

Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur.

Von

N. W. Timoféeff-Ressovsky, K. G. Zimmer und M. Delbrück. (1935-1936)

(+ 23.8)

Vorgelegt von A. KÜHN in der Sitzung am 12. April 1935.

Inhalt:

	Seite
Vorwort	190
Erster Teil: Einige Tatsachen der Mutationsforschung.	
I. Einleitung	190
II. Analyse des Mutationsvorgangs	192
1. Spontanes Mutieren	192
2. Qualitatives Bild des strahleninduzierten Mutationsprozesses	194
3. Quantitative Analyse des Mutationsprozesses	198
4. Beziehungen der spontanen Mutationsrate zur Zeit und Temperatur	209
5. Raten einzelner Genmutationen	211
III. Schlußbemerkungen	215
1. Zusammenfassung der wichtigsten Versuchsergebnisse	215
2. Fragestellung zur Theorie der Genmutation und der Genstruktur	217
Zweiter Teil: Die Treffertheorie und ihre Beziehung zur Mutationsauslösung.	
1. Einleitung	217
2. Definition des Treffers	218
3. Der Treffer im Mutationsvorgang	219
4. Schlußbemerkungen	222
Dritter Teil: Atomphysikalisches Modell der Mutation.	
1. Einleitung	223
2. Mutationsmodell	226
3. Prüfung der Modellvorstellung	230
4. Schlußbemerkungen	234
Vierter Teil: Theorie der Genmutation und der Genstruktur.	
1. Diskussion über den Genmutationsvorgang	234
2. Theorie der Genstruktur	237
3. Konsequenzen	238
Schriftenverzeichnis	241

VORWORT.

In der nachfolgenden Arbeit wird versucht, auf Grund der experimentellen Untersuchungen des Mutationsprozesses von *Drosophila* und einer physikalischen Analyse der Versuchsergebnisse, eine allgemeine Vorstellung über die Natur des Gens und der Mutation zu bilden. Gegenüber den bisherigen Hypothesen über die Natur des Gens und der Genmutation, glauben wir insofern einen Schritt vorwärts getan zu haben, als unsere Vorstellungen nur auf dem Versuchsmaterial der Mutationsforschung aufgebaut sind, also auf einem Forschungsgebiet, das Ereignisse, die unmittelbar die Gene selbst betreffen, umfaßt. Es werden dabei vor allem methodisch anfechtbare Rückschlüsse aus Nachbargebieten, wie Phänogenetik und Entwicklungsphysiologie, auf das Problem der Struktur und Mutation der Gene vermieden.

Wir hoffen so zu einer experimentell fundierten und in ihren Einzelteilen und den sich aus ihr ergebenden Konsequenzen experimentell prüfbarer Theorie des Mutationsvorganges und der Genstruktur zu gelangen. Wir sind selbstverständlich weit davon entfernt unsere Vorstellungen für endgültig zu halten; vielmehr sehen wir ihren Wert darin, daß sie frühere Ansätze durch Heranziehung physikalischer Begriffe ausbauen.

Die Arbeit stellt eine Kooperation zwischen Genetik und Physik dar. Sie ist entstanden aus Vorträgen und Diskussionen in einem kleinen privaten Kreis von Vertretern der Genetik, Biochemie, physikalischen Chemie und Physik. Besondere Belehrung über die Fragen der chemischen Reaktionskinetik verdanken wir dabei Herrn Dr. K. WOHL. Ein Teil der Versuche wurde mit Unterstützung der *Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft* im Rahmen der *Gemeinschaftsarbeiten über Erbschädigung durch Strahlenwirkungen* durchgeführt.

Erster Teil: Einige Tatsachen der Mutationsforschung.

N. W. Timoféeff-Ressovsky¹⁾.

I. EINLEITUNG.

Die ursprüngliche Fassung des Genbegriffes in der experimentellen Vererbungslehre ist eine rein formale. In Einklang mit dem Sinn der klassischen Versuche G. MENDEL'S und dem seit ihrer

1) Genetische Abt. des Kaiser-Wilhelm-Instituts für Hirnforschung, Berlin-Buch.

Wiederentdeckung bearbeiteten riesigen Versuchsmaterial der Experimentalgenetik, kann das Gen als „Spaltungseinheit“, oder als das „Etwas“, was (den nach MENDELgesetzten spaltenden Merkmalen zugrundeliegt, definiert werden. Danach können wir: 1. die Existenz der Gene aus Kreuzungsversuchen erschließen, und 2. nur diejenigen Gene erfassen, die in dem uns zur Verfügung stehenden Material in mindestens zwei verschiedenen Formen (Allelen) vorhanden sind, oder, anders gesagt, von denen Mutationen bekannt sind. Somit ist das Gen begrifflich einerseits an die mendelnden Merkmale, andererseits an die Mutation gebunden.

Die ersten Versuche, eine konkretere Vorstellung von dem zu bilden, was Gene und Mutationen sind, knüpften an die Betrachtung der normalen und mutanten Erbmerkmale an. So wurde die bekannte „Presence-Absence“-Hypothese von W. BATESON gebildet, nach der dominante (meist „normale“) Allele ein stoffliches „Etwas“ darstellen, was bei den rezessiven Mutationen verloren geht. BATESON ging dabei von der Ansicht aus (die zum Teil auch den Tatsachen entspricht), daß man die Merkmale der rezessiven Mutationen oft als das Fehlen gewisser Eigenschaften der normalen Allele darstellen kann. Auf gleicher Bahn (Rückschlüsse von den Erscheinungen der Genmanifestierung auf die Natur des Gens und der Genmutation) bewegen sich auch manche modernere Theorien des Gens, unter denen man sowohl extrem- „morphologische“ (SEREBROVSKY 1929) als auch „physiologische“ Fassungen (GOLDSCHMIDT 1928) unterscheiden kann.

Die seit den letzten Vorkriegsjahren sich rasch entwickelnden und heute wohl endgültig bewiesenen Theorien der Lokalisation und linearen Anordnung der Gene in den Chromosomen haben auch die Theorie des Gens wesentlich weitergebracht. Wir wissen jetzt, daß das Genom ein räumlich konstant und bestimmt angeordnetes stoffliches System ist, in dem die einzelnen Elementarteile, die Gene, ganz bestimmte Plätze einnehmen.

Mit dem Anwachsen des verschiedenartigen genetischen Tatsachenmaterials wird immer mehr klar, daß man aus der Betrachtung der Genmanifestierung nur wenig und Unsicheres über die Natur des Gens und der Genmutation erfahren kann. Denn: 1. wissen wir noch fast garnichts über die Genwirkungen, 2. das, was wir wissen, bezieht sich nicht auf isolierte Wirkungen einzelner Gene, sondern auf durch einzelne Genmutationen modifizierte Gesamtentwicklungssysteme, in denen wir als letzte Einheiten nicht die Gene, sondern ganze Zellen mit ihren Funktionen unterscheiden können, und 3. ist das „Projizieren der Phänomene der

Genmanifestierung in das Gen“ logisch unzulässig, denn, nach allem was wir wissen, müssen Bau und Entwicklung der Individuen, in denen sich die Genwirkungen abspielen, wohlgrundsätzlich verschieden sein vom Bau und der Variation der einzelnen Gene. Dagegen wachsen in letzter Zeit unsere Kenntnisse über den Mutationsprozeß als solchen rasch an, so daß wir ihn heute, wenigstens bei einigen genetisch gut untersuchten Objekten quantitativ erfassen und analysieren können. Und auf diesem Wege können wir, worauf schon vor Jahren von der MORGAN-Schule und vor allem von H. J. MULLER (1920, 1922, 1923, 1927, 1929a) hingewiesen wurde, am ehesten hoffen Näheres und Exakteres über die Natur des Gens und der Genmutation zu erfahren.

II. ANALYSE DES MUTATIONSVORGANGES.

In diesem Kapitel werden die wichtigsten Tatsachen der Mutationsforschung gebracht, vor allem die Ergebnisse der Mutationsauslösungsversuche, auf denen die Theorie der Genmutation und der Genstruktur aufgebaut werden kann. Es wird hier fast ausschließlich das *Drosophila*-Material berücksichtigt, da 1. *Drosophila* unser Versuchsobjekt ist, und 2. *Drosophila* für eine exakte und quantitative Mutationsforschung das günstigste Objekt darstellt.

1. Spontanes Mutieren.

In dem sehr großen Fliegenmaterial, das im Laufe der 25 Jahre *Drosophila*-forschung von Genetikern untersucht wurde, konnte das spontane Auftreten vieler Mutationen beobachtet werden. So zeigt uns schon das spontane Mutieren von *Drosophila* eine Reihe von allgemeineren Eigenschaften des Mutationsprozesses.

Es hat sich vor allem gezeigt, daß unter den erblichen Variationen grundsätzlich verschiedene Typen vorkommen können. Ohne, daß wir hier näher auf diese Frage eingehen, kann folgende Klassifikation der erblichen Variationen gegeben werden:

- A. Plasmatische Erbänderungen.
 - 1. Änderungen einiger Organellen des Cytoplasmas (z. B. Chloroplastenvererbung, CORRENS).
 - 2. Anpassungen des Cytoplasmas an einen neuen Genotyp (z. B. Plasmaakkommodation bei einigen Arthastarden, MICHAELIS).
 - 3. Dauermodifikationen (JOLLOS).
- B. Genotypische Erbänderungen (Mutationen).
 - 1. Genmutationen (Mutationen sensu strictu).
 - 2. Chromosomenmutationen:
 - a. Brüche und Fragmentationen.
 - b. Ausfälle von Chromosomenstücken (Deficiency und Deletion).
 - c. Inversionen.

- d. Duplikationen und einfache Translokationen.
 - e. Gegenseitige Translokationen.
 - f. Chromosomenverschmelzungen.
3. Karyomutationen:
- a. Heteroploidien.
 - b. Polyploidien.
- C. Kombinationen.

Auf Abb. 1 sind die wichtigsten Typen der genotypischen Erbänderungen schematisch dargestellt.

Weiterhin sollen uns nur die Genmutationen interessieren. Über Letztere erhalten wir aus dem spontanen Mutationsprozeß auch schon einige Angaben. Es hat sich gezeigt, daß Genmutationen immer herterozygot auftreten, d. h., daß nur eins von den zwei im diploiden Organismus vorhandenen Allelen im Moment der Mutationsentstehung sich verändert. Weiterhin zeigte es sich, daß durch Mutationen dominante oder rezessive Eigenschaften, verschiedene morphologische Merkmale und physiologische Eigenschaften, sehr

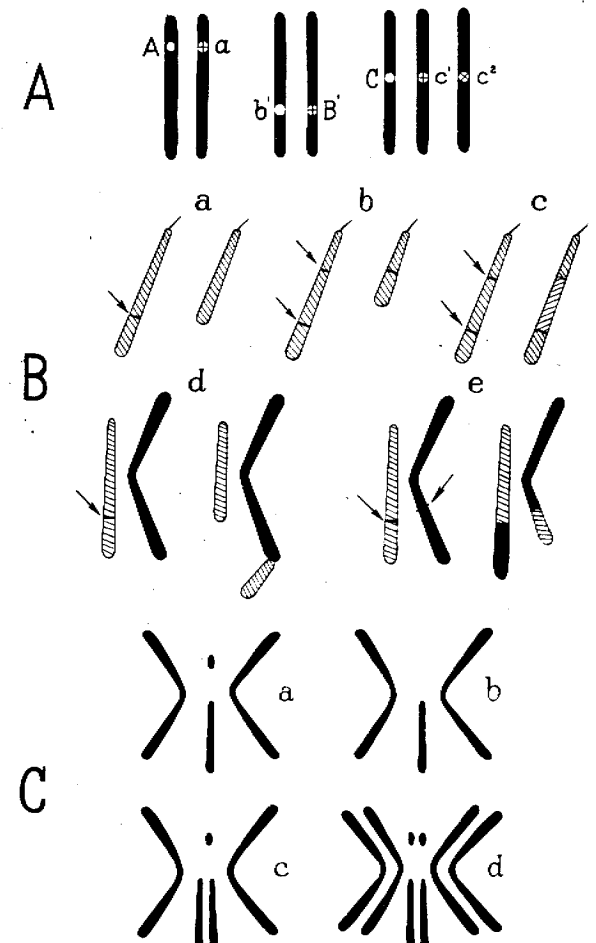


Abb. 1. Verschiedene Typen von Mutationen. A. Genmutationen: das dominante „normale“ (oder Ausgangs-) Allel A mutiert zu a; das rezessive Allel b' mutiert zu B'; das dominante Allel C ergibt durch Mutation c' oder c² (multiple Allele). B. Chromosomenmutationen: a. Wegfall eines Chromosomenstücks; b. Deletion; c. Inversion; d. einfache Translokation; e. gegenseitige Translokation. C. Genommutationen: a. normaler haploider Chromosomensatz; b.-c. Heteroploidie (b.-Haplosomie, c.-Trisomie); d. Polyploidie.

starke und ganz schwache Abweichungen von der Norm oder dem Ausgangszustand entstehen können; in Bezug auf den biologischen Wert, die Vitalität, der mutanten Formen, haben wir alle Übergänge von (allerdings relativ seltenen) Mutationen mit erhöhter Vitalität, bis zu solchen mit stark herabgesetzter, und sogar bis zu den (besonders häufigen) Letalfaktoren, die homozygot-lebensunfähig sind. Durch wiederholtes Mutieren bilden viele Gene multiple Allelenreihen; es können aber auch wiederholt genau die gleichen Mutationen auftreten, und die Zahl der Glieder einer multiplen Allelenreihe ist beschränkt. Verschiedene Gene zeigen verschiedene Mutationsraten. Schließlich werden gelegentlich auch Rückmutationen beobachtet, woraus geschlossen werden muß, daß wenigstens ein Teil der Mutationsschritte reversibel ist.

Somit zeigt uns schon der spontane Mutationsprozeß von *Drosophila* ein vielseitiges und volles qualitatives Bild des Mutierens. Analytisch ist aber daraus nicht besonders viel zu entnehmen, und dies aus zwei Gründen: 1. da die spontanen Mutationsraten so gering sind, daß eine exakte, quantitative Analyse meistens praktisch undurchführbar ist, und 2. da wir die auslösenden Ursachen des spontanen Mutierens nicht kennen, für eine fruchtbare Analyse aber die Kenntnis nicht nur der Reaktion, sondern auch des auslösenden Reizes notwendig ist. Danach müssen wir uns viel mehr von den Ergebnissen der experimentellen Mutationsauslösung versprechen. Besondere Vorzüge bietet dabei die Strahlen-genetik: erstens, da die Röntgen- und Radiumbestrahlung den stärksten, und dabei sicher reproduzierbaren Effekt auf die Mutationsrate ausübt; zweitens, da die Bestrahlung leicht und genau dosierbar ist; und drittens, was besonders wichtig ist, weil, im Gegensatz zu vielen anderen Reizen (z. B. Temperatur oder Chemikalien), die wir zwar auch genau dosieren können, von denen wir aber meistens gar nicht wissen, auf welchen Umwegen und in welcher Form sie bis zu den Genen durchdringen können, die kurzwellige Strahlung in wohldefinierbarer Form bis zu den Genen sicher durchdringt, und eine experimentelle, biophysikalische Analyse ihrer unmittelbaren Wirkungsweise gestattet.

2. Qualitatives Bild des strahleninduzierten Mutationsprozesses.

Seit den ersten erfolgreichen strahlengenetischen *Drosophila*-Versuchen von H. J. MULLER (1927b, 1928b, c), wurde in den letzten Jahren ein sehr umfangreiches strahlengenetisches *Drosophila*-Material bearbeitet, so daß wir heute schon über ein vielseitiges und volles

Gesamtbild des strahleninduzierten Mutationsprozesses verfügen. Neben der allgemeinen Gunst des Objektes wurde die Arbeit auch dadurch gefördert, daß wir bei *Drosophila melanogaster* über eine Reihe von für die Mutationsentdeckung besonders günstigen Kreuzungsmethoden verfügen. Die zwei gebräuchlichsten, die MULLER'sche „CLB“-Kreuzungsmethode und die „attached X“-Methode von L. MORGAN, sind auf Abb. 2 schematisch dargestellt.

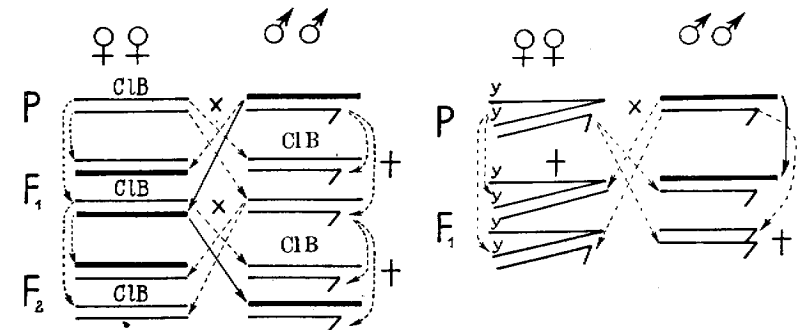


Abb. 2. Schemata der „CLB“- (links) und der „attached X“- (rechts) Kreuzungsmethoden. Die „CLB“-♀♀ enthalten in einem der X-Chromosomen einen Crossingoverversperrer (C), einen rezessiven Letalfaktor (l) und das dominante Gen Bar (B); die Hälfte ihrer Söhne, die das CLB-Chromosom enthält, kommt nicht zur Entwicklung; in F₂ von der Kreuzung bestrahlter P-♂♂ mit CLB-♀♀ erhält die überlebende Hälfte der ♂♂ das bestrahlte X-Chromosom; die F₂-Kulturen, die ein bestrahltes X-Chromosom mit einem neuentstandenen Letalfaktor erhalten, ergeben gar keine Männchen. Die „attached-X“-♀♀ enthalten zwei aneinandergeheftete X-Chromosome (mit dem Allel yellow) und ein überzähliges Y-Chromosom; die F₁-♂♂ erhalten ihr X-Chromosom vom Vater; falls bestrahlte ♂♂ mit „attached-X“-♀♀ gekreuzt werden, so müssen alle, auch rezessive, sichtbare geschlechtsgebundene Mutationen sich bei den F₁-♂♂ zeigen. Die bestrahlten X-Chromosome sind dick gezeichnet.

Der allgemeine, qualitative Charakter des strahleninduzierten Mutationsprozesses kann folgendermaßen kurz geschildert werden.

Alle Strahlenqualitäten, von Ultraviolett bis zu den härtesten Gammastrahlen, sind im Stande, die Mutationsrate stark zu erhöhen. Weiter werden wir uns allerdings nur auf die durch Röntgen- oder Gammabestrahlungen gewonnenen Ergebnisse beschränken, da die strahlengenetischen Versuche mit Ultraviolett wegen gewisser technischer Schwierigkeiten (starke Absorption im Gewebe) noch ziemlich dürftige und unsichere Ergebnisse liefern, und vor allem da schon a priori behauptet werden kann, daß die physikalische Wirkung des Ultravioletts auf die Gene von der der kurzwelligeren Strahlung im einzelnen verschieden sein muß.

Die genetische Strahlenwirkung ist insofern eine sehr allgemeine, als bei allen Objekten und in allen Geweben, bei denen und in denen die Mutationsentstehung festgestellt werden kann, durch Bestrahlung auch tatsächlich Mutationen in hohen Raten ausgelöst werden (allgemeine Darstellungen in: MULLER 1930a, 1934a; STUBBE 1934; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1931b, 1934c). Es werden dabei alle Typen von Mutationen, die vorhin als aus dem spontanen Mutationsprozeß bekannt geschildert wurden und auf Abb. 1 dargestellt sind, auch in strahlengenetischen Versuchen in erhöhten Raten beobachtet. Auch alle Typen von Genmutationen werden

Tab. 1. Durch Röntgenbestrahlung (4800 r bzw. 3900 r) induzierte Rückmutationen rezessiver mutanter Allele von *Drosophila melanogaster*. Bestrahlt wurden die P-♂♂. (Aus TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1932b und JOHNSTON and WINCHESTER 1934).

Allele und ihre Loci	TIMOFÉEFF-RESSOVSKY		JOHNSTON AND WINCHESTER	
	Zahl der Gameten	Zahl der Rückmutationen	Zahl der Gameten	Zahl der Rückmutationen
X-Chromosom, 0 y	21897	0	69923	1
" 0 + sc	17676	3	101042	5
" 1,5 w	29233	2	—	—
" 1,5 w ^e	23472	2	—	—
" 1,5 w ^a	—	—	69302	0
" 5,5 ec	17676	0	57323	0
" 14 cv	16460	2	—	—
" 20 ct	12914	0	57323	1
" 33 v	29384	2	61119	1
" 36 m	—	—	39923	2
" 44 g	12914	0	57323	4
" 56 f	34811	8	130421	15
" 62 car	—	—	69302	1
III-Chromosom 0 ru	27155	0	—	—
" 26 h	27155	1	—	—
" 42 th	5681	0	—	—
" 44 st	27155	1	—	—
" 48 p ^p	21474	4	—	—
" 50 cu	5681	0	—	—
" 59 ss	21474	0	—	—
" 62 sr	5681	0	—	—
" 71 e ^s	27155	1	—	—
" 101 ca	5681	0	—	—
Total	390709	26 0,0066 %	713001	36 0,0051 %
Kontrolle	152352	0	700000	0

durch Bestrahlung erzeugt. So daß zwischen dem spontanen und dem strahleninduzierten Mutationsprozeß qualitativ ein Parallelismus besteht. Dieser Parallelismus geht noch weiter, indem in beiden Fällen gleiche Mutationstypen am seltensten („große“, stark von der Norm abweichende, und besonders die dominanten Mutationen; Mutationen mit erhöhter Vitalität) oder am häufigsten („kleine“ Mutationen; Mutationen mit herabgesetzter Vitalität und Letalfaktoren) vorkommen. Der für jedes Objekt typische Charakter des spontanen Mutationsprozesses bleibt auch im allgemeinen nach Bestrahlung erhalten. Wir haben also wohl keinen Grund das Vorhandensein irgend eines prinzipiellen Unterschiedes zwischen „Spontan-“ und „Strahlenmutationen“ anzunehmen.

Es konnte festgestellt werden, daß durch Bestrahlung auch Rückmutationen erzeugt werden können. Auf Tab. 1 sind diesbezügliche, umfangreiche Versuchsergebnisse angeführt; sie zeigen, daß bei verschiedenen Genen des X- und des III-Chromosoms von *Drosophila melanogaster*, zum Teil wiederholt, Rückmutationen von rezessiven mutanten Allelen zu normalen, dominanten Ausgangsallelen durch Röntgenbestrahlung induziert werden konnten. Auf Abb. 3 sind Allelenpaare angegeben, bei denen in meinen Versuchen Hin- und Rückmutationen direkt eine aus der anderen erzeugt wurden, also Fälle, in denen durch den gleichen Strahlenreiz Mutationsschritte in zwei entgegengesetzten Richtungen ausgelöst werden konnten. Innerhalb multipler Allelenreihen können verschiedene Mutationsschritte in verschiedenen Richtungen durch Bestrahlung ausgelöst werden, wie dies auf Abb. 4 für die bisher wohl am besten diesbezüglich untersuchte white-Allelenreihe von *Drosophila melanogaster* dargestellt ist. Aus den in diesem Absatz erwähnten Versuchsergebnissen geht hervor, daß die mutationsauslösende Strahlenwirkung, und der Mutationsvorgang selbst, nicht rein

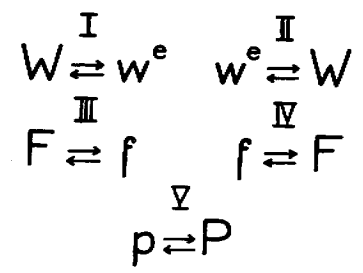


Abb. 3. Allelenpaare von *Drosophila melanogaster*, bei denen durch Röntgenbestrahlung Mutationen in entgegengesetzten Richtungen direkt eine aus der anderen erzeugt wurden. I. aus Normal wurde eosin, und aus diesem eosin durch weitere Bestrahlung wieder Normal erzeugt; II. aus einem spontan entstandenen eosin wurde Normal, und aus diesem Normal wieder eosin erzeugt; III. aus Normal wurde forked, und aus diesem forked — Normal erzeugt; IV. aus einem spontan entstandenen forked wurde Normal, und aus diesem Normal durch weitere Bestrahlung wieder forked erzeugt; V. aus Normal wurde pink, aus diesem pink die Rückmutation zu Normal, und aus diesem Normal wieder pink erzeugt.

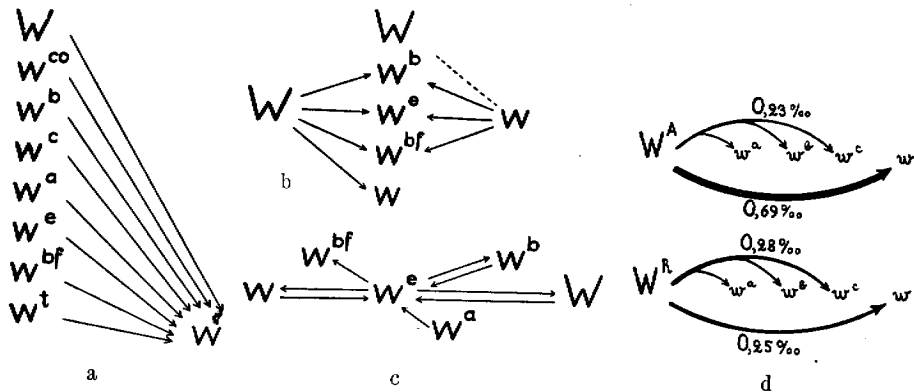


Abb. 4. Röntgeninduzierte Mutabilität der multiplen W-Allelenreihe von *Drosophila melanogaster*. a. Das Allel white konnte aus allen anderen, daraufhin geprüften Allelen erzeugt werden. b. Das Normal-Allel (W) hat Mutationen zu blood (w^b), eosin (w^e) und buff (w^{bf}) ergeben, die auch aus white (w) als Rückmutationen erzeugt wurden; Normal mutiert auch direkt zu white, der theoretischdenkbare Mutationsschritt $w \rightarrow W$ wurde aber nie beobachtet. c. Verschiedene Mutationen von und zu eosin. d. Unterschiede in der Mutabilität von zwei verschiedenen „Normal“-Allelen (W^A und W^R) der white-Serie, zu white (w) und zu intermediären Allelen (w^a , w^b , w^c).

destruktiver Art sein können, da es sich hier um reversible Veränderungen handelt.

3. Quantitative Analyse des Mutationsprozesses.

Nachdem in dem vorhergehenden Abschnitt ein allgemeines, qualitatives Bild des strahleninduzierten Mutationsprozesses gegeben wurde, wollen wir zu den Versuchen übergehen, die den Zweck haben, die genetische Strahlenwirkung zu analysieren.

Eine unbedingte Voraussetzung für die Durchführung solcher Versuche ist die Möglichkeit, über sicher feststellbare, definierte Mutationsraten zu verfügen. Wir haben bei *Drosophila melanogaster*, wie auf Abb. 2 dargestellt wurde, spezielle Kreuzungsmethoden, die die Mutabilität eines ganz bestimmten Teils des Genoms — des X-Chromosoms — leicht zu erfassen gestatten. Da aber die Mutationen, wie wir gesehen haben, sich phänotypisch auf eine sehr breite Skala, von guten alternativen Merkmalen bis zu kaum faßbaren Eigenschaften, verteilen, so muß mit einem leicht und sicher registrierbaren Ausschnitt des gesamten Mutationsprozesses gearbeitet werden. Als solchen können wir die letalen und „großen“ morphologischen Mutationen des X-Chromosoms nehmen. Man könnte allerdings a priori annehmen, daß die Mutabilität des

X-Chromosoms das durchschnittliche Gesamtmutieren der *Drosophila* falsch widerspiegeln würde; spezielle Versuche von R. BERG (1934) und von SCHAPIRO und SEREBROVSKAJA (1934), als auch unsere unveröffentlichten Versuchsergebnisse zeigten aber, daß die Mutationsraten verschiedener Chromosome von *Drosophila melanogaster*, den Längen ihrer genetisch-aktiven Teile proportional sind; oder, anders gesagt, daß verschiedene längere Abschnitte des Gesamtgenoms gleiche durchschnittliche Raten von Mutationen ergeben. Somit können wir die eben charakterisierte, mit Hilfe der „CIB“-Kreuzungsmethode objektiv und exakt erfassbare Mutationsrate des X-Chromosoms als genaues Charakteristikum des Mutierens von *Drosophila melanogaster* benutzen.

a. Direkte Strahlenwirkung und Unabhängigkeit vom biologischen Material.

Man könnte annehmen, daß die Bestrahlung nicht direkt die Gene angreift, sondern auf irgendwelchen indirekten Wegen die Mutationsrate beeinflusst. Diese Annahme kann experimentell geprüft werden, indem nach den Kreuzungsschemen der Abb. 5: 1. die

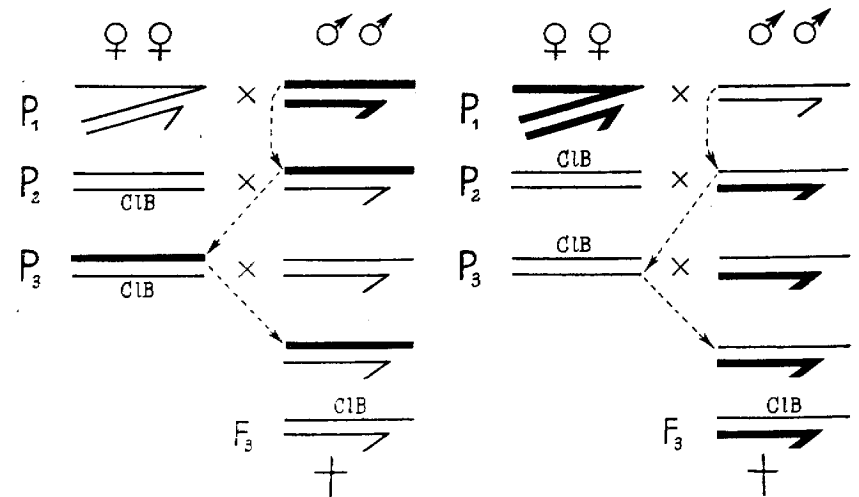


Abb. 5. Links: Schema der Kreuzungen zur Feststellung der Mutabilität früher bestrahlter, aber direkt nach Bestrahlung mutationsfreier X-Chromosome; P_1 -♂♂ wurden bestrahlt und mit „attached-X“-♀♀ gekreuzt; mutationsfreie F_1 -♂♂ wurden mit CIB-♀♀ gekreuzt; und in F_3 wird die Mutationsrate der früher bestrahlten X-Chromosome (der P_1 -♂♂) festgestellt. Rechts: Schema der Kreuzungen zur Feststellung der Mutabilität von nicht bestrahlten X-Chromosomen in bestrahlten Eiern; P_1 -attached X“-♀♀ wurden bestrahlt und mit unbestrahlten ♂♂ gekreuzt; die F_1 -♂♂ (P_2 -♂♂) enthalten unbestrahlte X-Chromosome, die in bestrahlte Eier hineingekreuzt wurden; diese ♂♂ wurden mit CIB-♀♀ gekreuzt (P_3) und in F_3 wird die Mutationsrate der nicht bestrahlten X-Chromosome (der P_2 -♂♂), die sich im bestrahlten Eioplasma befinden, festgestellt. Die bestrahlten Chromosome sind dick gezeichnet.

Mutabilität von früher bestrahlten, aber direkt nach Bestrahlung mutationsfreien Chromosomen festgestellt wird, und 2. nicht-bestrahlte Chromosomen im bestrahlten Ei auf Mutationen untersucht werden. Kreuzungen des ersten Typs wurden von MÜLLER (1930 a), TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1930 c, 1931 a) und GRÜNEBERG (1931), Kreuzungen des zweiten Typs von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1931 a) durchgeführt. Alle diese Versuche haben ein negatives Resultat ergeben: es konnte weder eine Nachwirkung der Bestrahlung, noch

Tab. 2. Raten der geschlechtsgebundenen Mutationen von *Drosophila melanogaster*: 1. in unbestrahlten Kontrollkulturen; 2. in vor einer Generation bestrahlten, aber direkt nach Bestrahlung mutationsfreien X-Chromosomen der Spermien (P_2 der Abb. 5 links); 3. in unbestrahlten, aber in bestrahlte Eizellen hineingekreuzten X-Chromosomen der Spermien (P_2 der Abb. 5 rechts); 4. in unmittelbar mit 3000 r Röntgenbestrahlten X-Chromosomen der Spermien. Die P_1 -♂♂ wurden mit ClB -♀♀ gekreuzt.

Art der Behandlung	Zahl der		Prozentsatz geschlechtsgeb. Mutationen
	Kulturen	Mutationen	
Unbestrahlte Kontrolle	3708	7	0,19 ± 0,07
Vorher bestrahlte, aber mutationsfrei gebliebene X-Chromosomen	1431	3	0,21 ± 0,12
Nichtbestrahlte X-Chromosomen in bestrahlten Eizellen	1212	2	0,16 ± 0,12
Unmittelbar bestrahlte X-Chromosomen (Dosis 3000 r)	2239	198	8,84 ± 0,59

eine Beeinflussung von nichtbestrahlten Chromosomen durch bestrahltes Plasma festgestellt werden. Die Versuchsergebnisse von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY sind auf Tab. 2 zusammengefaßt.

Es konnte gezeigt werden (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1931 a), daß bei *Drosophila* die Mutationsentstehung, ebenso wie bei Pflanzen (STADLER 1930), nicht an die Chromosomen- bzw. Genteilung gebunden ist, sondern auch in vollkommen „ruhendem“ Zustand der Chromosomen erfolgen kann.

Mutationen können durch Röntgen- und Radiumbestrahlung bei beiden Geschlechtern, in verschiedenen Entwicklungsstadien und in verschiedenen Geweben erzeugt werden. Die Frage, ob gleiche Bestrahlung auch überall die gleiche Mutationsrate auslöst, kann leider noch nicht exakt und eindeutig entschieden werden, da sie auf eine Reihe technischer Schwierigkeiten stößt. Die manchmal beobachteten Unterschiede in den Mutationsraten (reife und unreife Spermien, Weibchen und Männchen) werden aber, nach Ansicht der meisten Autoren, die diese Frage bearbeitet haben (MOORE 1934;

NEUHAUS 1934 a; SCHAPIRO und NEUHAUS 1933; SIDOROV 1931; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1930 d, 1931 a), durch Wirkung der Germinalselektion (oder anderer, die Feststellung der aufgetretenen Mutationen beeinflussender Umstände), und nicht durch verschiedene, physiologisch bedingte Labilität der Gene selbst verursacht.

Die Wahrscheinlichkeit, bei allen einzelnen Individuen durch Bestrahlung Mutationen zu erhalten ist gleich (SEREBROVSKY und MITARBEITER 1928); es gibt also keine zum Mutieren besonders praedisponierten Individuen. Ob das genotypische Milieu (oder Rasse) in dem sich ein bestimmtes Gen befindet, die strahleninduzierte Mutabilität dieses Gens beeinflussen kann, ist schwer zu entscheiden. Der einzige bisher genau untersuchte Fall (Mutabilität des normalen Allels der white-Serie) hat gezeigt, daß das genotypische Milieu die Mutabilität eines bestimmten Gens nicht beeinflusst, und daß der Unterschied, der in diesem Fall vorhanden war, dadurch sich erklärt, daß in den zwei Rassen verschiedene Allele des betr. Gens enthalten waren (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1932 a, b, 1933 b). Die Prüfung der Raten strahleninduzierter, somatischer Augenmutationen bei reinen *Drosophila simulans*-Männchen und bei hybriden *Dros. melanogaster* × *Dros. simulans*-Männchen (also im X-Chromosom von *Drosophila simulans*, einmal im reinen *simulans* — und das andere mal im Hybriden-Genotyp) ergab nur einen geringen und statistisch nicht gesicherten Unterschied (BELGOVSKY 1934). Es ist überhaupt zu bemerken, daß Unterschiede im Mutieren verwandter Arten und Rassen durch verschiedene Typen der „Maskierung“ eines Teils der Mutationen, und nicht durch Unterschiede in den eigentlichen Mutationsraten der Gene bedingt sein können (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1931 b, 1934 c), und deshalb mit Vorsicht zu beurteilen sind.

b. Mutationsrate und Bestrahlungsdosis.

Schon die ersten Versuche von H. J. MÜLLER (1928 b, c) zeigten, daß die induzierte Mutationsrate der applizierten Dosis direkt proportional ist. Eine Reihe von Spezialversuchen, die von verschiedenen Autoren durchgeführt wurden (DEMEREK 1933; HANSON und HEYS 1929, 1932; OLIVER 1930, 1932; SCHECHTMANN 1930; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1931 b, 1934 a, b, c), hatten eine genaue Feststellung der Beziehungen von Mutationsrate zur Bestrahlungsdosis zum Ziel. Alle diese Versuche haben das gleiche Resultat ergeben, daß die induzierten Mutationsraten den Bestrahlungsdosen direkt und linear proportional sind. Auf Tab. 3 sind die Ergebnisse meiner Versuche zusammengefaßt, und Abb. 6 stellt die Proportionalitäts-

Tab. 3. Proportionalität zwischen den Raten geschlechtsgebundener Mutationen und den Röntgenbestrahlungsdosierungen bei *Drosophila melanogaster*. (50 KV, 1 mm Al.)

Röntgenstrahlendosis in r	Zahl der Kulturen	Zahl der Mutationen	Prozent der Mutationen
Kontrolle	3058	4	0,13 ± 0,07
750 r	988	21	2,12 ± 0,46
1200 r	718	27	3,76 ± 0,71
1500 r	803	34	4,23 ± 0,71
2400 r	518	39	7,53 ± 1,16
3000 r	619	53	8,56 ± 1,12
3600 r	430	46	10,69 ± 1,49
4800 r	392	54	13,77 ± 1,74
6000 r	416	65	15,62 ± 1,78

kurven graphisch dar. Die Versuche aller ebenerwähnten Autoren umfassen einen sehr breiten Dosenbereich von ca. 350 r bis ca. 9000 r. Das Abweichen der höchsten Mutationsraten in die Minusseite von der erwarteten linearen Proportionalität erklärt sich durch Eintreten von Sättigungserscheinungen, die dadurch bedingt sind, daß bei Benutzung der „ClB“-Kreuzungsmethode das Auftreten von zwei Letalfaktoren (oder mehr) im gleichen Chromosom von den Fällen, in denen nur ein Letalfaktor aufgetreten ist, meistens nicht unterschieden wird. Deshalb muß empirisch eine bessere Übereinstimmung der Versuchsergebnisse mit der Sättigungskurve der linearen Proportionalität erwartet werden, was auch tatsächlich der Fall ist (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1934 a; ZIMMER 1934).

Da in den obenerwähnten Versuchen die Bestrahlung in r-Einheiten dosiert wurde, so kann also festgestellt werden, daß innerhalb des geprüften, breiten Dosenbereiches die induzierten Mutationsraten den Ionisationsraten der Strahlung direkt und linear proportional sind.

Schließlich kann noch erwähnt werden, daß die gleiche Gesetzmäßigkeit nicht nur für die gesamte Mutationsrate des X-Chromosoms (die zu ca. 90% aus Letalfaktoren besteht) gilt, sondern anscheinend, wie es noch nicht abgeschlossene Versuche vermuten lassen, auch bei den Raten von „sichtbaren“ geschlechtsgebundenen Mutationen und auch einigen Einzelgenen festzustellen ist.

c. Mutationsrate und Wellenlänge der Strahlung.

Erfolgreiche und exakte Mutationsauslösungsversuche wurden an *Drosophila* mit verschiedenen Strahlenqualitäten, von sehr weichen Röntgenstrahlen bis zu harten Gammastrahlen des Radiums durchgeführt (EFROIMSON 1931; HANSON and HEYS 1929; HANSON, HEYS and STANTON 1931; SCHECHTMANN 1930; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1931 b, 1934 a, b, c).

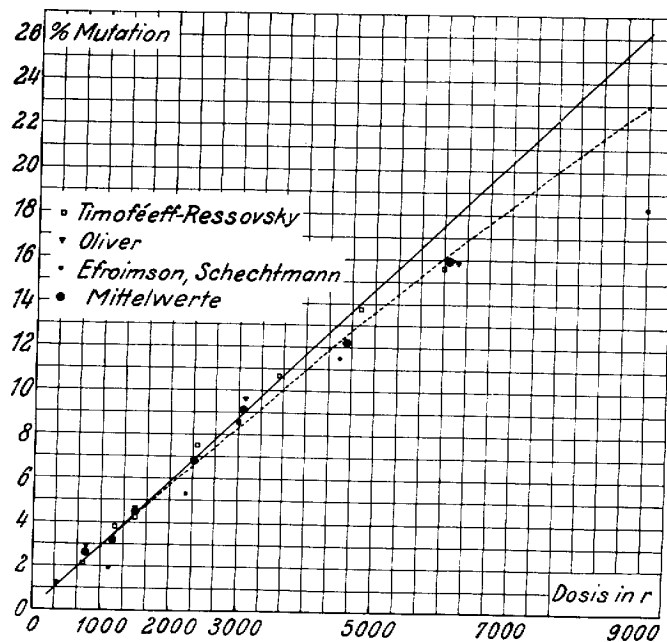
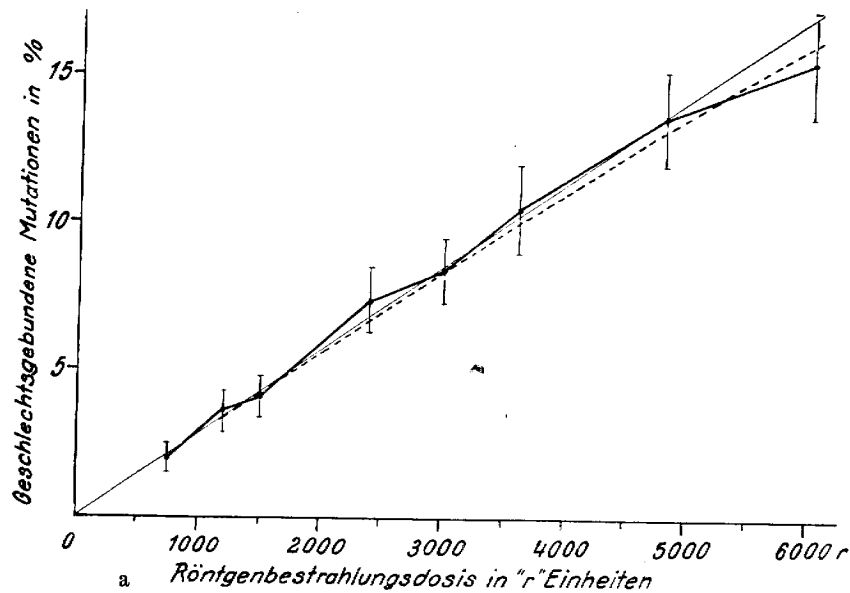


Abb. 6. Proportionalitätskurven der geschlechtsgebundenen Mutationsrate zur Röntgenbestrahlungsdosis bei *Drosophila melanogaster*. Oben: Versuche von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY. Unten: Zusammenstellung der Versuche von EFRIMSON, OLIVER und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY. Die gerade ansteigende Linie entspricht der direkten linearen Proportionalität, die gestrichelte --- der entsprechenden Sättigungskurve; die vertikalen Linien der oberen Kurve geben die Fehlergrenzen der einzelnen Versuchspunkte wieder.

Versuche von HANSON, HEYS und STANTON (1931), von SCHECHTMANN (1930) und von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1934a) haben gezeigt, daß innerhalb des Wellenlängenbereichs der Röntgenstrahlen (von sogen. „Grenzstrahlen“ bis zu harten Röntgenstrahlen) keine Wellenlängenabhängigkeit der Mutationsrate bei *Drosophila* festzustellen ist. Dagegen ließen Angaben über Radiumdosen (in r) in den Versuchen von HANSON und HEYS (1932) vermuten, daß äquivalente Radiumdosen die Mutationsrate schwächer, als die Röntgenstrahlen beeinflussen. Da aber die Dosierung von Gammastrahlen in r bis zuletzt technisch schwierig war, so mußten diese Angaben nachkontrolliert werden. Nachprüfungen (PICKHAN 1934) haben gezeigt, Tab. 4. Wirkung äquivalenter Dosen von: 1. weichen und harten Röntgenstrahlen und 2. ziemlich weichen Röntgen- und harten Gammastrahlen auf die Rate der geschlechtsgebundenen Mutationen von *Drosophila melanogaster*. P-♂♂ wurden bestrahlt und mit ClB-♀♀ gekreuzt.

Dosis	Strahlenqualität	Zahl der		Prozentsatz der Mutationen
		Kulturen	Mutationen	
3750 r	Röntgen, 25 KV 0,5 mm Al.	486	54	11,11 ± 1,42
3750 r	Röntgen, 160 KV 0,25 mm Kupfer + 3 mm Al.	516	53	10,27 ± 1,33
4500 r	Röntgen, 50 KV 1 mm Al.	591	72	12,19 ± 1,29
4500 r	Gammastrahlen des Ra.	508	59	11,61 ± 1,35
Unbestrahlte Kontrolle		1827	2	0,11 ± 0,10

daß genau in r gemessene, äquivalente Dosen von Röntgen- und Gammastrahlen gleiche Mutationsraten auslösen. Auf Tab. 4 sind die Versuche von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY mit verschiedenen Röntgenstrahlen und Versuche von A. PICKHAN mit Röntgen- und Gammastrahlen angeführt. Es hat sich also gezeigt, daß gleiche Dosen (in r) aller Röntgen- und Gamma-Strahlen gleiche mutationsauslösende Wirkung ausüben. Versuche von A. PICKHAN mit verschiedenen gestaffelten Röntgen- und Gammadosen (Abb. 7) haben außerdem gezeigt, daß die durch diese verschiedenen Strahlenqualitäten ausgelösten Mutationsraten gleiche, direkt lineare Proportionalitätskurven (zur Dosis in r) ergeben.

Somit stellt es sich heraus, daß die Mutationsrate bei *Drosophila* im ganzen Bereich der Röntgen- und Gammastrahlen wellenlängenunabhängig und nur eine Funktion der Dosis ist.

d. Mutationsrate und Zeitfaktor.

Viele strahlenbiologische Reaktionen zeigen eine gewisse Abhängigkeit davon, ob die Bestrahlungsdosis konzentriert oder verdünnt, ganz (auf einmal) oder fraktioniert (und auf eine längere Zeitspanne verteilt), verabreicht wird. Man spricht dabei von der Wirkung des „Zeitfaktors“, oder der Ungültigkeit des sogen. $I \cdot t = \text{const.}$ -Gesetzes. Da die Feststellung, ob der Zeitfaktor einen Einfluß ausübt, von großer analytischer Bedeutung ist, wurden spezielle Mutationsauslösungsversuche an *Drosophila* von mehreren Autoren durch-

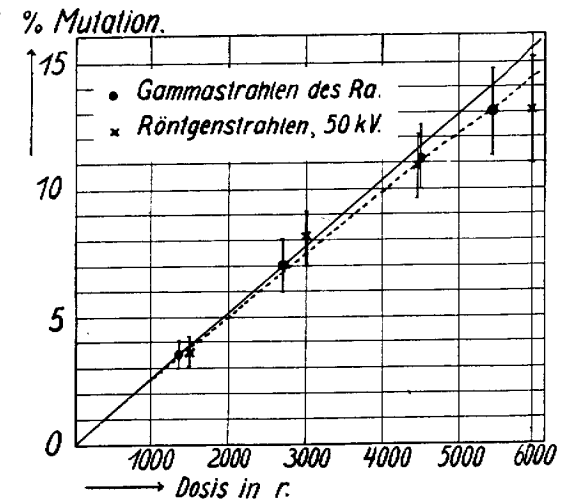


Abb. 7. Proportionalität der Mutationsraten zur Bestrahlungsdosis aus Versuchen mit Röntgen- und mit harten Gamma-Strahlen. Bezeichnungen wie auf der oberen Kurve der Abb. 6.

Tab. 5. Raten geschlechtsgebundener Mutationen von *Drosophila melanogaster*, ausgelöst mit äquivalenten konzentrierten, verdünnten, und fraktionierten Röntgendosen. P-♂♂ wurden bestrahlt und mit ClB-♀♀ gekreuzt. Bestrahlung: 1—3. 3600 r (50 kV, 1 mm Alum.) in 15 Min. (240 r/min.), in 6 Stunden (10 r/min.) und an 6 Tagen je 5 Min. (120 r/min.); 4—5. 3000 r (50 kV, 1 mm Alum.) in 10 Min. (300 r/min.), und an 10 Tagen je 5 Stunden (1 r/min.). Konzentrationsunterschiede: 1—2 = 1:24; 4—5 = 1:300. Zeitunterschiede: 1—3 = 1:576; 4—5 = 1:1440.

Röntgendosis	Art der Behandlung	Zahl der		Prozentsatz geschlechtsgeb. Mutat.
		Kulturen	Mutationen	
3600 r	Konzentriert, in 15 Min.	493	54	10,95 ± 1,41
3600 r	Verdünnt, in 6 Stunden	521	60	11,51 ± 1,39
3600 r	Fraktioniert, 6 Tage je 5 Min.	423	47	11,11 ± 1,52
3000 r	Konzentriert, in 10 Min.	531	43	8,09 ± 1,18
3000 r	Verd.-frakt., 10 Tage je 5 St.	573	52	9,07 ± 1,18
Unbestrahlte Kontrolle		1827	2	0,11 ± 0,10

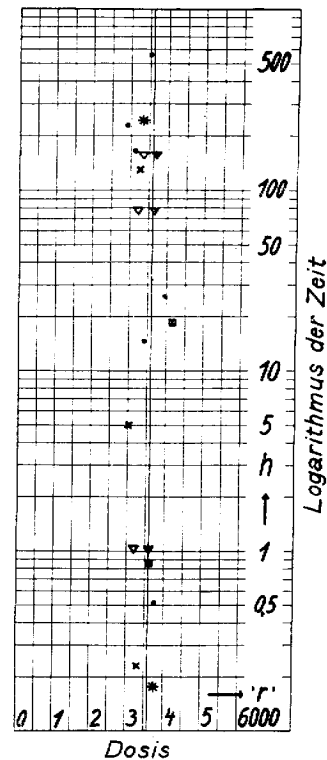


Abb. 8. Unabhängigkeit der Mutationsrate vom Zeitfaktor in Bestrahlungsversuchen mit *Drosophila melanogaster*. Aus Bestrahlungsversuchen verschiedener Autoren berechnete Bestrahlungsdosen (in r), die eine geschlechtsgebundene Mutationsrate von 10% auslösen, aufgetragen gegen die Bestrahlungszeit (diese im logarithmischen Maßstab); die Dosen schwanken innerhalb der statistischen Fehlergrenzen um den aus der Proportionalitätskurve entnommenen Idealwert von 3600 r (▼ - HANSON and HEYS 1932, starke Dosis; ▽ - HANSON and HEYS 1932, schwache Dosis; ● - PATTERSON 1931; ■ - PICKHAN 1934; × - TIMOFÉEFF - RESSOVSKY 1934a; * - TIMOFÉEFF - RESSOVSKY und ZIMMER 1935).

geführt, in denen die zeitliche Verteilung der Dosis variiert wurde.

PATTERSON (1931) hat *Drosophila*-Männchen mit einer Röntgendosis von ca. 1250 r bestrahlt, die er einmal ganz, in 10 Minuten, und außerdem in 8 Teile fraktioniert und auf Zeitspannen von 4 Stunden bis 8 Tage verteilt applizierte; in allen Fällen wurde die gleiche Mutationsrate erzeugt. HANSON und HEYS (1932) haben gleiche Dosen von Radiumstrahlung konzentriert (in 0,5, bzw. 1 Stunde) und verdünnt (in 75, bzw. 150 Stunden) appliziert und dabei keinen Einfluß der Dosisverdünnung auf die Mutationsrate festgestellt. In Versuchen von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY (1934a) und TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER (1935) wurden gleiche Röntgendosen konzentriert (300 r/min, 240 r/min), verdünnt (10 r/min, 1 r/min), fraktioniert (in 6—10 Teile, auf 6—10 Tage verteilt) und verdünnt-fraktioniert verabreicht (Tab. 5); der Prozentsatz der ausgelösten Mutationen war auch in diesen Versuchen nur der Höhe der Dosis proportional, und wurde von der zeitlichen Verteilung der Dosis nicht beeinflusst, trotzdem hier die Gesamtapplikationszeit bis zum Verhältnis 1:1440 variiert wurde. In Versuchen von PICKHAN (1934) wurde die Röntgenstrahlenkonzentration im Verhältnis 1:19 (ca. 70,5 r/min, bzw. ca. 3,7 r/min) variiert, ohne daß dadurch die Mutationsrate beeinflusst wurde. Auf Abb. 8 ist das Ergebnis aller Zeitfaktorversuche graphisch dargestellt.

Somit haben alle *Drosophila*-Versuche gezeigt, daß die strahleninduzierte Mutationsrate vom Zeitfaktor unabhängig und nur der Gesamtmenge der Strahlung proportional ist. Daraus ergeben sich

einige wichtige *Schlußfolgerungen*. Erstens ist es ein weiterer Beweis der direkten und der Dosis proportionalen Beeinflussung der Gene durch die applizierte Strahlung. Zweitens zeigt dieser Befund, daß keine minimale oder „unterschwellige“ Bestrahlungsdosis zu erwarten ist, und daß die Proportionalitätskurve in der gleichen Form nach unten bis zum Nullpunkt extrapoliert werden darf. Und drittens muß daraus geschlossen werden, daß der Mutationsvorgang, im Gegensatz zu vielen anderen biologischen Reaktionen, ein nichtrestituierbarer ist, bei dem die Gene aus einem stabilen Zustand, in einen anderen ebenso stabilen Zustand übergehen.

e. Kombinierte Wirkung der Bestrahlung mit anderen Reizen.

An Pflanzensamen hat STADLER (1930) zeigen können, daß die Imprägnierung der Samen mit Schwermetallsalzen, die allein keine mutationsauslösende Wirkung hat, den Effekt der nachfolgenden Bestrahlung erhöht, was wohl auf stärkere Absorption der Strahlung im so imprägnierten Gewebe beruhen muß. In letzter Zeit wurde dasselbe auch an *Drosophila melanogaster* bestätigt (MEDVEDEV 1933); Fliegen die auf Futter mit Zusatz von 1% Pb (CH_3COO)₂ gezüchtet wurden, ergaben nach Röntgenbestrahlung mehr Mutationen, als die nichtvorbehandelten Fliegen nach gleicher Röntgenbestrahlung ergeben hatten.

Außer der Behandlung mit Schwermetallsalzen, wurde an *Drosophila* die Wirkung der Temperatur während der Bestrahlung geprüft. MULLER (1930 a) hat die Fliegen mit gleicher Röntgendosis bei 8° C und bei 34° C bestrahlt, ohne einen statistisch reellen Unterschied erzielt zu haben. In unseren Versuchen (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1934 a) wurden *Drosophila melanogaster*-Männchen mit 3000 r röntgenbestrahlt, einmal bei 10° und das andere Mal bei 35° C; die erzeugten Mutationsraten ergaben keinen statistisch reellen Unterschied (Tab. 6).

Tab. 6. Raten der geschlechtsgebundenen Mutationen bei *Drosophila melanogaster* nach Bestrahlung mit gleicher Röntgendosis bei verschiedener Temperatur während der Bestrahlung (Strahlenqualität: 50 KV, 1 mm Aluminiumfilter).

Bestrahlungsbedingungen	Zahl der Kulturen	Zahl der Mutationen	Prozentsatz der Mutationen
Kontrolle	1827	2	0,11 ± 0,10
ca. 3000 r, bei 10° C während d. Bestrahlung	401	37	9,22 ± 1,44
ca. 3000 r, bei 35° C während d. Bestrahlung	368	30	8,15 ± 1,45

Die Versuche, die in diesem Abschnitt beschrieben wurden, zeigten also, daß die Bestrahlung durch direkte (und nicht auf physiologischen Umwegen erfolgende) Beeinflussung der Gene die

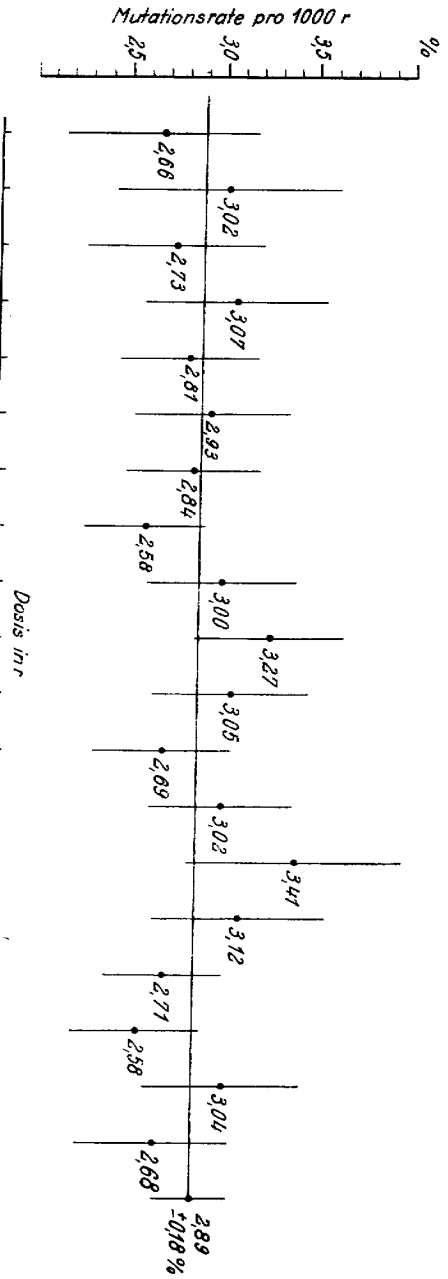
Mutationsrate erhöht. Die ausgelöste Mutationsrate ist der angewandten Dosis direkt proportional, und ist weder von der Wellenlänge und der zeitlichen Verteilung der applizierten Bestrahlungsdosis, noch von der Temperatur während der Bestrahlung abhängig. Auf Abb. 9 sind die Mutationsraten pro 1000 r aus allen unseren Versuchen mit verschiedenen Röntgendosen, verschiedener zeitlicher Verteilung der Dosis, verschiedenen Wellenlängen der applizierten Strahlung und verschiedener Temperatur während der Bestrahlung, graphisch dargestellt. Alle Mutationsraten pro 1000 r verteilen sich zufällig um die Gesamtdurchschnittsrate pro 1000 r aus allen Versuchen, ohne statistisch reelle Abweichungen zu ergeben. Diese Abb. zeigt, besonders deutlich, daß die strahleninduzierte Mutationsrate bei *Drosophila* eine lineare, direkte Proportionalität zu der Dosis, gemessen in r, aufweist, und von allen anderen geprüften Faktoren unabhängig ist. Als einziger wirksamer Begleitreiz hat sich die Imprägnation des zu bestrahlenden Gewebes mit Schwermetallsalzen erwiesen, was auch physikalisch ohne weiteres verständlich ist und mit den übrigen Versuchsergebnissen in Einklang steht.

4. Beziehungen der spontanen Mutationsrate zur Zeit und Temperatur.

Es müssen jetzt zwei Fragen, die die spontane Mutabilität betreffen, geklärt werden: über die Beziehungen der Mutationsrate zu der Zeit und zur Temperatur.

Die Frage über die Beziehungen von Mutationsrate zur Zeit zerfällt eigentlich in zwei getrennte Fragestellungen. Erstens muß geklärt werden, ob der Mutationsvorgang als solcher zeitunabhängig ist, d. h. ob die Wahrscheinlichkeit für das Gen zu mutieren von seinem „Lebensalter“ (der Zeitspanne, die es unmutiert verbracht hat) unabhängig ist. Es wäre also zu entscheiden, ob, falls wir die auftretenden Mutationen ständig ausscheiden, der noch nicht mutierte Rest der Gene mit der Zeit eine immer höhere Mutationsrate aufweisen würde, oder ob die Mutationsrate konstant bleibt. Es ist wohl kaum möglich diese Frage experimentell zu prüfen, sie kann aber an Hand von einigen Überlegungen mit genügender Klarheit entschieden werden. Der obenerwähnte Versuch — die ständige Eliminierung der schon mutierten Gene — wird sowohl in der freien Natur, als auch in unseren Kulturen dauernd durchgeführt. Wäre die „Lebensdauer“ der Allele beschränkt und der Mutationsvorgang zeitabhängig, so müßten in der Natur (in Anbetracht des relativ sehr hohen Alters der re-

Abb. 9. Mutationsraten (des X-Chromosoms) pro 1000 r aus verschiedenen Bestrahlungsversuchen mit *Drosophila melanogaster*. Von links nach rechts: Dosen von 750 r bis 6000 r gleicher Röntgenstrahlen (Tab. 3); Zeitfaktorversuche mit konzentrierten, verdünnten, fraktionierten und verdünnt-fraktionierten Röntgendosen (Tab. 5); Wellenlängenversuche mit gleichen Dosen weicher und harter Röntgenstrahlen und gleichen Dosen von Röntgen- und Gammastrahlen (Tab. 4); Bestrahlung mit gleicher Röntgendosis bei tiefer und hoher Temperatur (Tab. 6). Die der Rate von 2,89 % entsprechende Horizontale stellt die Gesamtdurchschnittsrate der geschlechtsgebundenen Mutationen pro 1000 r aus allen Versuchen dar; die vertikalen Linien geben die Fehlergrenzen der einzelnen Raten an.



zenten Arten) die Mutationsraten sehr hoch sein, und auch in den älteren (lange Zeit beobachteten) Kulturen ständig anwachsen. Wir haben gar keine Anzeichen dafür, daß so etwas tatsächlich stattfindet, und können deshalb annehmen, daß der Mutationsvorgang als solcher zeitunabhängig ist.

Die zweite Fragestellung, die die Beziehungen von Mutationsrate und Zeit betrifft, ist folgende: muß die Mutationsrate als Prozentsatz von Mutationen pro Zeiteinheit oder pro biologische Einheit, z. B. Generation, definiert werden? Praktisch wird die Mutationsrate bei *Drosophila* pro Generation, aber gleichzeitig meistens auch bei Männchen bestimmten Alters und unter einigermaßen konstanten Bedingungen, also auch pro absolute Zeiteinheit festgestellt. Man könnte diese Frage entscheiden, indem man die Prozentsätze von Mutationen in einem ruhenden Zellenstadium in verschiedenen Zeitspannen vergleicht. Bei *Drosophila* sind dafür die reifen Spermien geeignet, die nicht resorbiert und nicht ejakuliert werden, und in denen keine germinale Selektion stattfindet (HARRIS 1929; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1931 a). Auf Tab. 7 sind unsere Versuche

Tab. 7. Spontane Rate der geschlechtsgebundenen Letalfaktoren in frischen (sofort nach dem Schlüpfen der Männchen) und in gealterten (15—20 Tage nach dem Schlüpfen) reifen Spermien der *Drosophila melanogaster*-Männchen.

Art der Versuche	Alter der Spermien	Zahl der		Prozentsatz der Letalfaktoren
		Kulturen	Letalfaktoren	
„CIB“-Versuche, dauernd bei ca. 24° C.	1. P-♂♂ sofort nach Schlüpfen gepaart	6831	7	0,102 ± 0,038
	2. P-♂♂ 15-20 Tage n. Schlüpf. gepaart	5957	14	0,234 ± 0,062
Differenz 1—2 = 0,132 ± 0,072				

über die spontanen Raten der geschlechtsgebundenen Letalfaktoren in reifen Spermien von frisch geschlüpften und von 20 Tage alten Männchen angeführt. Diese Versuche deuten darauf hin, daß die Mutationsrate als Prozent der Mutationen pro Zeiteinheit zu definieren ist, trotzdem das Material noch zu gering ist, um statistisch einwandfreie Resultate zu liefern. Die gleiche Vorstellung ergibt sich aber auch aus Allem, was wir bisher über den Mutationsprozeß erfahren haben.

Die Frage über die Beziehungen der spontanen Mutationsrate zur Temperatur wurde schon in der ersten Arbeit von H. J. MULLER über die Feststellung der meßbaren Rate von Mutationen bei *Drosophila* angeschnitten (MULLER and ALTENBURG 1919). In einer zweiten

Arbeit hat MULLER (1928 a) weiteres Material über die spontane Mutationsrate bei verschiedenen Temperaturen gebracht. In beiden Arbeiten konnte gezeigt werden, daß durch Erhöhung der Temperatur die Mutabilität beschleunigt wird. Zu ungefähr gleichem Ergebnis führten auch unsere auf Tab. 8 zusammengefaßten Temperaturversuche über die Abhängigkeit der spontanen Rate der geschlechtsgebundenen Letalfaktoren von der Temperatur (innerhalb normaler Temperaturgrenzen) bei *Drosophila melanogaster*-♂♂.

Art der Versuche	Behandlung	Zahl der		Prozentsatz der Letalfaktoren
		F ₁ -F ₂ -Kulturen	geschlgeb. Letalfakt.	
„CIB“-Versuche über geschlechtsgebundene Letalfaktoren	1. P-♂♂ dauernd in 14° C:	6871	6	0,087 ± 0,035
	2. P-♂♂ dauernd in 24° C:	3708	7	0,188 ± 0,071
	3. P-♂♂ dauernd in 28° C:	6158	20	0,325 ± 0,072

Differenz 1—3: 0,24 % ± 0,08 %.

Entwicklungsdauer: 14° C — 22 Tage, 24° C — 14 Tage, 28° C — 11,5 Tage. Korrig. Mutationsraten: 14° C — 0,056 %, 24° C — 0,188 %, 28° C — 0,396 %. $t^{\circ}Q_{10} = 2,6$; korrig. $t^{\circ}Q_{10} = 5,1$.

Temperaturversuche. Die spontane Mutationsrate wird durch Erhöhung der Temperatur ebenfalls erhöht. Der Temperaturquotient für 10° C ($t^{\circ}Q_{10}$) beträgt ca. 2,5; falls man aber, unter Berücksichtigung dessen, was vorhin über die Beziehungen der Mutationsrate zur Zeit festgestellt wurde, eine Korrektur für die bei höherer Temperatur beschleunigte Entwicklung einführt, so erhält man $t^{\circ}Q_{10} = \text{ca. } 5$.

Daraus ergibt sich, worauf schon MULLER hingewiesen hat, daß die Mutationsrate der VAN T'HOFF'schen Regel folgt.

Somit haben die in diesem Abschnitt erwähnten Versuche und Überlegungen gezeigt, daß die spontane Mutationsrate als Prozentsatz von Mutationen pro Zeiteinheit zu definieren ist, als solche zeitunabhängig, dagegen aber temperaturabhängig ist, und im letzteren Fall der VAN T'HOFF'schen Regel folgt.

5. Raten einzelner Genmutationen.

In allen bisher erwähnten Versuchen handelte es sich um einen, anfangs definierten, Ausschnitt aus der Gesamtmutationsrate der *Drosophila melanogaster*, also um die Summe der Mutationen von

vielen verschiedenen Genen. Mit Hilfe der strahlengenetischen Methodik kann aber auch die Mutabilität einzelner Gene und sogar die Rate einzelner, bestimmter Mutationsschritte quantitativ erfaßt werden. Dazu ist allerdings die Bearbeitung eines sehr großen Materials erforderlich, und wir verfügen deshalb zur Zeit nur über wenige Einzelangaben.

Tab. 9. Vergleich verschiedener, durch gleiche Röntgenbestrahlung (ca. 5000 r) erzeugter Mutationsraten innerhalb der multiplen white-Allelenreihe von *Drosophila melanogaster*.

Mutationen	Zahl der		Mutationsraten in ‰	Differenz der Mutationsraten
	Gameten	Mutationen		
Alle direkten Mutationen	136000	63	0,463 ± 0,061	0,432 ± 0,062
Alle Rückmutationen	190000	6	0,031 ± 0,013	
W → w ^x	48500	37	0,763 ± 0,125	0,708 ± 0,128
w → w ^x	54000	3	0,055 ± 0,032	
W → w	48500	25	0,515 ± 0,102	0,264 ± 0,106
w ^x → w	87500	22	0,251 ± 0,056	
w ^e → w ^{-e}	72000	22	0,306 ± 0,064	0,266 ± 0,069
w ^e → w ^{+e}	72000	3	0,040 ± 0,024	
W → w ^x	48500	37	0,763 ± 0,125	0,393 ± 0,136
w ^{e-co} → w ^x	73000	27	0,370 ± 0,071	
w ^{-bf} → w ^x	68500	5	0,073 ± 0,032	0,297 ± 0,078

Auf Tab. 9 ist die durch Röntgenbestrahlung induzierte Mutabilität des white-Locus von *Drosophila melanogaster* zusammengefaßt (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1932 b, 1933 b). Die Versuchsergebnisse zeigen, daß innerhalb dieser multiplen Allelenreihe die verschiedenen Mutationsschritte mit ungleichen Häufigkeiten erfolgen. Daraus kann geschlossen werden, daß die *Mutationshäufigkeit durch die Struktur der betr. Allele mitbedingt* wird.

Auf Tab. 10 sind die Häufigkeiten der durch Röntgenbestrahlung ausgelösten *Hin- und Rückmutationen* einiger Gene von *Drosophila melanogaster* angeführt (PATTERSON and MULLER 1930; TIMOFÉEFF-RESSOVSKY 1932 b, 1933 a, b, und unveröff.). Die wenigen daraufhin bisher untersuchten Allelenpaare zeigen, daß wir wohl alle Übergänge zu erwarten haben von Fällen, in denen nur die direkte Mutation stattfindet, über solche, in denen das Hin- und Rückmutieren mit gleicher Häufigkeit erfolgt, bis zu den Fällen,

Tab. 10. Vergleich der Mutationsraten in zwei entgegengesetzten Richtungen von fünf verschiedenen Allelenpaaren von *Drosophila melanogaster* unter Einfluß von Röntgenbestrahlung (4800—6000 r).

Versuche von TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und H. MULLER und J. PATTERSON.

Genmutationen	Direkte Mutationen Zahl der		Rückmutationen. Zahl der	
	Gameten	Mutationen	Gameten	Mutationen
W → w	69500	28	54000	0
W → w ^e	69500	9	72000	3
F → f	43000	11	44000	15
P → p ^P	52000	1	58000	9
B → b	69500	0	9000	8

in denen die Rückmutationen viel häufiger vorkommen, als die nur selten, oder sogar einmalig, auftretenden „direkten“ Mutationen (von Normal zum mutanten Allel).

Tab. 11. Vergleich der spontanen und der röntgeninduzierten (4800—6000 r) Mutationsraten von W (Normal) zu w (white) und von bb^{lx} (letales Allel von bobbed) zu Bb (Normal) bei *Drosophila melanogaster*.

Genmutation	Spontane Mutationsrate	Röntgeninduzierte Mutationsrate
W → w	1 : ca. 300000 (3 : 1000000)	1 : ca. 2500 (28 : 69500)
bb ^{lx} → Bb	1 : ca. 12000 (3 : 35000)	1 : ca. 1800 (10 : 18000)

Die Tab. 11 zeigt schließlich das Ergebnis von Versuchen, in denen die spontanen und röntgeninduzierten Raten von zwei verschiedenen Mutationen verglichen werden (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY unveröff.). Die spontanen Mutationsraten der beiden Gene sind sehr verschieden. Die eine Mutation, von Normal zu white (W → w), tritt, ebenso wie die allermeisten Mutationen der normalen *Drosophila melanogaster*, sehr selten auf, so daß ihre Rate nur annähernd und schätzungsweise als 1 auf ca. 300000 bestimmt werden kann. Die andere Mutation, von bobbed^{lx} zu Normal (bb^{lx} → Bb), entsteht spontan relativ sehr häufig: ungefähr 1 auf 12000. Durch gleiche Röntgenbestrahlung wurden aber diese beiden, spontan so verschieden häufigen Mutationen, in Raten von gleicher Größenordnung (1 auf ca. 2500, bzw. 1 auf ca. 1800) erzeugt.

Im Anschluß an die Versuche der Tab. 11 müssen noch die an sogen. „mutablen“ oder „labilen“ Genen („frequently mutating

genes⁴⁾ gewonnenen Ergebnisse kurz erwähnt werden (zusammenfassende Darstellungen in: DEMEREC 1928, 1929 a; STUBBE 1933). Am ausführlichsten und exaktesten wurden von M. DEMEREC „mutable“ Allele des miniature-Gens von *Drosophila virilis* untersucht. Die „mutablen“ mutanten Allele unterscheiden sich sprunghaft und sehr stark von allen Allelen des normalen Typs durch die außerordentlich hohen Mutationsraten, die zum größten Teil aus Rückmutationen zum stabilen, normalen Allel bestehen. Die normalen Allele haben Mutationsraten von der Größenordnung zwischen 0,001 % und 0,0001 %, die „mutablen Allele können dagegen in über 1 % mutieren. Die Mutabilität der „mutablen“ Allele würde allerdings wohl nicht so sprunghaft sich abheben, wenn wir sie nicht nur mit der Mutabilität der normalen, sondern auch mit derjenigen der mutanten Allele vergleichen könnten. Letztere ist nur in sehr wenigen Fällen bekannt, aber wie die in Tab. 11 angeführte spontane Mutabilität des mutanten bb^{lx} -Allels zeigte, können wir unter den verschiedenen mutanten Allelen verschiedene Übergangsstufen von „stabilen“ zu „labilen“ Genen finden. Wir müssen nämlich annehmen, daß die Allele, die den normalen Typ konstituieren, hochgradig stabil sind, da die labileren im Laufe der Zeit durch natürliche Selektion ausgemerzt und durch stabilere ersetzt werden müssen, falls sie nicht Merkmale mit besonders hohem positiven Selektionswert erzeugen; aber auch im letzteren Fall würden sie wohl, allmählich durch stabile Gene, die äquivalente Merkmale hervorrufen, ersetzt werden. Deshalb finden wir auch tatsächlich, nicht nur die „mutablen“, sondern überhaupt labilere Allele nur unter den Mutationen von *Drosophila* und nicht im „wildem Typ“.

M. DEMEREC (1929 a, b, c, 1932 a, b, 1934) hat in einer Reihe sehr schöner Versuche die Mutabilität seiner labilen Allele genau untersucht. Uns interessieren hier besonders zwei von seinen Befunden. In einer speziellen Untersuchung (1932 a) konnte DEMEREC feststellen, daß die Mutabilität des „mutablen“ miniature-3-gamma-Allels durch Temperatur nicht sichtlich beeinflußt wird; auf jeden Fall wird die Mutabilität dieses Allels durch Temperaturerhöhung nicht stärker als die Gesamtentwicklung der Fliegen beschleunigt. Und in erst vor kurzem publizierten Versuchen hat DEMEREC (1934) gezeigt, daß die Mutationsrate desselben „mutablen“ Allels von *Drosophila virilis* durch Röntgenbestrahlung ebenfalls fast unbeeinflußt bleibt; die Rate anderer Mutationen wird durch entsprechende Bestrahlung um das Vielfache gesteigert, und bei dem „mutablen“ miniature-Allel kann höchstens ein ganz kleiner, statistisch

nicht gesicherter Zusatz von Mutationen nach Bestrahlung beobachtet werden. Diese Tatsache ist besonders in Zusammenhang mit den Versuchen der Tab. 11 interessant, und zeigt wieder, daß die Strahlenwirkung der spontanen Mutabilität nicht proportional zu sein braucht.

Die in diesem Abschnitt erwähnten Versuche haben also gezeigt, daß die Struktur der betr. Allele ihre Mutabilität mitbestimmt, daß aber die spontan besonders labilen Gene keine entsprechende, besonders hohe strahleninduzierte Mutationsrate zu zeigen scheinen. Außerdem konnte festgestellt werden, daß die Mutabilität in zwei entgegengesetzten Richtungen bei verschiedenen Allelen verschieden verlaufen kann, wobei es alle Übergänge von Fällen mit gleicher Wahrscheinlichkeit beider entgegengesetzter Mutationsschritte, bis zu beiden Extremen, also Fällen in denen nur eine Mutationsrichtung verwirklicht wird, gibt.

III. SCHLUSSBEMERKUNGEN.

1. Zusammenfassung der wichtigsten Versuchsergebnisse.

Aus den vorher geschilderten Beobachtungen und Versuchen können folgende Schlüsse über den Mutationsprozeß bei *Drosophila melanogaster* gezogen werden.

a) Spontan treten verschiedenste Mutationen auf, die Mutationsrate ist aber gering, und beträgt für die Summe der letalen und „guten“ sichtbaren Mutationen des X-Chromosoms ca. 0,1 % — 0,2 %.

b) Die spontane Mutabilität ist zeitunabhängig, d. h., daß die Mutationsbereitschaft der noch nicht mutierten Gene mit der Zeit nicht ansteigt, sondern konstant bleibt.

c) Die spontane Mutationsrate ist als Prozentsatz der Mutationen pro Zeiteinheit zu definieren (Tab. 7).

d) Die spontane Mutationsrate ist temperaturabhängig und folgt der VAN T'HOFF'schen Regel mit einem Temperaturquotienten für 10° C von ca. 5 (Tab. 8).

e) Verschiedene Gene, und auch verschiedene Allele desselben Gens zeigen verschieden hohe Mutationsraten, woraus zu schließen ist, daß die Mutabilität von der Allelenstruktur mitbedingt wird. Bei den mutanten Allelen findet man höhere Mutationsraten, als bei den normalen Allelen, und manchmal treten besonders labile, „mutable“ Allele auf.