, M. D. NAPOLI, and J. H. MIRSKY, First Internat. Pharmacological Meeting, vol. 8, p. 137 (1962) (Ed.: B. UVNÄS, Pergamon Press).

<sup>8</sup> J. H. MIRSKY, H. D. WHITE, and TH. B. O'DELL, J. Pharmacol. exp. Therap. 125, 122 (1959).