20. Über die Induktionsleistung der SH-Gruppe. Versuche an Explantaten von Amphibienkeimen¹⁾.

Von Tuneo YAMADA.

Zoologisches Institut der Kaiserlichen Universität Tokio.

(Comm. by N. YATSU, M.I.A., Feb. 12, 1942.)

Frühere Transplantations- und Explantationsversuche am Mesoderm von Urodelenkeimen führten uns zu der Hypothese von Determinationsmechanismus, nach welcher dem dorso-ventralen Gefälle des „morphogenetischen Potentials“ und einem von der Chordaanlage abhängigen, das Potential erhöhenden Faktor („Chordafaktor“) die führende Rolle zugeschrieben wurde (Yamada 1937²⁾ u. 1940³⁾). Der besagte Faktor ist in der Chordaanlage nur bis zum späten Schwanzknospenstadium nachweisbar. Unsere Versuchsergebnisse liessen ferner annehmen, dass das Potential des Mesoderms, besonders in seinem dorsalen Gebiet, im Laufe der Ontogenese eine allmähliche Erhöhung erfährt.

Andererseits demonstrierte Brachet (1940)⁴⁾ histochemisch, dass in Amphibienkeimen die an Proteine gebundene SH-Gruppe in Regionen von hoher morphogenetischer Aktivität vorhanden ist. Besonders im Mesoderm beobachtete Brachet, dass die Konzentration der SH-Gruppe, von dorsal nach ventral allmählich abfällt; ferner, dass sie zeitlich mit dem Fortschreiten der Entwicklung stetig zunimmt. Überdies stellte Brachet fest, dass in der Chordaanlage die Reaktion der SH-Gruppe im späten Stadium auf den Kern beschränkt wird.

Aus dem oben Gesagten geht ohne weiteres hervor, dass eine ziemlich weitgehende Parallelität zwischen dem morphogenetischen Potential und der Konzentration der SH-Gruppe besteht. Es sei allerdings betont, dass damit keineswegs der Schluss erlaubt ist, dass diese biochemisch bedeutende Gruppe bei der Bestimmung des morphogenetischen Potentials den primären Faktor darstellt. Es erscheint also wichtig zu prüfen, ob diese Gruppe die Fähigkeit besitzt, in embryonalen Keimteilen morphogenetische Vorgänge auszulösen. Aus einer solchen Fragestellung heraus wurden die folgenden Experimente an Keimen von *Triturus pyrrhogaster* durchgeführt. Die Schnittuntersuchung der vorliegenden Experimente muss aber aus einem bestimmten Grunde zur Zeit unterbleiben. Jedoch scheint es mir nicht bedeutungslos zu sein, von den bisherigen Befunden hier kurz zu berichten, denn sie beleuchten die Frage der chemischen Grundlage der embryonalen Determination von einer neuen Seite. Versuche wurden an Explantaten von Mesoderm und Ektoderm ausgeführt. Da sich die Differenzierungsleistung von Mesoderm von aussen wenig beurteilen lässt, kann der vorliegende

1) Zum tiefen Dank schuldet der Verfasser Herren Prof. Yô. K. Okada, Prof. T. Goda, J. Ishida u. T. Fujii, die in mannigfacher Hinsicht die vorliegenden Untersuchungen unterstützten.

2) Yamada, T. 1937. Roux' Arch. 137.

3) Yamada, T. 1940. Fol. Anat. Japon. 19.

4) Brachet, J. 1940. Arch. Biol. 51.

Bericht nur etwas über die Versuche mit Ektoderm aussagen. Als SH-Verbindung wurde in erster Linie ein nach Purr¹⁾ hergestellter Proteinextrakt aus Rinder-muskel verwendet, welcher eine lebhaft SH-Reaktion aufweist²⁾. Zum Vergleich wurde noch kristallisiertes, reduziertes Glutathion (Hoffmann-La Roche) in Agar geprüft. Als Reaktionsmaterial diente präsumptives Ektoderm der jungen Gastrula, unter strengem Ausschluss der anschliessenden Randzone, Der zu prüfende Proteinextrakt wurde nach Koagulation mittels Hitze (90° C, 20 Min.) mit zwei Stücken Ektoderm sorgfältig umhüllt. Die zahlenmässige Angabe und technische Einzelheiten sind für die spätere Veröffentlichung vorbehalten.

Kontrollversuche. Präsumptives Ektoderm der jungen Gastrula wurde in der Lösung von Holtfreter gezüchtet. Die zuerst glatte Oberfläche des Explantates wies nach 3-tägiger Züchtung feine unregelmässige Falten auf; diese gingen durchsetzten später in eine ganz feine schwammartige Struktur über und allmählich das ganze Explantat. Es entstand keinerlei festes Gebilde. Ein solches Entwicklungsprodukt ist seit Holtfreters Untersuchung als „atypische Epidermis“ bekannt.

Versuchsreihe I. Induktionsfähigkeit von „SH-Protein“. Es stellte sich heraus, dass dieses Präparat allein nicht imstande ist, im Reaktionsmaterial eine eindeutige morphogene Wirkung auszuüben. Jedoch ist eine neurale Induktion von sehr kleinem Umfang nicht ausgeschlossen.

Versuchsreihe II. Induktionsfähigkeit von „SH-Protein“ + Eisen. Wurde dem Proteinstück Eisenstaub von verschiedener Herkunft (durch Reduktion von Eisenoxyd hergestelltes Eisenpräparat, Stahl) angeklebt, so gewinnt das Stück eine äusserst starke Induktionsfähigkeit. Es wurde in etwa 90% aller Fälle eindeutig eine Neuralplatte induziert, die oft den grössten Umfang des Explantates einnahm. Diese Neuralplatte wurde in mehreren Fällen, offenbar wegen Mangels an Epidermismaterial, nicht von Neuralwülsten umschlossen, sondern blieb als nacktes Neuralgewebe bis zur Zeit der Fixierung (10–20 Tage nach Operation) unbekeckt. Neben der Neuralanlage wurden auch noch Chromatophoren beobachtet. Diese begleiteten in einem Teil der Fälle einen rumpfartigen Auswuchs, der wahrscheinlich Chordamesoderm enthielt.

Versuchsreihe III. Induktionsfähigkeit von SS-Protein + Eisen. Das gleiche Proteinpräparat wurde in der Versuchsreihe mit Monojodessigsäure behandelt oder mit Alloxan bzw. SS-Glutathion zur SS-Form oxydiert (Kontrollierung mit Nitroprussidtest) und gleicherweise mit präsumptivem Ektoderm umhüllt. Das Ektoderm entwickelte sich dann trotz Vorhandenseins von Eisenstaub meistens zur „atypischen Epidermis“ mit vielen kleinen Falten. Eine eindeutige Neuralplatte wurde niemals beobachtet. Es ist aber möglich, dass in einem Teil der Fälle eine

1) Purr, A. Bioch. J. 29. (1935).

2) Muskelbrei wurde in 0.25% NaCl gründlich gerieben, und nach Entfernung von NaCl und Wegfiltrierung des gelösten Teiles mit M/10 Na₂HPO₄ extrahiert. Der Extrakt enthält die undialysierbare SH-Gruppe.

kleine Menge von Neuralgewebe doch entstanden ist. Chromatophoren wurden nur sehr selten gebildet.

Versuchsreihe III a. Falls die Oxydation von SH-Gruppe nicht vollständig, so dass bei dem Nitroprussidtest die Reaktion der SH-Gruppe im Proteinstück noch bemerkbar ist, dann kann das Stück eindeutig eine Neuralplatte induzieren.

Versuchsreihe III b. Das einmal mit SS-Glutathion oxydierte Proteinpräparat kann durch Behandlung mit SH-Glutathion wieder in die SH-Form zurückgebracht werden. Ein solches Präparat, mit Eisenstaub beschickt, induzierte ebenfalls eindeutig eine Neuralplatte.

Versuchsreihe IV. *Induktionsfähigkeit von SS-Protein allein.* Die Resultate waren in allgemeinen die gleichen wie in der Reihe III.

Versuchsreihe V. *Induktionsfähigkeit von SH-Glutathion.* M/50 Lösung von SH-Glutathion wurde mit Agar gekocht und nach Erkaltung in kleine Stückchen zerlegt und mit, bzw. ohne Eisenstaub mit zwei Ektodermstücken umhüllt. In beiden Fällen wurde eine Neuralplatte induziert. Vorhandensein von Eisen scheint hier also nicht unbedingt notwendig zu sein. Wenigstens unter den vorliegenden Bedingungen steht Glutathion in seiner Induktionsfähigkeit, verglichen mit SH-Protein+Eisen, eindeutig zurück. Dieser Glutathion-Agar wurde kurz vor der Operation durch Nitroprussidtest auf seinen Gehalt an SH-geprüft.

Die vorliegenden Befunde können nach verschiedenen Richtungen hin gedeutet werden. Ich möchte mich hier aber nur auf die Darstellung der Ergebnisse beschränken, und eine Diskussion darüber auf die spätere endgültige Veröffentlichung verschieben.