

Une forme de goître héréditaire chez le Batracien *Xenopus laevis* D.

Au cours d'une analyse génétique d'individus (*Xenopus laevis*) issus de la transplantation d'un noyau d'endoderme dans un oeuf énucléé, nous avons observé une anomalie héréditaire affectant le développement de la thyroïde. Celle-ci a été désignée par «g» (goître), et correspond à l'anomalie M2 décrite antérieurement par FISCHBERG et al.¹. Il n'est pas possible de déterminer l'origine de cette mutation, les parents du donneur du noyau injecté étant morts avant la fin de l'analyse.

Description de l'anomalie «g». Le syndrome «g» est défini par les caractères suivants:

(1) Retard de la métamorphose. Dans les conditions normales, la métamorphose se produit chez les têtards âgés de 35 à 40 jours. Nous avons adopté comme critère pour établir des comparaisons: le moment où 50% des têtards d'un élevage sont entrés en métamorphose (stade 58 selon NIEUWKOOP et FABER²). Dans les individus atteints, la métamorphose se trouve retardée dans des limites oscillant entre quelques et 70 jours après la période normale.

(2) Croissance continue jusqu'au début de la métamorphose. La longueur totale (tête-queue) maximum (stade 58, à la fin de la prémétamorphose), est proportionnelle au retard. Cette longueur totale peut atteindre 125 mm; la moyenne des normaux varie autour de 70 mm.

(3) La mortalité des atteints est au-dessus du taux normal pendant la prémétamorphose et la métamorphose.

(4) Formation d'un goître hyperplasique. Au courant de la prémétamorphose, les anormaux développent un goître qui déborde souvent de la cavité cartilagineuse propre à la thyroïde, et qui présente une très forte vascularisation. Ce goître subsiste après la métamorphose, formant une excroissance dure chez les animaux adultes. L'examen histologique de la thyroïde anormale montre qu'il s'agit d'un goître parenchymateux avec hyperplasie épithéliale, contenant relativement peu de colloïde. L'image indiquerait une thyroïde hyperactive, avec très intense élimination de la colloïde.

Evidences pour l'origine génétique de l'anomalie «g». Parmi 29 individus impliqués dans des analyses géné-

tiques, seule la femelle ♀ 77 (endo 36) présente une descendance atteinte par l'anomalie «g». Les croisements qui ont produit des têtards anormaux sont les suivants: F₁ inter se, F₂ inter se, croisement en retour P (♀ 77) × F₁, ainsi que quelques croisements avec des individus d'une deuxième F₁, obtenus avec un mâle différent. D'autres croisements ont produit une descendance entièrement normale.

La réalisation de l'anomalie dépend des conditions externes saisonnières: les mêmes couples produisent en hiver une progéniture entièrement normale, alors qu'en été celle-ci contient de 25% à 35% d'anormaux «g». Cette expression variable rend laborieuse la détermination des porteurs de la mutation. Aussi interdit-elle actuellement encore l'interprétation des pourcentages d'anormaux. Les facteurs externes (température, lumière, qualité de l'eau, etc.) contrôlant l'expression de l'anomalie, sont à l'étude. Cela permettra alors de déterminer le mode de transmission de l'anomalie «g».

Summary. A hyperplastic hereditary goitre, related to a delay of metamorphosis, was found in a female frog of the species *Xenopus laevis*. The expression of the trait seems to depend on external conditions.

VERENA UEHLINGER

Station de Zoologie expérimentale, Université de Genève (Suisse), le 23 novembre 1965.

¹ M. FISCHBERG, A. W. BLACKLER, V. UEHLINGER, J. REYNAUD, A. DROIN et J. STOCK, *Nucleo-cytoplasmic Control of Development*. Proc. 11th Intern. Congr. Genet., sous presse (1963).

² P. D. NIEUWKOOP et J. FABER, *Normal Table of Xenopus laevis* (Daudin) (North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1956).

³ Remerciements: La femelle ♀ 77 (endo 36) a été obtenue par J. B. GURDON au cours de ses expériences de transplantation nucléaire, et nous a été confiée pour l'analyse génétique par le professeur M. FISCHBERG. Qu'ils soient remerciés, ainsi que Mademoiselle K. PONSE, professeur d'endocrinologie, qui nous a aidée dans l'interprétation histologique de l'anomalie.

Synthese und biologische Aktivität bradykininwirksamer Undeca-, Dodeca- und Tridecapeptide¹

Durch Inkubation einer säurebehandelten Pseudoglobulinfraktion aus Rinderplasma bei pH 7,5 konnte von ELLIOTT et al.^{2,3} ein von Bradykinin und Kallidin verschiedenes und als Methionyl-lysyl-bradykinin identifiziertes Kinin isoliert werden. Kurze Zeit nach der Strukturauflösung wurde auch die Synthese des Undecapeptids publiziert⁴. Vorliegende Arbeit beschreibt die Synthese und biologische Aktivität einiger Undecapeptide und eines Dodecapeptides, die durch Austausch des N-terminalen Methionylrestes im Methionyl-lysyl-bradykinin durch den D-Methionyl-, L-Phenylalanyl-, L-Seryl-, L-Lysyl- und L-Lysyl-L-lysyl-rest entstanden sind. Neben einem Methionyl-lysyl-(Gly⁶-Bradykinin) wurde schliesslich auch ein Tridecapeptid, ein am N-terminalen Ende

mit dem L-Seryl-L-lysyl-rest verlängertes Methionyl-lysyl-bradykinin hergestellt. Zur Synthese der Verbindungen wurden durch den tert.-Butyloxycarbonylrest bzw. Carbobenzoxycarbonyl- und tert.-Butyloxycarbonylrest geschützte Dipeptidhydrazide (bzw. Tri- oder Tetrapeptidhydrazide) mittels tert.-Butylnitrit⁵ in die Azide überführt und diese mit Bradykinindihydrochlorid kondensiert. Die auf diese Weise erhaltenen geschützten Peptide

¹ Über Peptidsynthesen XXXIV. 7. Mitt. über Bradykinin- und Kallidin-Analoga. XXV. Mitt. über Peptidsynthesen, 6. Mitt. über Bradykinin- und Kallidin-Analoga: E. SCHRÖDER, H.-S. PETRAS und E. KLEGER, *Liebigs Ann.* 679, 221 (1964).

² D. F. ELLIOTT, G. P. LEWIS und D. G. SMYTH, *Biochem. J.* 87, 21P (1963).

³ D. F. ELLIOTT und G. P. LEWIS, *Biochem. J.*, in press.

⁴ E. SCHRÖDER, *Exper.* 20, 39 (1964).

⁵ J. HONZL und J. RUDINGER, *Coll. Czech. chem. Comm.* 26, 2333 (1961).

Methionyl-lysyl-bradykinin und Methionyl-lysyl-bradykinin-analoga

Nr.	Veränderung in Position	Name	Aminosäuresequenz	Biologische Aktivität	Meerschweinchen- ileum (isoliert)	Kaninchen- blutdruck
I		Bradykinin	H-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH ⁹⁻¹¹	1 · 10 ⁻¹⁰ g/ml = 1	1 · 10 ⁻⁹ g/ml = 1	5 · 10 ⁻⁸ g/kg = 1
		Met-Lys-Bradykinin	H-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH ²⁻⁴ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11	1/4 ^{3,3} 1/3 ⁴	1/4 ^{3,3} 1/3 ⁴	— 2-3
			BOC ↓			
II	1 + 2	[BOC-Met-Lys(BOC)-Arg] ¹ -Bradykinin	BOC-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH O ↑	< 1/150	< 1/150	1/300
III	1	Met-Lys-Bradykinin-sulfoxyd	H-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH O ₂ ↑	1-3	1/5	1
IV	1	Met-Lys-Bradykinin-sulfon	H-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1/10	1/10	1/3
V	1	(D-Met-Lys-Arg) ¹ -Bradykinin	H-D-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1/2	1/5	2-3
VI	1	(Lys-Lys-Arg) ¹ -Bradykinin	H-Lys-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1/2	1/5	8-10
VII	1	(Phe-Lys-Arg) ¹ -Bradykinin	H-Phe-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1	1/15	1,5-2
VIII	1	(Ser-Lys-Arg) ¹ -Bradykinin	H-Ser-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1	1/10	2-3
IX	8	(Met-Lys-Arg) ¹ -[Gly ⁸ -Bradykinin]	H-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg-OH	1	1	2,5
X	1	(Lys-Lys-Lys-Arg) ¹ -Bradykinin	H-Lys-Lys-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1/5	1/5	8-10
XI	1	(Ser-Lys-Met-Lys-Arg) ¹ -Bradykinin	H-Ser-Lys-Met-Lys-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH	1/8	1/15	1

Alle synthetisierten Peptide wurden durch Elementaranalyse (C, H, N, CH₃CO- und H₂O-Bestimmung) sowie durch quantitative Aminosäureanalyse charakterisiert. Die am Rattenuterus und Meerschweinchenileum ermittelten Werte resultieren aus den Schwellendosen im Vergleich zum synthetischen Bradykinin. Die Blutdruckwerte (Kaninchen) wurden aus der Dosis-Wirkungskurve (halblogarithmische Auftragung) im Bereich einer 10 bis 35%igen Senkung ermittelt.

wurden katalytisch hydriert und zur Abspaltung der tert.-Butyloxycarbonylgruppe mit Trifluoressigsäure behandelt, bzw. direkt mit Trifluoressigsäure in die freien Peptide überführt. Die rohen Polypeptidtrifluoracetate wurden anschliessend durch präparative trägerfreie Elektrophorese^{6,7} in Pyridiniumacetatpuffer pH 5 gereinigt und durch Gefriertrocknung als Acetathydrate isoliert. Gegenüber Leucinaminopeptidase, Carboxypeptidase A und B, Trypsin und Chymotrypsin verhielten sich die einzelnen Peptide wie entsprechend ihrer Struktur zu erwarten ist.

Met-Lys-Bradykinin liess sich durch 3 h Behandlung mit 1 molarem H_2O_2 in 50%iger Essigsäure in Met-Lys-Bradykinin-sulfoxid und mit Perameisensäure⁸ in Met-Lys-Bradykinin-sulfon überführen. Nach Abbau mit Leucinaminopeptidase konnte im Fall des Sulfoxids kein Methionin und im Fall des Sulfons kein Methionin und Methionin-sulfoxid nachgewiesen werden.

In der Tabelle sind die Verbindungen mit ihren biologischen Daten zusammengestellt. Alle sind hochaktiv, wie ein Vergleich der an glattmuskulären Organen (Rattenuterus und Meerschweinchenileum) gefundenen Schwellendosen zeigt. Die Aktivität ist, abhängig vom Testorgan, nur geringfügig höher oder niedriger als die des Methionyl-lysyl-bradykinins. Am Kaninchenblutdruck sind die Verbindungen V, VIII und IX gleich, die Verbindungen VII und XI ein wenig geringer aktiv als Methionyl-lysyl-bradykinin. Lysyl-lysyl- und Lysyl-lysyl-lysyl-bradykinin (VI und X) sind ca. 8-10mal so wirksam wie Bradykinin. Oxydation des Methionylrestes im Methionyl-lysyl-bradykinin zum Methionin-sulfoxid mindert die Aktivität am Kaninchenblutdruck bis zum

Niveau des Bradykinins herab. Weitere Oxydation zum Methionin-sulfon bewirkt einen zusätzlichen Wirkungsabfall (1/3 der Bradykininaktivität).

Summary. Several undeca-, dodeca- and tridecapeptides, analogues of the naturally occurring methionyl-lysyl-bradykinin, have been synthesized. The biological activities of the new compounds on the isolated rat uterus, guinea-pig ileum and rabbit blood pressure are presented.

E. SCHRÖDER

Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin-West (Deutschland), 29. Dezember 1964.

⁶ J. BARROILLIER, E. WATZKE und H. GIBIAN, *Z. Naturforsch.* 13b, 754 (1958).

⁷ E. SCHRÖDER und S. MATTHES, *J. Chromat.*, in press.

⁸ C. H. W. HIRS, *J. biol. Chem.* 219, 611 (1956).

⁹ A. CERLETTI, E. STÖRMER und H. KONZETT, *Dtsch. med. Wschr.* 86, 678 (1961).

¹⁰ E. D. NICOLAIDES und H. A. DEWALD, *J. org. Chem.* 26, 3872 (1961).

¹¹ M. BODANSZKY, M. A. ONDETTI, B. RUBIN, J. J. PIALA, J. FRIED, J. T. SHEEHAN und C. A. BIRKHIMER, *Nature* 194, 485 (1962).

¹² Die präparativen Arbeiten wurden mit grosser Sorgfalt von Herrn M. LEHMANN und Frl. D. THIELICKE, die enzymatischen Abbauversuche und die quantitativen Aminosäurebestimmungen von Herrn G. KLOSS durchgeführt. Herrn Dr. R. HEMPEL aus unserer pharmakologischen Abteilung danke ich für die biologische Auswertung der Präparate.

Sur l'origine de l'hypoblaste chez les oiseaux^{1,2}

Dans la littérature embryologique moderne, l'origine du feuillet interne chez les oiseaux reste encore un problème très controversé. Les auteurs, qui se sont penchés sur cette question, ont employé des techniques parfois assez différentes, ce qui complique singulièrement la comparaison de leurs résultats. Pour cette raison, nous croyons utile d'aborder le problème, d'une part en recourant à une technique déjà utilisée, à savoir le marquage au charbon, et d'autre part en faisant appel à une technique plus moderne, qui, selon nous, pourrait apporter une solution définitive. Cette dernière méthode consiste à marquer le nœud de Hensen par la thymidine tritiée.

Des jeunes blastoderms de White Leghorn sont cultivés in vitro selon la technique de NEW³, légèrement modifiée par GALLERA et CASTRO-CORREIA⁴. Des opérations microchirurgicales ont été pratiquées chez des embryons aux stades de la ligne primitive courte, moyenne ou encore achevée. Pour ce genre d'opération, nous employons des aiguilles en irido-platine d'une épaisseur de 0,02 mm.

Dans les expériences que nous avons relatées dans un travail précédent (MODAK⁵), nous avons constaté que l'enlèvement de l'hypoblaste dans toute l'aire pellucide était suivi d'une régénération presque complète du feuillet interne, si l'opération avait été effectuée sur des blastoderms avant le stade de la ligne primitive achevée. L'endoblaste néo-formé était constitué par l'endoblaste

vitellin reformé aux dépens du bord interne du rempart et, sous la région antérieure de la ligne primitive, par de l'endoblaste de caractère endothéloïde. La continuité entre ces deux régions de l'endoblaste existait dans tous les cas que nous avons observés, sauf généralement dans la région antérieure de l'aire pellucide. Aussi subsistait-il une équivoque quant à la signification de cet endoblaste de caractère endothéloïde: provenait-il de cellules invaginées par la ligne primitive ou bien d'une simple transformation des cellules de l'endoblaste vitellin qui auraient migré jusqu'à ce niveau? Pour résoudre ce problème, nous avons décidé de recourir à diverses techniques de marquage.

Chez 41 blastoderms, nous avons appliqué de fines marques de charbon sur la région ventrale du nœud de Hensen après avoir excisé l'hypoblaste dans toute l'aire pellucide. Ces blastoderms ont été fixés à des stades successifs du développement. Sur les coupes, nous retrouvons les particules de charbon incorporées dans les

¹ Travail subventionné par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

² L'auteur a bénéficié d'une bourse fédérale suisse pour les étudiants étrangers.

³ D. A. T. NEW, *J. Embryol. exp. Morph.* 3, 326 (1955).

⁴ J. GALLERA et J. CASTRO-CORREIA, *C. r. Soc. Biol.* 154, 2014 (1960).

⁵ S. P. MODAK, 2^e Réun. Eur. d'Anat., Bruxelles (1963).