

NEUERE ERGEBNISSE ÜBER DIE GENETIK UND
ZYTOLOGIE DES CROSSING OVER

Curt Stern, Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem, Germany

Die Untersuchungen über Faktorenaustausch oder crossing over nehmen eine besondere Stellung im Rahmen der Genetik und Zytologie ein. Die ursprünglichen Untersuchungen über den Zusammenhang von Genetik und Zytologie, die von SUTTON und BOVERI inauguriert wurden, zeigten zwar, dass Chromosomen und Gene zusammengehören und vereinigten zwei verschiedene Gruppen von Erkenntnissen. Aber diese neue Erkenntnis, so fruchtbar sie auch war als eine Quelle des Verständnisses für das Verhalten der Chromosomen und der an sie gebundenen Gene, brachte uns doch nur wenig neue Einblicke in das Verhalten der Chromosomen oder der Gene.

Anders bei den Untersuchungen über Faktorenaustausch. Hier diente die genetische Analyse der Koppelungserscheinungen von vornherein als ein Mittel, unsere Kenntnisse über das Wesen und das Verhalten der Chromosomen zu vertiefen. Der Titel der Arbeit von MORGAN (1911), welche den Beginn dieses Abschnittes der Forschung bildete, hiess: "An attempt to analyze the constitution of the chromosomes on the basis of sex-limited inheritance in *Drosophila*." Und man kann ohne viel Uebertreibung sagen, dass der Hauptteil der genetischen Arbeit, die in den letzten zwanzig Jahren auf dem Gebiet der Faktorenkoppelung geleistet worden ist, weniger Genetik als Zytologie gewesen ist: Eine Erforschung des Wesens und Verhaltens der wichtigsten biologischen Elementargebilde, über die wir etwas Sicheres wissen, der Chromosomen.

Was das Wesen der Chromosomen anbetrifft, so wissen wir, dass bestimmte Chromosomen Träger bestimmter Gruppen gekoppelter Gene darstellen, dass verschiedene Teile eines Chromosoms verschiedene Gene enthalten, und dass die Gene eine seriale Anordnung aufweisen. Im Besonderen auch diese letzten Erkenntnisse, die ursprünglich als kühne Hypothesen erschienen, können jetzt nach dem Ausfall entscheidender genetisch-zytologischer Untersuchungen mit Chromosomenfragmenten als völlig gesichert gelten (*Drosophila*: STERN, MULLER und PAINTER, DOBZHANSKY; *Datura*: BLAKESLEE und BELLING; *Mais*: McCLINTOCK). Da die Gene, zumindest bei den genetisch bearbeiteten Organismen, nicht optisch beobachtbar waren, so ist es klar, dass die genetische Analyse der Chromosomen bezüglich der Anordnung der Gene bisher die einzig mögliche war. Es wurden Strukturen analysiert, deren direkte Beobachtung nicht möglich war. Der mikroskopische Teil der Analyse bestand dabei darin,

grosse mikroskopisch sichtbare Teile der Chromosomen als Repräsentanten gewisser Gene zu verfolgen.

Dagegen gab es zwei verschiedene Methoden der Analyse des Verhaltens der Chromosomen, die normale direkt zytologische Methode der mikroskopischen Beobachtung und die indirekte Methode mittels des Kreuzungsversuches. Diese indirekte Methode kann man charakterisieren, indem man sagt, dass das Verhalten der mikroskopisch sichtbaren Gebilde, der Chromosomen, mithilfe des Verhaltens mikroskopisch nicht sichtbarer Repräsentanten, der Gene, verfolgt wurde.

Im Folgenden soll versucht werden, die grundlegenden Ergebnisse der Erforschung des Chromosomenverhaltens beim crossing over zu schildern. Dabei werden wir im allgemeinen nur die Ergebnisse der indirekten Methode behandeln, da die direkte Methode ja in dem Vortrage von SAX ausführlich erörtert worden ist. Die Vorstellung, die allen Arbeiten zugrunde lag, ist die von JANSSENS und MORGAN begründete Theorie, nach der die homologen Partner eines Chromosomenpaares im Verlaufe der Keimzellengese homologe Abschnitte miteinander austauschen.

Die direkt zytologische Erforschung des Chromosomenverhaltens hat bis vor kurzem kein endgültiges Urteil über die Richtigkeit der Theorie beibringen können. Die Interpretationen von JANSSENS sind von führenden Zytologen nicht als zwingend anerkannt worden. Und um die geistreichen Deduktionen von BELLING und DARLINGTON, die im Sinne JANSSENS liegen, wird ja jetzt gerade gekämpft. Eines scheint jedoch festzustehen: Sowohl BELLING und DARLINGTON als auch SAX glauben auf Grund mikroskopischer Untersuchungen (1) dass die homologen Chromosomen während der Prophase der Reifeteilungen regelmässig Stücke austauschen; (2) dass dieser Austausch eine Paarung der homologen Chromosomen voraussetzt; (3) dass die Chiasmata gepaarter Chromosomen eine wesentliche Rolle bei dem Austauschvorgang spielen; (4) dass die Chromosomen während des Austauschs bereits in Tochterchromatiden gespalten sind, wobei nur zwei von den vier Chromatiden einer diploiden Gruppe in einem bestimmten Chiasma am Austausch beteiligt sind ("partielle Chiasmotypie").

Die Beweiskraft dieser Uebereinstimmung ist allerdings geringer, als es zuerst erscheinen mag, da die verschiedenen Forscher verschiedene und sich teilweise widersprechende Interpretationen zur Stütze ähnlicher Aussagen anführen. Doch kann man als vorsichtiger Beurteiler wohl feststellen, dass die mikroskopischen Befunde den angeführten Sätzen nicht entgegenstehen. Wir werden ferner sehen, dass, wenn auch das "Wie" des Chromosomenstück-Austauschs noch nicht völlig geklärt ist, doch die Tatsache des Aus-

tauschs jetzt seit einem Jahre feststeht und die Gültigkeit der oben unter (1) und (4) angeführten Sätze gesichert ist. Da diese Erkenntnisse durch eine Kombination der direkten mikroskopisch-zytologischen mit der indirekten genetischen Methode erlangt wurden, so sollen sie erst später behandelt werden.

Wir wenden uns daher jetzt der genetischen, indirekten Methode zum Studium des Chromosomenverhaltens zu. Sie beruht auf der Tatsache, dass aus zwei Gruppen homologer gekoppelter Gene $A B C D E$ und $a b c d e$ Koppelungsgruppen mit Neukombinationen hervorgehen können, etwa $A B c d e$ und $a b C D E$. MORGAN interpretierte diese Tatsache dahin, dass ein Austausch der $A B$ und $a b$ enthaltenden Abschnitte eines homologen Chromosomenpaares stattgefunden habe. Nimmt man diese Interpretation an, wie das bis vor kurzem allgemein geschah, so gibt uns die genauere Analyse der Genneukombinationen die indirekte genetische Methode zur Aufklärung des Chromosomenverhaltens beim Austausch.

Das erste Ergebnis dieser Analyse ist die Bestimmung des Zeitpunktes des Austauschs. Hier zeigte ALTENBURG (1916) an *Primula*, dass der Austausch sicherlich später erfolgt, als die Determinierung der Antheren oder Karpelle einer Blüte, da die verschiedenen Pollenkörner und Samenanlagen je eines Staub—oder Fruchtblattes noch sowohl die Nichtaustausch- als auch die Austauschkombinationen gekoppelter Gene aufweisen. PLOUGH (1917) fand dann bei *Drosophila*, dass eine Beeinflussung der Austauschhäufigkeit erst an denjenigen Eiern zu beobachten ist, die bei einer Behandlung von Weibchen mit besonderen Temperaturen etwa sechs bis sieben Tage nach Einsetzen der Behandlung abgelegt werden. Daraus ist zu schließen, dass der Austausch nicht früher als sechs bis sieben Tage vor der Ablage eines Eies erfolgt. PLOUGH fand, dass sich die Eier sechs bis sieben Tage vor ihrer Ablage im späten Oogonien—oder frühen Oocytenstadium befinden. Austausch erfolgt also nicht früher als auf diesem Stadium. Zu dem gleichen Ergebnis führten ganz andersartige Ueberlegungen und Versuche GOWENS (1929), ebenfalls an *Drosophila*. Wenn Austausch auf einem frühen Oogonienstadium oder gar einem Urkeimzellenstadium erfolgte, so sagte er sich, dann müssen wegen der späteren Teilungen dieser Keimzellen stets mehrere Eier gleicher und reziproker Austauschkombinationen entstehen. Da aber seine Versuche mit seltenen Austauschkombinationen zeigten, dass solche Kombinationen stets einzeln auftreten, so muss man schließen, dass der Austausch nach dem letzten oogonialen Teilungsschritt erfolgt. Dasselbe geht aus Angaben von STURTEVANT (1928) hervor.

Diese Bestimmungen des Zeitpunktes des crossing over konnten noch

weiter eingengt werden. Da in Fällen von non-disjunction bei heterozygoter Konstitution des P-Individuums Gameten entstehen können, die ein Nicht-Austauschchromosom und ein homologes Austauschchromosom enthalten, so folgerten BRIDGES und MULLER bereits 1916, dass bei *Drosophila* der Austausch auf dem Stadium der gespaltenen Chromosomen und nur zwischen zwei Spalthälften erfolgt. Denn wenn die ursprüngliche Konstitution etwa

$$\text{etwa } \frac{A B C D E}{a b c d e} \text{ war und die non-disjunction-Gamete etwa } \frac{a b c d e}{a b C D E}$$

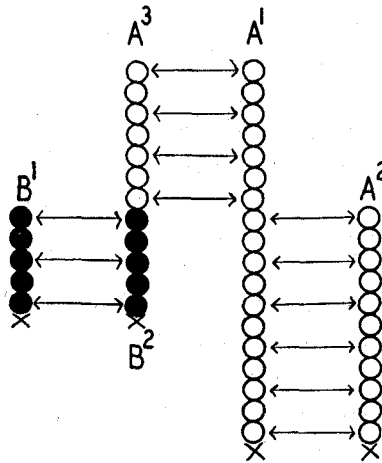
enthielt, so ist dies nach der crossing over Vorstellung nur möglich, wenn die ursprünglichen Chromosomen sich gespalten haben: $A B C D E$, $A B C D E$, $a b c d e$, $a b c d e$, und dann Austausch zwischen nur zwei Tochterchromatiden erfolgte: $A B C D E$, $a b C D E$, $A B c d e$, $a b c d e$, sodass dann bei non-disjunction: $a b C D E$ und $a b c d e$ gemeinsam in einen Gameten gelangten.

Dieser Schluss von BRIDGES und MULLER ist dann in ausgedehnten ähnlichen Versuchen von BRIDGES und ANDERSON (1925), ANDERSON (1925), L. V. MORGAN (1925), STURTEVANT (1931) für das X Chromosom, sowie von REDFIELD (1930, 1932) für die Autosomen II und III bei *Drosophila* gesichert worden. Ganz neuerdings konnte crossing over auf dem Doppelstrangstadium auch für *Zea mays* festgestellt werden (RHOADES 1932 [*Proc. Nat. Acad. Sci. Washington*]). Dagegen scheinen die Versuche von F. v. WETTSTEIN (1924) an dem Laubmoos *Funaria* für Austausch auf dem Stadium der ungespaltenen Stränge zu sprechen; doch ist die Natur der Koppelung bei diesem Organismus noch nicht geklärt.

Schliesslich haben verschiedene genetische Methoden uns etwas über den Zusammenhang zwischen crossing over und Verteilung der homologen Chromosomen bei der Reduktionsteilung gelehrt. GOWEN (1922, 1928) entdeckte eine Rasse bei *Drosophila*, bei der kein Austausch erfolgte und eine unregelmäßige Verteilung der Chromosomen bei den Reifeteilungen auftrat, und ANDERSON (1929) stellte ebenfalls bei *Drosophila* fest, dass non-disjunction der X Chromosomen mit Ausbleiben von crossing over korreliert war. (Vgl. auch DOBZHANSKY 1932.) Man könnte denken, dass diese Korrelationen auf eine gemeinsame Ursache zurückgeführt werden können, nämlich auf ein Ausbleiben der Konjugation der Chromosomen, deren Ergebnis sowohl ein Ausbleiben von crossing over als auch eine unregelmäßige, zu non-disjunction führende Verteilung der Chromosomen sein würde. Doch werden wir sehen, dass dies nicht notwendigerweise der Fall ist.

Dagegen hat DOBZHANSKY (1931) es durch eine interessante Analyse wahrscheinlich gemacht, dass die Verminderung des crossing over Prozent-

satzes bei Translokationen auf einer Erschwerung der Paarung der Chromosomen beruht. Wenn wir z.B. zwei Chromosomen A A und zwei Chromosomen B B verfolgen, wobei ein Teil des einen Chromosoms A an ein Chromosom B verlagert ist, so beobachtete man eine Herabsetzung der crossing over Häufigkeit und zwar nicht nur zwischen dem verlagerten Teil (A^3) und seinem Homolog, sondern auch zwischen dem nicht-verlagerten Teil (A^2) und seinem Homolog oder zwischen B^1 und B^2 . Dies ist verständlich, wenn man annimmt, dass die Paarung der Chromosomen eine Vorbedingung für Faktorenaustausch ist, da offenbar die Paarungsmöglichkeiten wegen teilweise widerstrebender Kräfte— A^1 z.B. wird sowohl von



A^3 als auch von A^2 "angezogen"—gehindert ist. Und eine Stütze für diese Erklärung ist es, dass die Austauschhäufigkeit zwischen B^1 und B^2 und A^3 und dem Homolog erhöht ist, wenn durch Einführung besonderer Verhältnisse eine Paarung zwischen A^2 und seinem Homolog verhindert wird. Denn dann sind weniger widerstrebende Kräfte im Spiel. So hat uns die indirekte genetische Methode eine Anzahl von Ergebnissen gebracht, über die auch die zytologische Methode zu ähnlichen, wenn auch weniger sicheren Schlüssen gekommen ist: Zeitpunkt des crossing over während der Gametogenese; Crossing over auf dem Doppelstrangstadium zwischen zwei Chromatiden (partielle Chiasmotypie); Zusammenhang zwischen crossing over und Chromosomenpaarung. Ueber diesen letzten Punkt hat uns weiterhin eine gleichzeitig mit der indirekt genetischen und der zytologischen Methode arbeitende Untersuchung von BEADLE (*Genetics*, 1932) Aufklärung gebracht. EMERSON und BEADLE haben auf genetischem Wege gefunden, dass

zwischen bestimmten Abschnitten von Chromosomen der verwandten Spezies *Euchlaena* und *Zea* in den Bastarden kein oder höchst selten crossing over erfolgt. BEADLE hat nun durch zytologische Beobachtung festgestellt, dass zwischen den betreffenden Chromosomenabschnitten zwar eine ursprüngliche Paarung stattfindet, die aber nach dem Diplotänstadium nicht mehr aufrecht erhalten wird. Die Ergebnisse von GOWEN und ANDERSON über crossing over und non-disjunction, die wir oben betrachteten, entsprechen wahrscheinlich diesen Befunden BEADLES.

Die genetische Methode der Untersuchung des Chromosomenverhaltens hat uns ferner gezeigt, dass ein Chromosom an verschiedenen Stellen Austauschbrüche zeigen kann und hat uns bei *Drosophila* die Häufigkeit der einfachen, doppelten und weiteren mehrfachen Brüche gelehrt. Dabei wurde gefunden, dass eine Interferenzwirkung besteht, wobei ein bestimmter Bruch im allgemeinen weitere Brüche in seiner Umgebung zu verhindern strebt. Daher ist die Häufigkeit mehrfacher Brüche geringer, als nach einem zufallsgemässen Zusammentreffen der einzelnen Brüche zu erwarten wäre.

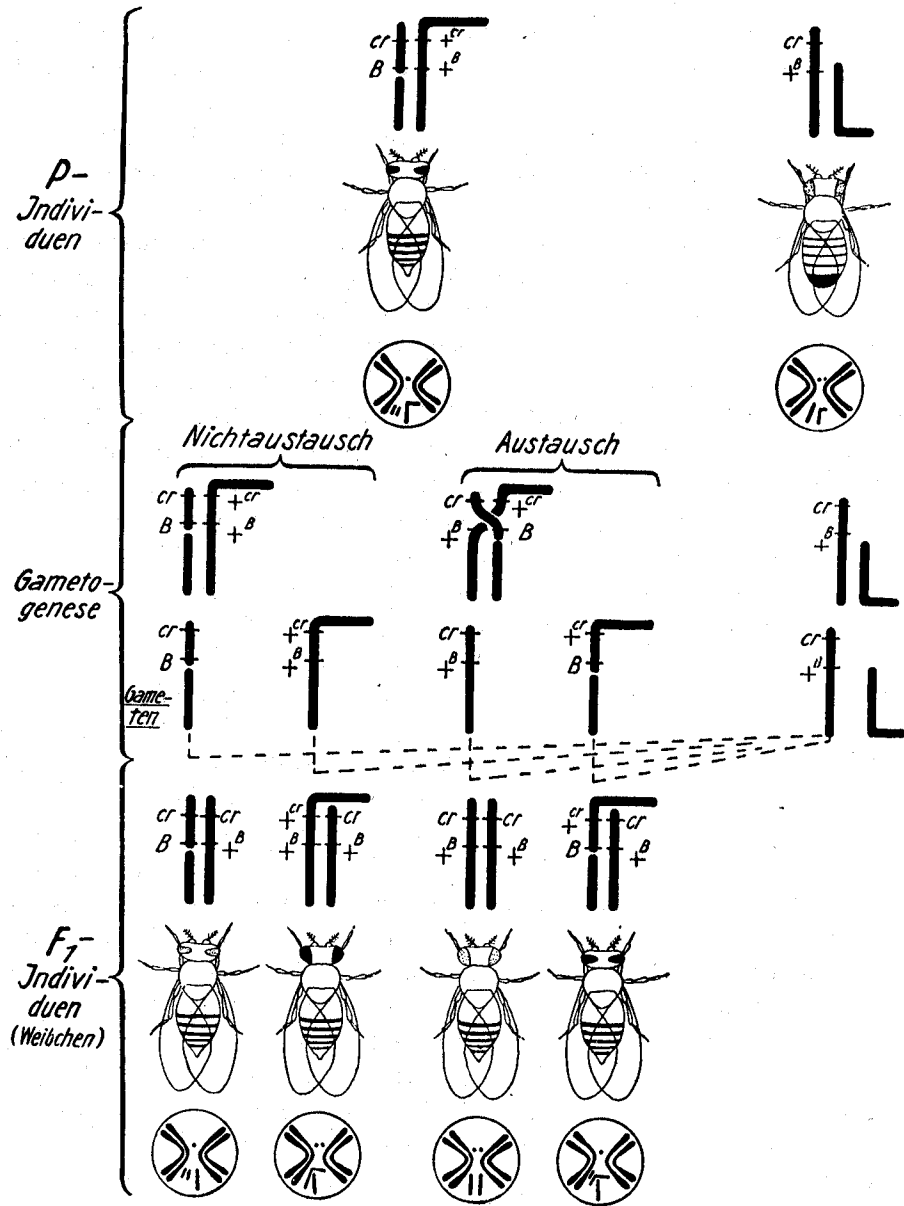
Man hat daher natürlich versucht, Beziehungen zwischen der Zahl und dem Auftreten der Chiasmata und der Zahl der genetisch bestimmten Chromosomenbruchstellen festzustellen. Doch kommt man, je nach den verschiedenen Theorien über die Bedeutung der Chiasmata, zu verschiedenen Schlüssen. BEADLES Daten scheinen mehr im Sinne von BELLING and DARLINGTON als für SAX zu sprechen. Schliesslich sei noch auf die Untersuchung HALDANES verwiesen, der an Hand von anderen Forschern beigebrachten zytologischen Materials zeigte, dass die Zahl der einfachen und mehrfachen Chiasmata eines Chromosomenpaares eine Interferenzwirkung der Chiasmata aufeinander erkennen lässt,—wie ja die crossing over Brüche eine Interferenzwirkung aufeinander ausüben.

So sehen wir eine weitgehende Uebereinstimmung zwischen den Ergebnissen der direkten zytologischen Methode und der indirekten genetischen Methode. Dennoch bliebe die Lage unbefriedigend, wie sie bisher geschildert wurde. Denn die gesamte genetische Analyse beruht auf der Annahme, dass crossing over zwischen Faktoren tatsächlich durch Austausch von Chromosomenteilen erfolgt. So wahrscheinlich auch diese Annahme war, so war sie doch letzten Endes noch nicht bewiesen. Und WINKLER (1930) hatte ausserdem gezeigt, dass sie nicht die einzig mögliche Annahme war. Auch die direkte zytologische Untersuchung der vermutlichen Austauschstadien hatte ja bisher nicht zu völlig eindeutigen Ergebnissen geführt, wie wir sahen. Wenn aber auch die vermutlichen Austauschstadien der Beobachtung nicht zugänglich waren, so ergaben sich doch vor kurzem Möglichkei-

ten, die Tatsache des Austauschs von Chromosomenstücken beim Faktorenaustausch mit Sicherheit aus dem zytologischen Ergebnis des Austauschs zu erschliessen.

Wenn zwei homologe Chromosomen Stücke miteinander ausgetauscht haben, so ist dies gewöhnlich später nicht zu sehen. Wenn aber die homologen Chromosomen an zwei verschiedenen Stellen Verschiedenheiten voneinander aufweisen, so muss sich das Ergebnis von stattgefundenem Austausch sichtbarlich zeigen. Solche Fälle doppelt-heteromorpher Chromosomen sind nun aufgefunden worden. Beim Mais haben CREIGHTON und McCLINTOCK (1931) ein Chromosomenpaar verfolgt, bei dem das eine Ende den Unterschied verdickt-unverdickt, das andere Ende den Unterschied verlängert-unverlängert zeigte. Unter den Nachkommen solcher Individuen gelang es ihnen, alle vier Typen von Chromosomen aufzufinden, nämlich die Nichtaustauschtypen "verdickt, verlängert" und "unverdickt, unverlängert," sowie die durch Austausch von Chromosomenstücken entstandenen neuen Typen "verdickt, unverlängert" und "unverdickt, verlängert." Die Zahlen, durch welche dieser Austausch bewiesen wurde, sind recht erheblich; die Individuenzahlen der vier Klassen waren: 47:52:37:28. (Mit Hilfe dieser doppelt heteromorphen Chromosomen haben die genannten Autoren auch das Vorkommen von Austausch auf dem Döppelstrang-Stadium zytologisch nachweisen können [vgl. Band 2 dieser *Verhandlungen*]). Ganz entsprechende Ergebnisse sind bei *Drosophila* erzielt worden. Hier dienten zwei heteromorphe X Chromosomen dem Nachweis von Chromosomenstückeaustausch: An dem einen Ende des X Chromosoms war entweder ein grosses sichtbares Fragment des Y Chromosoms angeheftet oder es fehlte, und an dem anderen Ende war entweder die Hälfte des X Chromosoms abgebrochen, oder sie war vorhanden. Und in ausgedehnten Versuchen wurden unter den Nachkommen eines Weibchens, welches beide X Chromosomen besass, alle vier Typen, nämlich zwei Nichtaustauschchromosomen X mit Y-Arm, nicht fragmentiert, und X ohne Y-Arm, fragmentiert sowie die zwei Austauschchromosomen: X mit Y-Arm, fragmentiert, und X ohne Y-Arm, nicht fragmentiert, gefunden. Damit war also für Mais und *Drosophila* der Beweis für das regelmässige Vorkommen von Austausch von Chromosomen stücken geliefert worden.

Und da dieser Beweis an den genetisch so gut bekannten Organismen geführt werden konnte, so liess sich der noch viel wichtigere Nachweis führen, dass crossing over von Genen bedingt wird durch den Austausch von Chromosomenstücken. Hier liegen vorläufige Angaben beim Mais vor und ausführliche Untersuchungen an *Drosophila*. Es handelte sich bei den



Drosophilaversuchen um den Nachweis, dass die zytologisch feststellbaren Chromosomenkonstitutionen bei den vier Typen von Nachkommen einer Kreuzung mit zwei Paaren gekoppelter Gene sämtlich verschieden

voneinander waren. Nach ihrem Phänotypus wurden die Nachkommen der Kreuzungen in vier Klassen eingeteilt (vgl. Abb. 2): die Nichtaustauschklassen "Bar carnation" (schmales Auge, nelkenrot) und "Nicht-Bar, nicht-carnation" (rund, dunkelrot), sowie die Austauschklassen "Nicht-Bar, carnation" und "Bar-nicht-carnation." Wenn die Morgan'sche Grundvorstellung über crossing over richtig war, dann mussten die Individuen der einen Nichtaustauschkategorie ein Nichtaustauschchromosom "X ohne Y-Arm, fragmentiert" besitzen, die Individuen der anderen Nichtaustauschkategorie das andere Nichtaustauschchromosom "X mit Y-Arm, nicht fragmentiert," sowie die Individuen der Austauschklassen ein entsprechendes Austauschchromosom "X ohne Y-Arm, nicht fragmentiert" oder "X mit Y-Arm, fragmentiert." Unter 374 zytologisch untersuchten Individuen waren 213 genetisch als Nichtaustauschindividuen klassifizierte, die sämtlich ein Nichtaustauschchromosom besaßen, 156 genetisch als Austauschindividuen klassifizierte, die sämtlich Austauschchromosomen besaßen, und nur 5 Individuen, die nicht der Erwartung entsprachen, was wohl sekundär bedingt war. Ähnliche Versuche an *Drosophila* von Fräulein PHILIP (noch unveröffentlicht) über genetischen und zytologischen Austausch in dem doppelt heteromorphen Zustand "ein X Chromosom nicht fragmentiert, mit Anheftung eines zweiten X Chromosoms an einem Ende—das andere X Chromosom ein Fragment, ohne Anheftung" haben ebenfalls gezeigt, dass Faktorenaustausch und Chromosomenstückeaustausch stets zusammen auftreten.

Damit ist die Grundlage der indirekten, genetischen Analyse des Chromosomenverhaltens, die Annahme von regelmässig erfolgreichem Chromosomenstückeaustausch gesichert worden, und damit die auf ihr aufgebauten Schlussfolgerungen, die wir oben besprachen. (Aus Mangel an Zeit kann hier nicht auf die mir ungenügend begründet erscheinende andersartige Interpretation WINKLERS an den zuletzt dargestellten Versuchen eingegangen werden.)

Es ist zu erwarten, dass die nächsten Jahre uns den Abschluss dieser fruchtbaren Periode zytologischer Forschung mittels der verschiedenen Methoden bringen werden. (Für die Literatur sei auf den Artikel "Faktorenkoppelung und Faktorenaustausch" im *Handbuch der Vererbungswissenschaft* verwiesen.)