

Biosynthèse de l'endorphine-beta

Autor(en): **Chretien, M. / Crine, P. / Lis, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **34 (1978)**

PDF erstellt am: **10.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-308148>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Institut de Recherches Cliniques de Montréal, affilié à l'Université de Montréal et à l'Hôpital Hôtel-Dieu de Montréal

BIOSYNTHESE DE L'ENDORPHINE-BETA *

M. CHRETIEN, P. CRINE, M. LIS et N.G. SEIDAH

Résumé

Nous avons démontré que la bêta-lipotropine est un précurseur biologique qui, durant sa maturation intra-cellulaire, donne naissance à la bêta-endorphine. Ce modèle de biosynthèse est semblable à celui de la proinsuline, de la parathormone et du proglucagon. Comme on retrouve de la bêta-endorphine dans le cerveau, on peut prévoir que sa biosynthèse soit semblable, sinon identique. Il devient aussi logique de croire que les autres facteurs hypothalamiques sont aussi biosynthétisés sous forme de précurseur inactif. Quand cette démonstration sera faite et solidement établie, les études du contrôle physiologique de leur sécrétion sera plus facile.

Summary

We have demonstrated that beta-lipotropin is a precursor molecule and that during its maturation, it gives rise to beta-endorphin. This model is similar to proinsulin, parathyroid hormone and proglucagon models. Since beta-endorphin is also found in the hypothalamus, one can foresee that its biosynthesis will be similar if not identical. It is then conceivable to believe that the other hypothalamic factors are issued from larger precursor molecules. When this will be shown, and well established, studies on their control mechanism will be much easier.

* Les travaux rapportés dans cet article sont subventionnés par le Conseil de Recherches Médicales du Canada et le Ministère de l'Éducation de la Province de Québec.

Introduction

La caractérisation chimique complète de deux facteurs lipolytiques extraits d'hypophyses de mouton par LI et coll. (1) et par CHRETIEN et LI (2), molécules appelées bêta-et gamma-lipotropine, a constitué le point de départ de notre hypothèse à savoir que la bêta-lipotropine est un précurseur biologique hormonal. Le premier consiste de 91 acides aminés dont les 58 premiers constituent la séquence de la gamma-lipotropine (1, 2). De plus, les deux substances contiennent la séquence complète de la bêta-mélanotropine (résidus 41-58) (2). Plus tard, des lipotropines du même genre furent isolées et caractérisées dans les hypophyses de boeufs (3, 4), de porcs (5-10) et humaines (11-15). A partir de toutes ces données une caractéristique commune est apparue nettement: leur structure comprend la séquence de leur bêta-mélanotropine respective. Ce fait a été reconnu pour la première fois en 1967, et nous avons été les premiers à proposer l'hypothèse que la bêta-mélanotropine est dérivée de la bêta-lipotropine à la suite de scindages enzymatiques qui entraînent d'abord la production de gamma-lipotropine comme premier intermédiaire (2). Enfin, la comparaison structurale aux sites proposés de scindages avec ceux de la pro-insuline (16, 17) et de l'hormone parathyroïdienne (18) constitue un support additionnel à notre théorie.

Nous avons donc entrepris (19-21) une série d'études sur l'incorporation in vitro d'acides aminés radioactifs dans des tranches ou des cellules isolées d'hypophyses de boeuf. Bien que nous ayons réussi à démontrer la biosynthèse de la bêta- et de la gamma-lipotropine, nous n'avons pas été capables d'isoler la bêta-mélanotropine radioactive, substance qui nous échappe souvent durant les procédés de purification (19-21). Nous avons aussi proposé qu'il était possible que la transformation de gamma-lipotropine en bêta-mélanotropine pouvait être un processus lent dans les hypophyses de boeuf (21).

L'importance du modèle de biosynthèse de la bêta-lipotropine a reçu un impact additionnel important quand HUGHES et coll. (22) ont publié, en novembre 1975, la séquence en acides aminés de deux pentapeptides purifiés du cerveau de porc et possédant des activités morphinomimétiques. L'un de ces deux peptides, appelé met-enképhaline, correspond exactement à la séquence 61 à 65 de la bêta-lipotropine hypophysaire. Le deuxième, appelé leu-enképhaline, possède seulement la séquence 61-64 de la bêta-lipotropine et le carboxy-terminal est de la leucine (22). La découverte de ces deux pentapeptides a soulevé la possibilité que la bêta-lipotropine serait non seulement le précurseur de la bêta-mélanotropine, mais qu'elle pourrait être aussi le précurseur de la met-enképhaline. D'ailleurs, LI et CHUNG (23) ont isolé un peptide à partir d'hypophyses de chameau, peptide correspondant à la séquence 61-91 de la bêta-lipotropine. BRADBURY et coll. (24) avaient aussi isolé un

β -LPH

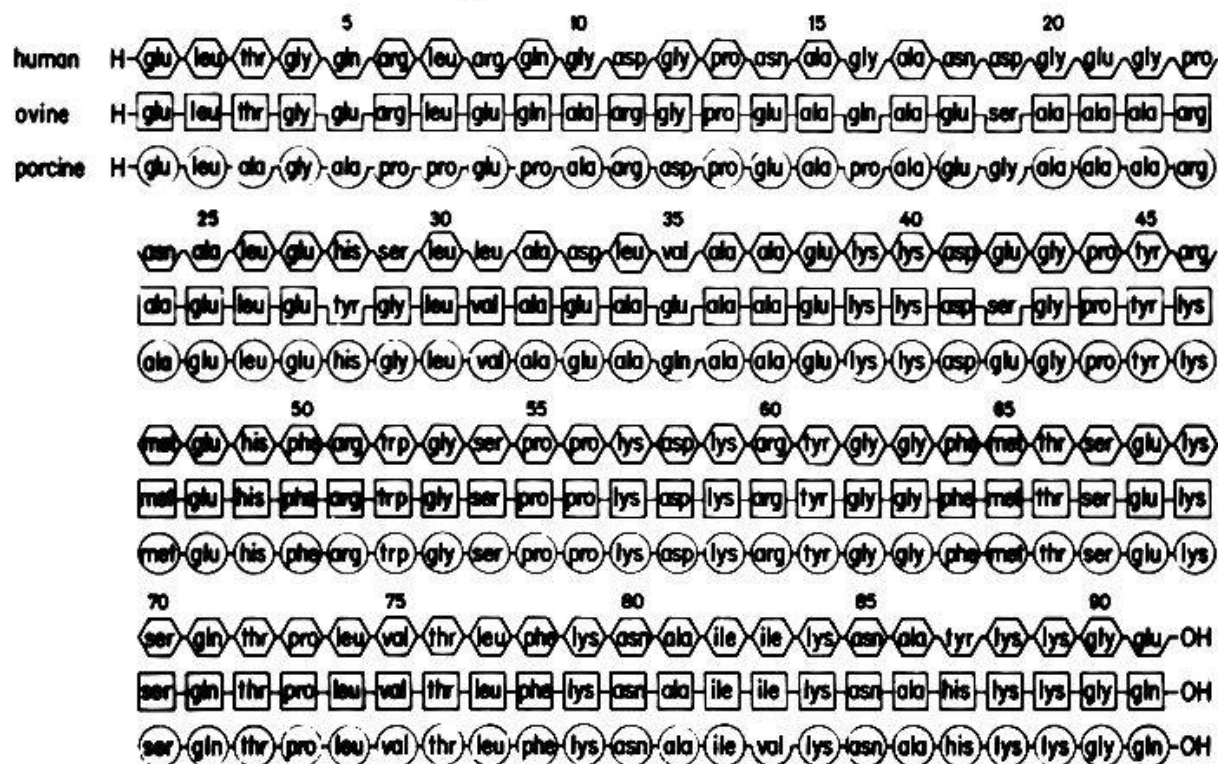


Fig. 1. Séquence en acides aminés de la bêta-lipotropine de mouton.

tel peptide dans des extraits d'hypophyses de porc. Ce peptide de 31 acides aminés fut appelé bêta-endorphine. CHRETIEN et coll. (25) ont simultanément rapporté l'isolement et la purification de bêta-endorphines humaine et de mouton. GUILLEMIN et coll. (26) ont aussi été capables d'isoler deux fragments de la bêta-endorphine à partir d'extraits hypothalamiques enrichis avec de la neurohypophyse, soit les segments 61-76 et 61-77 de la bêta-lipotropine, appelés alpha- et gamma-endorphine.

Comme la découverte de HUGHES et coll. (22) n'avait pas encore été publiée lors de nos premières études de biosynthèse de la bêta-lipotropine, nous n'avons pas porté attention au segment 61-91 qui était relâché durant la fabrication de la gamma-lipotropine. Cet article a pour but de revoir nos études les plus récentes sur la biosynthèse de la bêta-lipotropine et de la famille de peptides lui étant reliée, soit la gamma-lipotropine et la bêta-endorphine, à partir d'hypophyses entières et de lobes intermédiaires de boeuf. Nous présentons à la synthèse des endorphines cérébrales et aussi des autres peptides hypothalamiques qui sont le sujet principal du symposium.

Notre modèle se résume comme suit: la bêta-lipotropine est composée de 91 résidus et contient dans sa structure deux fragments à grande activité biologique, soit la bêta-mélanotropine (résidus 41 à 58) et la bêta-endorphine (résidus 61-91) (Fig. 1).

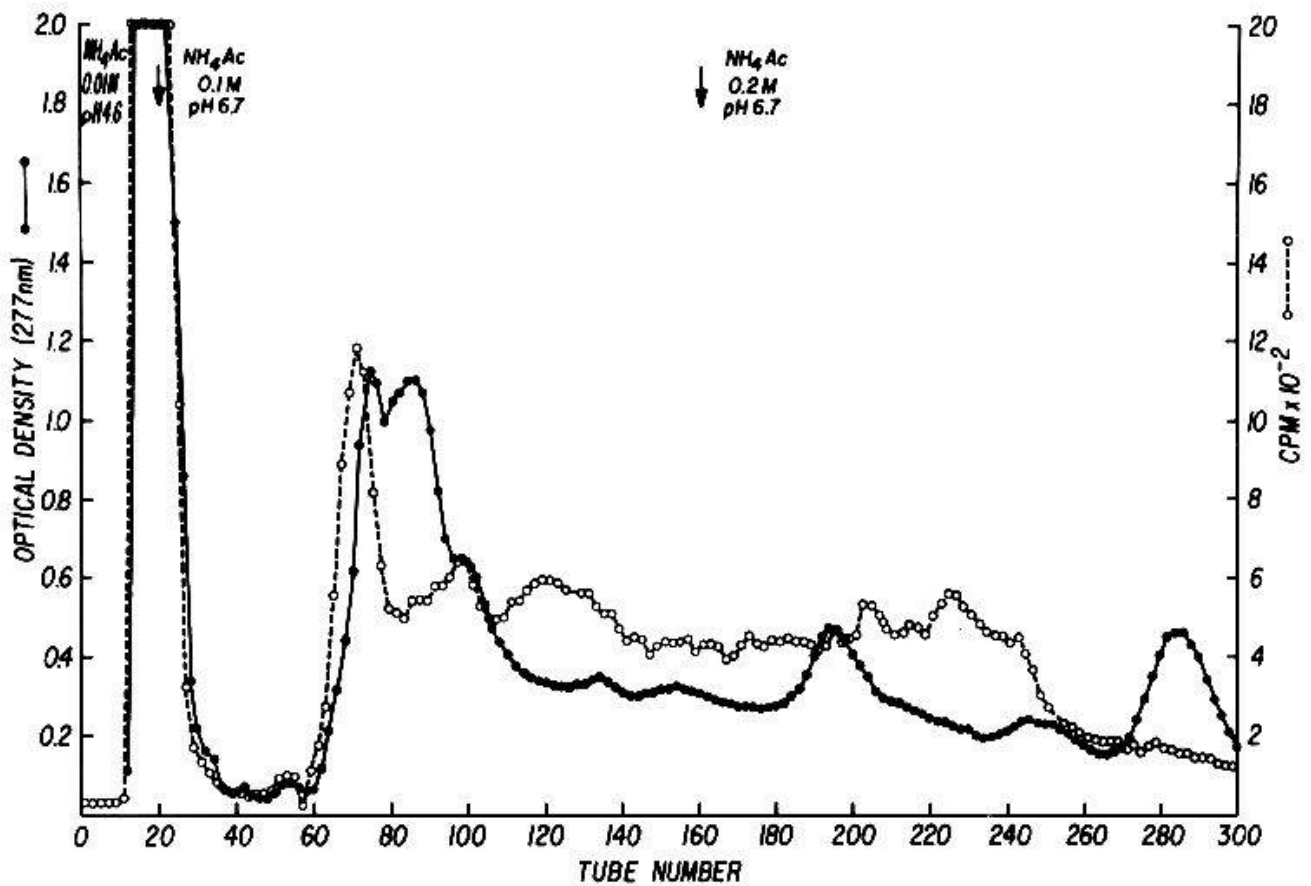


Fig. 2. Profil d'éluion au CM-cellulose du matériel obtenu après extraction de tranches d'hypophyses incubées durant 4 heures avec de la méthionine ^{35}S . La colonne (1 x 40) fut éluée avec le système de gradient de LI et coll. (1). Les flèches indiquent les positions des changements de gradient.

1. Biosynthèse de la bêta-endorphine dans l'hypophyse de boeuf (27, 28).

Nous allons démontrer que dans les hypophyses de boeuf la bêta-lipotropine, la gamma-lipotropine et la bêta-endorphine nouvellement synthétisées peuvent être isolées et caractérisées. Ces résultats prouvent une fois de plus que la bêta-lipotropine est une molécule précurseur. Nous croyons que ce schéma biosynthétique est présent dans les autres tissus dans lesquels la bêta-endorphine est possiblement biosynthétisée incluant l'hypothalamus. Bien que la biosynthèse de la bêta-lipotropine et de la gamma-lipotropine fut prouvée 3 ans plus tôt dans notre laboratoire (19-21), il fallait identifier maintenant et caractériser la bêta-endorphine.

Des tranches d'hypophyses de boeuf furent incubées avec de la méthionine ^{35}S pour une durée de 4 heures, puis le tissu fut extrait avec un mélange d'acétone/HCl, suivi d'une précipitation au chlorure de sodium en introduisant un excès d'entraîneur formé d'homogénats d'hypophyses de mouton. La fraction "D" obtenue fut passée sur une colonne de cellulose carboxy-méthylée tel que montré dans la Fig. 2. Connaissant l'éluion de la bêta-en-

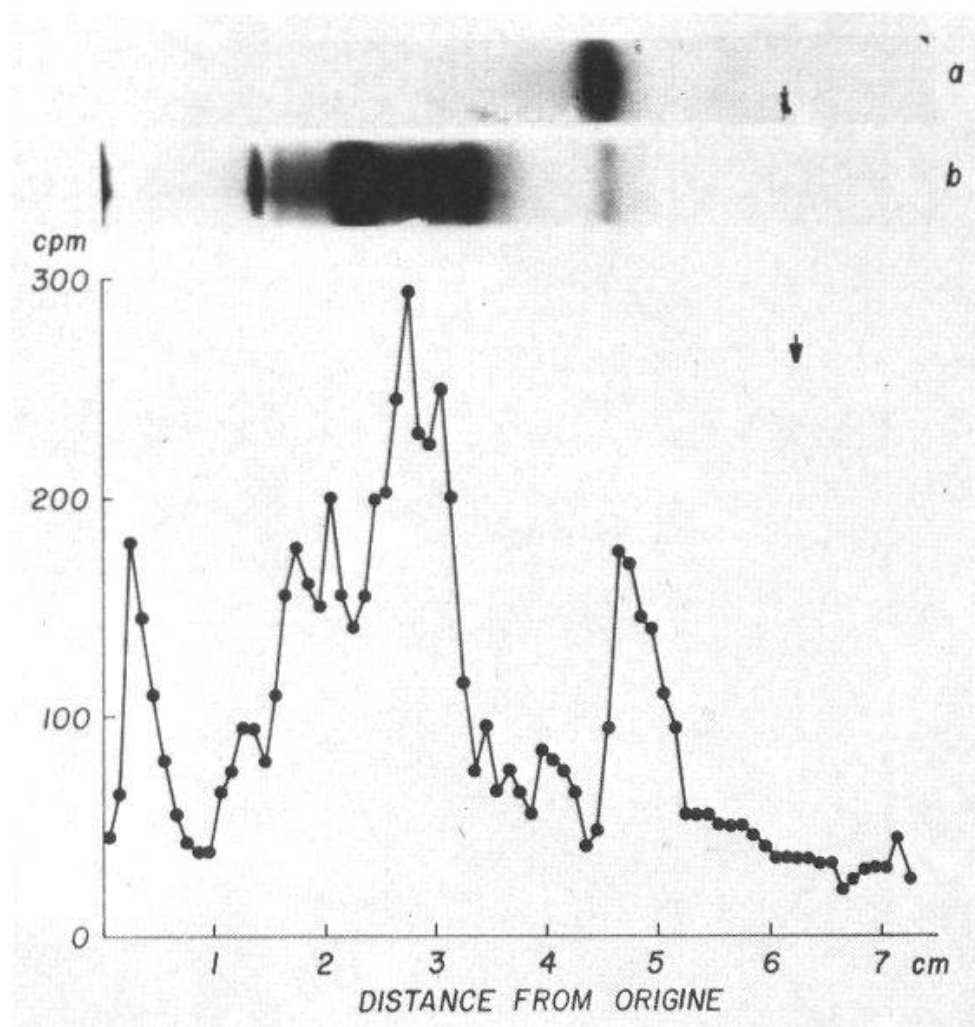


Fig. 3. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, à pH 4.5, du matériel des fractions 236-265 du premier CMC. Le même matériel sur un gel identique était aussi coloré avec de l'Amido Schwartz (b). (a) indique la bêta-endorphine standard. La flèche montre la position du marqueur.

dorphine dans ce système (25), la fraction 236-265 fut retenue et soumise à une analyse électrophorétique sur polyacrylamide à pH 4.5, tel que démontré dans la Fig. 3. On peut voir que cette fraction brute contient une bande radioactive ayant la même mobilité que le fragment 61-91 de la bêta-lipotropine. Une nouvelle chromatographie sur une seconde colonne de séphadex carboxyméthylé, ce matériel nous a donné deux fractions très bien séparées (Fig. 4). La fraction 80-114 (A) contenant un total de 20,000 CPM contenait un produit radioactif qui migrait sur une seule bande en électrophorèse sur polyacrylamide; cette bande migrait exactement comme la bêta-endorphine de mouton (Fig. 5). La preuve la plus concluante que ce matériel était de la bêta-endorphine a été obtenue en pratiquant une détermination séquentielle de ce produit tel que démontré dans la Fig. 6. Il est clair, à partir de ces résultats, que la cinquième position est occupée par de la méthionine, tel qu'on s'y attend

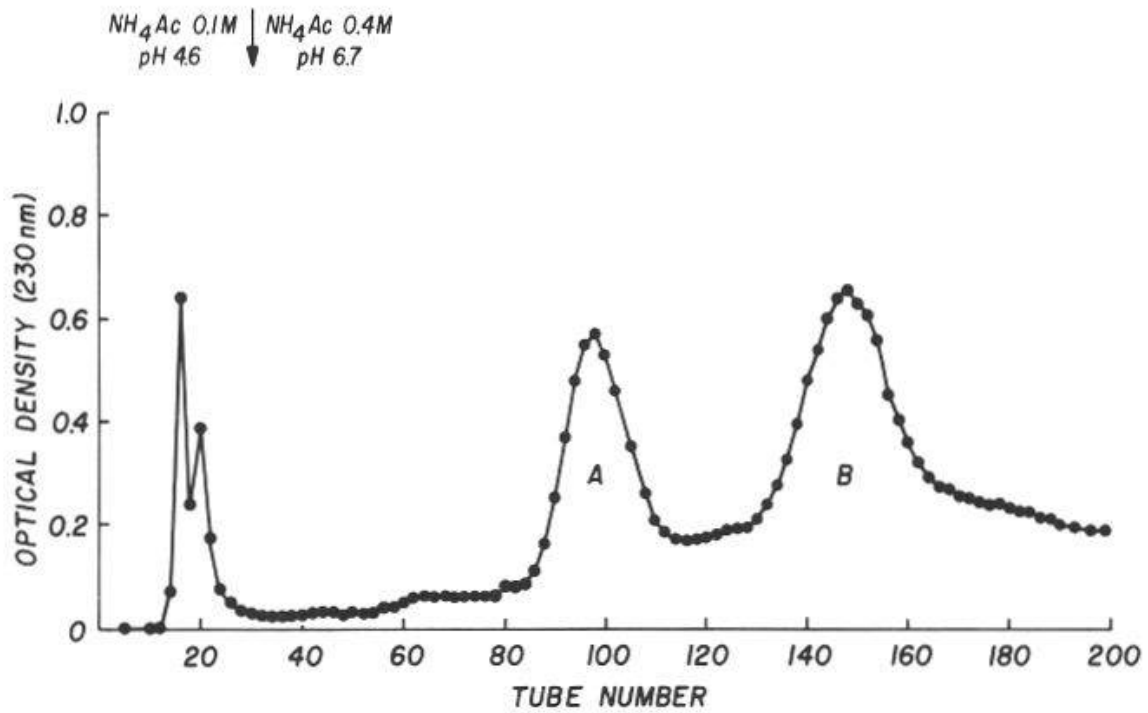


Fig. 4. La chromatographie sur CMC (1 x 25 cm) du matériel de la fraction 236-265 de la Fig. 2. Le matériel est élué avec un gradient concave de NH_4OAc à pH 4.6 et 0.1 M à pH 6.7 et 0.4 M. Des fractions de 1 ml furent recueillies.

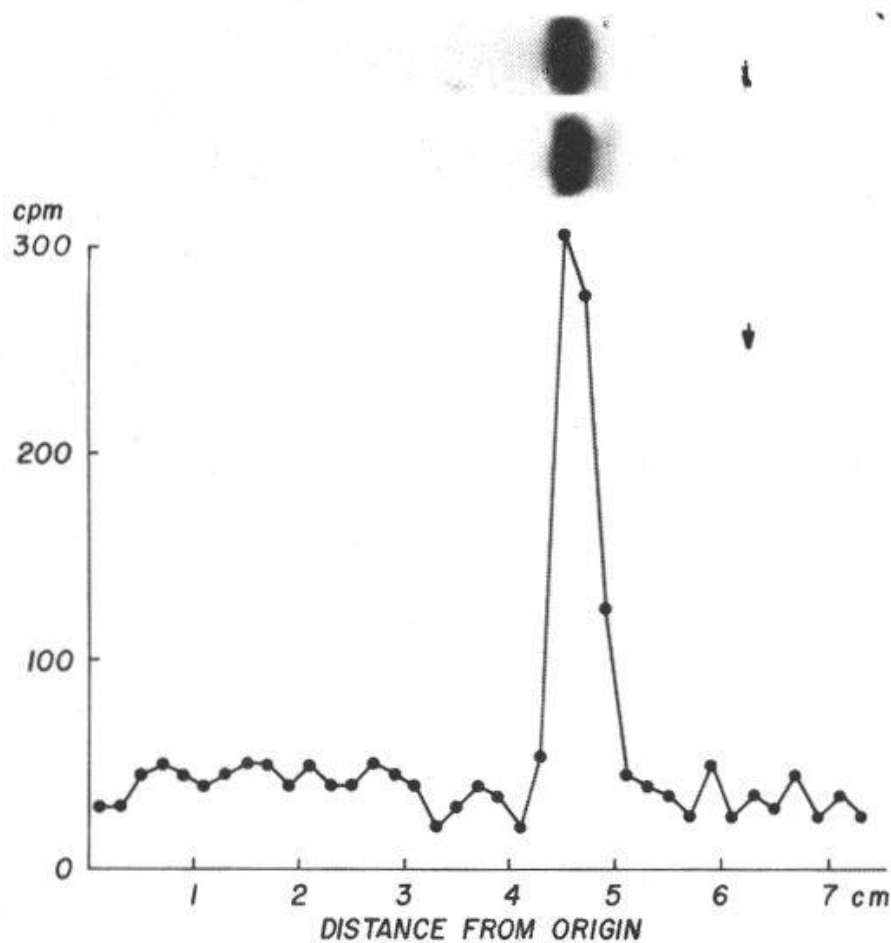


Fig. 5. L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide à pH 4.5 du pic A de la deuxième chromatographie sur CMC (Fig. 4). Les gels (a) et (b) ont la même signification qu'à la Fig. 3.

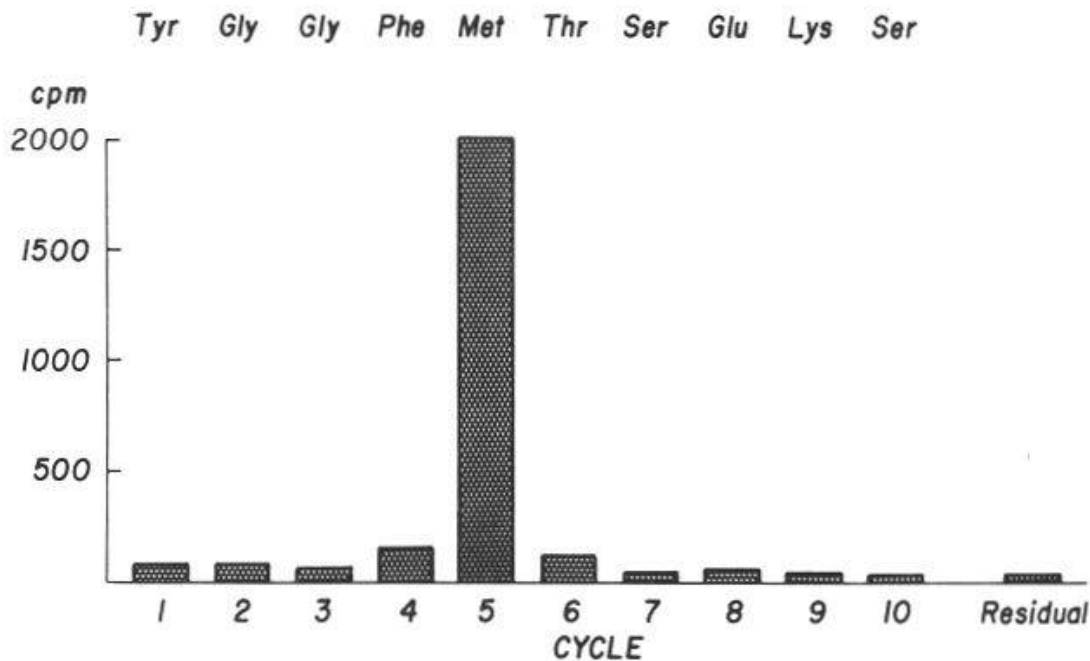


Fig. 6. L'analyse de la séquence de radioisotopes de bêta-endorphine de boeuf purifiée, marquée avec la méthionine ^{35}S . Environ 4000 cpm furent utilisés comme matériel de départ. La séquence donnée en haut est celle connue pour la bêta-endorphine (Fig. 1).

par la séquence de bêta-endorphine (3, 4). Ces résultats prouvent de plus que la bêta-endorphine radioactive a été obtenue à un niveau très élevé de purification.

2. Biosynthèse simultanée de bêta-lipotropine, gamma-lipotropine et bêta-endorphine dans la pars intermédia de l'hypophyse (29).

Les pars nervosa et pars intermedia furent disséquées du lobe antérieur de 25 hypophyses fraîches de boeuf. Les cellules isolées de la pars intermedia furent obtenues à la suite d'un brossage mécanique léger et elles furent diluées dans du tampon KRBG contenant 0,2 % d'albumine de boeuf. A la suite d'une préincubation de 60 minutes, les cellules furent incubées durant 3 heures dans du KRBG contenant une solution enrichie de 1 mCi de méthionine (^{35}S) et de 4.8 mCi de lysine (^3H). Les cellules furent ensuite homogénéisées et extraites dans une solution 10^{-3}M d'EDTA (pH 10.35) contenant 5 mg/ml de fraction "D" d'hypophyses de mouton (1). Après désalinisation, l'extrait fut chromatographié sur une colonne de cellulose carboxyméthylée, tel que démontré dans la Fig. 7.

Trois fractions furent retenues:

1. La fraction 59-77 correspondant à la position de la gamma-lipotropine dans ce système d'éluion.
2. La fraction 195-235 correspondant à la position de la bêta-lipotropine.
3. La fraction 236-270 où la bêta-endorphine de mouton est éluee.

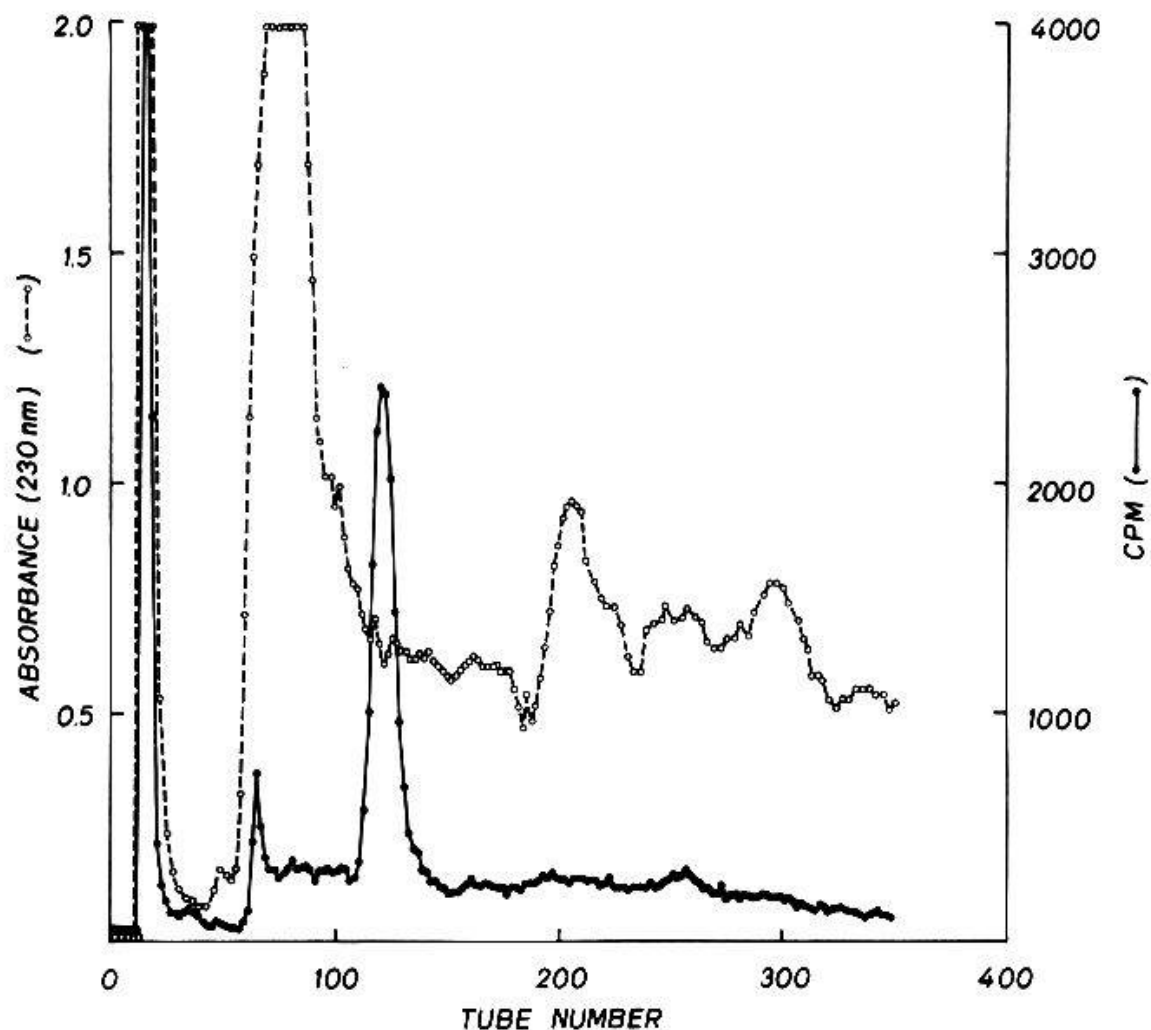


Fig. 7. La chromatographie sur CMC des protéines marquées, extraites des cellules isolées d'hypophyses de boeuf (*pars intermedia*) incubées *in vitro* durant 3 heures avec 1 mCi de méthionine ^{35}S et 4.8 mCi de lysine ^3H . La colonne fut éluée avec le même gradient qu'à la Fig. 2 (2).

A. Analyse de la fraction 59-77, gamma-lipotropine:

L'étude d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide à pH 4.5 et pH 8.3 montre la présence d'une seule bande radioactive (Fig. 8). Dans leur cas, le matériel radioactif correspond au standard de gamma-lipotropine.

Nous avons de plus voulu prouver l'identité de ce produit par des études structurales. Tel que déjà indiqué dans la première figure, la méthionine présente dans la gamma-lipotropine occupe la position 47 et elle est précédée d'une lysine en position 46. De plus, des résidus de lysine sont présents aux acides aminés 39 et 40. Donc, si l'on traite de la gamma-lipotropine (1-58) avec de la trypsine et que l'on détermine directement la séquence sur le mélange digéré, on s'attend à ce que la méthionine soit présente en position 1 et 7 selon que la diges-

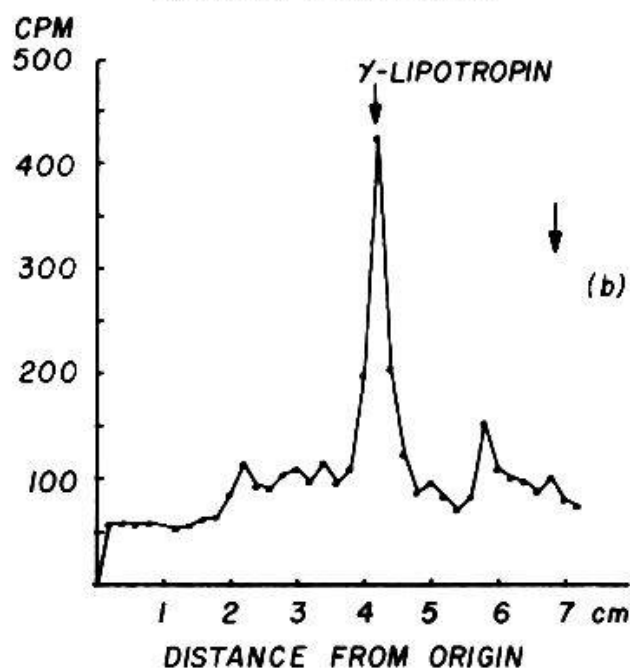
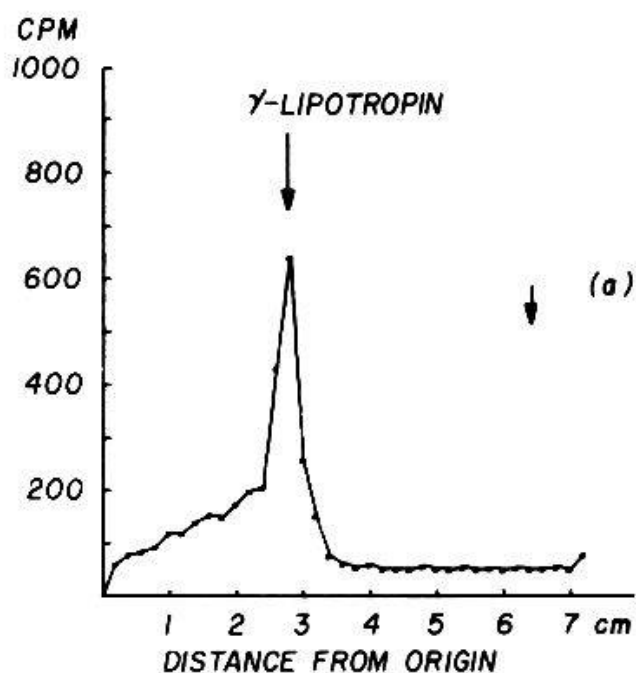


Fig. 8. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide, à pH 4.5 (a) et pH 8.3 (b) du matériel radioactif retrouvé dans les fractions 59-77 du CMC (Fig. 7).

tion est complétée ou non. De fait, on voit dans la Fig. 9 qu'après une digestion de 10 minutes de la méthionine radioactive se trouve au cycle 1 et au cycle 7, alors qu'après une digestion de 24 heures, la méthionine n'est plus qu'à la position 1. Donc nous avons, de façon non équivoque, identifié le produit biosynthétisé radioactif comme de la gamma-lipotropine.

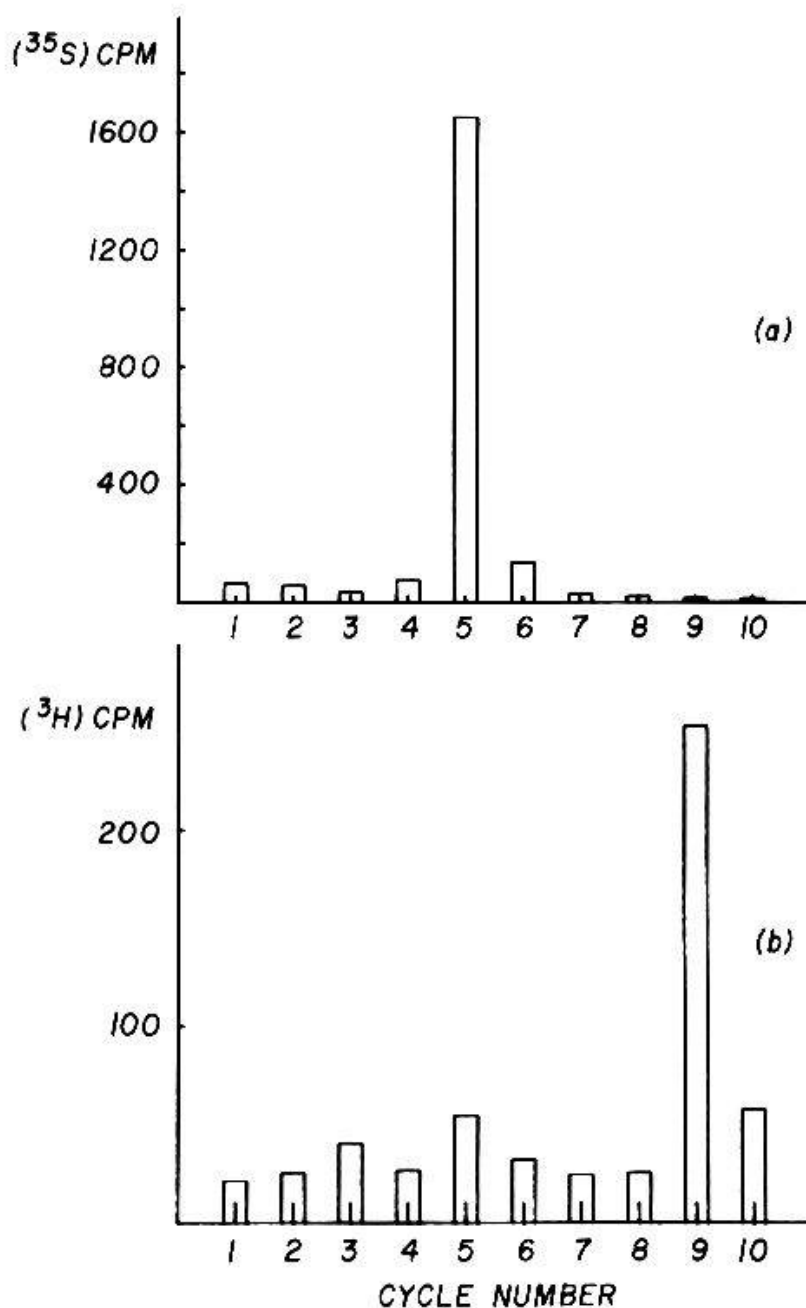


Fig. 9. L'analyse de la séquence de radioisotope des fragments tryptiques de la gamma-lipotropine (fractions 59-77, Fig. 7). Digestion tryptique durant 10 minutes (a) et 24 heures (b) avec un taux enzymatique de substrat de 1:50 dans les deux cas.

B. Analyse de la fraction 236-270, bêta-endorphine:

L'analyse de cette fraction sur électrophorèse de gel de polyacrylamide nous montre une seule bande (Fig. 10) qui migre au même endroit que la bêta-endorphine standard. De nouveau, les études séquentielles (Fig. 11) montrent que la méthionine ^{35}S se retrouve à la position 5 et que la lysine ^3H est à la position 9. Ceci prouve que le matériel biosynthétisé est de la bêta-endorphine pure.

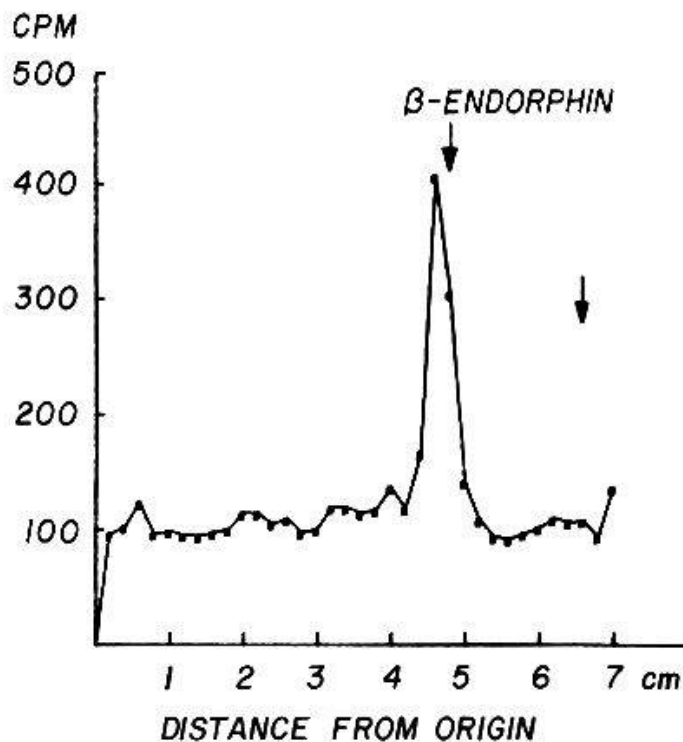


Fig. 10. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide de la bêta-endorphine marquée, purifiée (fractions 236-270 du CMC, Fig. 7). Ce matériel fut purifié sur une deuxième colonne de CMC identique à celle de la Fig. 4.

C. Analyse de la fraction 195-235, bêta-lipotropine:

La purification de cette fraction sur séphadex G-75 et séphadex carboxyméthylé a produit une fraction qui s'est avérée posséder, par analyse électrophorétique sur polyacrylamide, une bande qui migrait au même endroit qu'un standard de bêta-lipotropine (Fig. 12).

Discussion

Des progrès majeurs dans le champ des hormones lipolytiques hypophysaires ont été récemment obtenus grâce à la découverte inattendue des substances morphinomimétiques reliées de par leur structure à la bêta-lipotropine. Il semble donc que cette dernière ait l'unique caractéristique de posséder à l'intérieur de sa séquence en acides aminés deux peptides biologiquement très actifs, la bêta-mélanotropine (bêta-lipotropine 41-58) et la bêta-endorphine (bêta-lipotropine 61-91).

La bêta-lipotropine, la gamma-lipotropine et la bêta-endorphine ont été purifiées à partir d'hypophyses de différentes espèces incluant l'humain. Des études d'immunocytofluorescence montrent la présence de bêta-lipotropine et de bêta-endorphine dans les lobes antérieur et intermédiaire d'hypophyses de rats (31). De plus, des auteurs ont trouvé que les substances

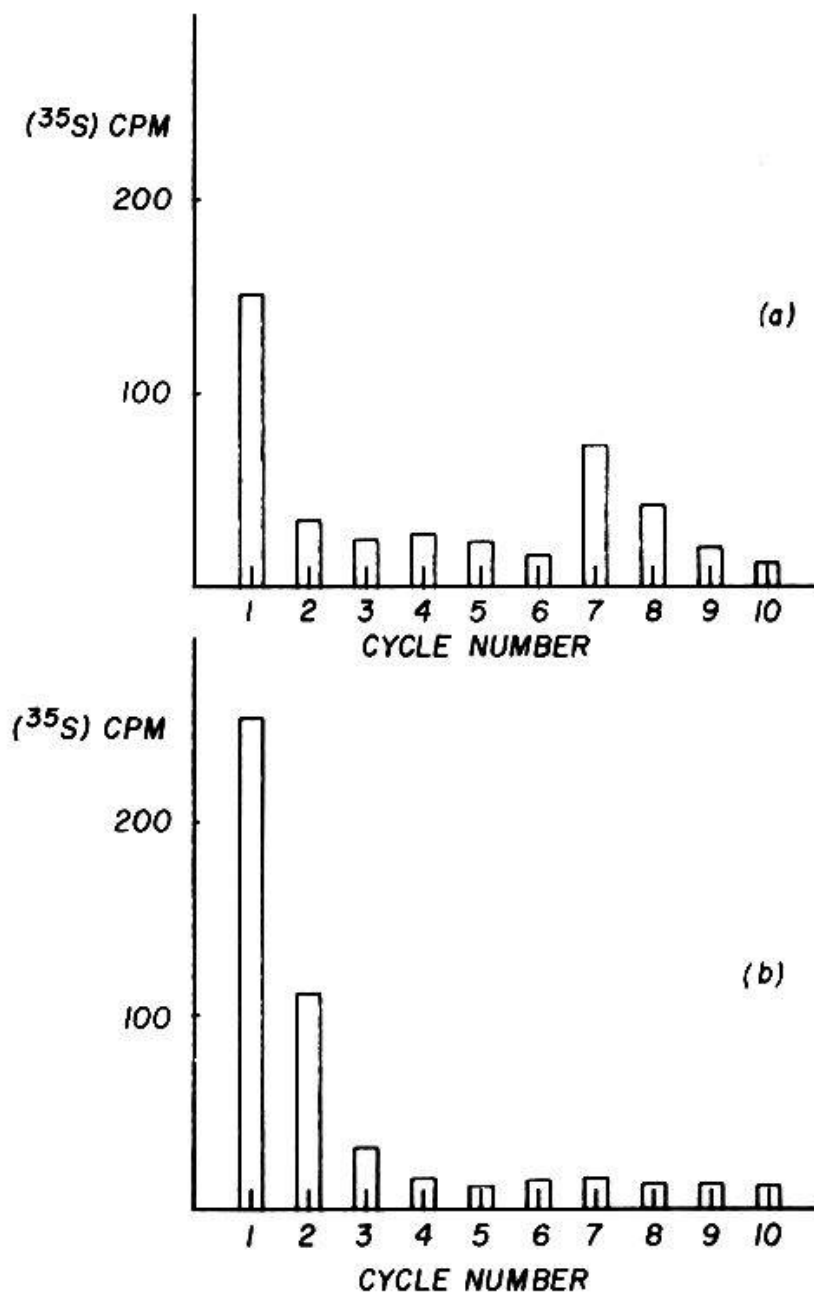


Fig. 11. L'analyse de la séquence de radioisotope de la bêta-endorphine purifiée et marquée à la méthionine ^{35}S et lysine ^3H . La méthionine ^{35}S et ^3H lysine furent retrouvées au cycle 5 et 9 respectivement tel qu'attendu de par la structure primaire de la bêta-endorphine.

opiacées sont surtout concentrées dans les cellules de la pars intermedia (32, 33). Aucune de ces techniques ne peut cependant préciser de façon définitive le site de biosynthèse de ces peptides.

Bien que ces expériences de biosynthèse ne soient pas totalement complètes, elles ont démontré de façon définitive que la bêta-lipotropine, la gamma-lipotropine et la bêta-endorphine sont fabriquées dans l'hypophyse totale et surtout dans la pars intermedia. L'hypophy-

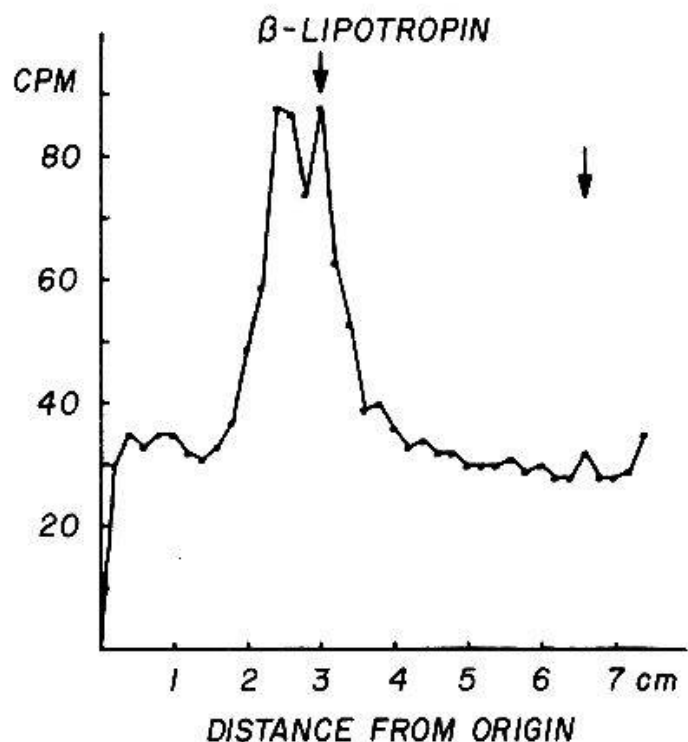


Fig. 12. L'électrophorèse sur gel de bêta-lipotropine purifiée et marquée (fractions 195-235, Fig. 7, purifiées sur Séphadex G-75 et Séphadex carboxyméthylé). Une bande de produit radioactif migre au même endroit que la bêta-lipotropine standard.

se bovine, il semble, n'a pas une biosynthèse rapide de bêta-mélanotropine, alors que les poissons et les grenouilles en produisent de façon significative (34, 35). Cependant, si nous considérons que nous avons été capables d'identifier définitivement la bêta-endorphine néo-synthétisée et si nous tenons compte de l'analogie évidente aux sites de scindage de la bêta-lipotropine et de la proinsuline (36), nous sommes justifiés de proposer que la bêta-mélanotropine et la bêta-endorphine viennent de la bêta-lipotropine, suite à un processus enzymatique semblable à celui proposé par STEINER et coll. (36) pour la proinsuline. La Fig. 13 montre justement ce à quoi on doit s'attendre avec ce système enzymatique et il est évident que la bêta-endorphine est plus simple à obtenir que la bêta-mélanotropine. L'hypothèse que la bêta-lipotropine est un précurseur biologique est d'autant plus vraisemblable qu'elle a une très faible activité mélanotrope (1) et une très minime activité morphinomimétique (25). Ceci est exactement ce qui se présente pour la proinsuline (36).

Les mécanismes de biosynthèse des protéines ont acquis des progrès considérables depuis quelques années. Il semble presque universellement accepté que les hormones polypeptidiques et les protéines sont toutes synthétisées sous forme de précurseurs qui sont par la suite convertis en substances actives par scindage post-translational (37).

En résumé, nous avons démontré que la bêta-lipotropine est un précurseur et qu'elle donne naissance à la bêta-endorphine, cette nouvelle substance morphinomimétique dont nous

8. Graf, L., Barat, E. Cseh, G. and Sajgo, M. (1971): *Biochim. Biophys. Acta.* 229, 276.
9. Gilardeau, C. and Chrétien, M. (1970): *Can. J. Biochem.* 48, 1017.
10. Gilardeau, C. and Chrétien, M. (1972): In: *Chemistry and Biology of Peptides*, pp 609-611, Meinhofer, J. (ed.). Proceedings of the 3rd Peptides Symposium, Ann Harbor Science Publ.
11. Cseh, G., Graf, L. and Goth, E. (1968): *FEBS Letters* 2, 42.
12. Cseh, G., Barat, E. Patthy, A. and Graf, L. (1972): *FEBS Letters* 21, 344.
13. Scott, A.P. and Lowry, P.J. (1974): *Biochem. J.* 139, 593.
14. Chrétien, M. Gilardeau, C., Seidah, N.G. and Lis, M. (1976): *Can. J. Biochem.* 54, 778.
15. Li, C.H. and Chung, D. (1976): *Nature* 260, 622.
16. Chance, R.E., Ellis, R.M. and Bromer, W.W. (1968): *Science* 161, 165.
17. Steiner, D.F., Hallund, O., Rubenstein, A., Cho, S. and Bayliss, C. (1968): *Diabetes* 17, 725.
18. Habener, J.F., Kemper, B., Potts, J.T. jr and Rich, A. (1973): *Endocrinology* 92, 219.
19. Bertagna, X., Lis, M., Gilardeau, C. and Chrétien, M. (1974): *Can. J. Biochem.* 52, 349.
20. Chrétien, M., Benjannet, S., Bertagna, X., Lis, M. and Gilardeau, C. (1974): *Clin. Res.* 22, 730.
21. Chrétien, M., Lis, M., Gilardeau, C. and Benjannet, S. (1976): *Can. J. Biochem.* 54, 566.
22. Hughes, J., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.A., Morgan, B.A. and Morris, H.R. (1975): *Nature* 258, 577.
23. Li, C.H. and Chung, D. (1976): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 1145.
24. Bradbury, A.F., Smyth, D.G. and Snell, C.R. (1976): *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 69, 950.
25. Chrétien, M., Benjannet, S., Dragon, N., Seidah, N.G. and Lis, M. (1976): *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 72, 472.
26. Guillemin, R., Ling, N. and Burgus, R. (1976): *C.R. Acad. Sci. Paris* 282, 783.
27. Crine, P., Benjannet, S., Seidah, N.G., Lis, M. and Chrétien, M. (1977): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74, 1403.
28. Chrétien, M., Seidah, N.G., Benjannet, S., Dragon, N., Routhier, R., Motomatsu, T. and Lis, M. (1976): In: "ACTH and related peptides: structure, regulation and action", The New York Academy of Sciences, Nov. 17-19 Meeting (in press).
29. Crine, P., Benjannet, S., Seidah, N.G., Lis, M. and Chrétien, M. (1977): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (in press).
30. Crine, P., Benjannet, S., Seidah, N.G., Lis, M. and Chrétien, M. (1977): In: *Fifth American Peptide Symposium*, Univ. California, San Diego, June 19-24 Meeting (In press).
31. Bloom, F., Battenberg, E., Rossier, J., Ling, N., Leppaluoto, J., Vargo, T.M. and Guillemin, R. (1977): *Life Sciences* 20, 43-48.
32. Pelletier, G., Leclerc, R., Labrie, F. Côté, J., Chrétien, M. and Lis, M. (1977): *Endocrinology* 100, 770.
33. Queen, G., Pinsky, C. and LaBella, F. (1976): *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 72, 1021.
34. Loh, Y.P. and Gainer, H. (1977): *J. General Physiol.* 70, 37.
35. Pezalla, P.D., Clarke, W.C., Lis, M., Seidah, N.G. and Chrétien, M. (1977): (in press).
36. Steiner, D.F., Kemmler, W., Tager, H.S. and Peterson, J.D. (1974): *Fed. Proc.* 33, 2105.
37. Blobel, G. and Dobberstein, B. (1975): *J. Cell. Biol.* 67, 835.
38. Mains, R.E., Eipper, B.A. and Ling, N. (1977): *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74, 3014.
39. Moriarty, G.C. (1973): *J. Histochem. Cytochem.* 21, 855.
40. Pfifer, R.F., Orth, D.N. and Spicer, S.S. (1974): *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39, 684.
41. Dubois, P., Vargues-Regaivaz, H. and Dubois, M.P. (1973): *Z. Zellforsch.* 145, 131.
42. Roberts, J.L. and Herbert, E.: (personal communication).

Adresse pour la correspondance: Prof. Dr M. Chrétien, Directeur du Laboratoire des Protéines et des Hormones Hypophysaires, Institut de Recherches Cliniques de Montréal, 110 Avenue des Pins ouest, Montréal, Qué. H2W 1R7, Canada.

