

Einige Aspekte zur chemischen Mutagenese beim Menschen und bei *Drosophila*

Von Günther Obe, Karl Sperling und Hans Joachim Belitz^[*]

*Da durch Chemikalien ausgelöste Mutationen wie Spontanmutationen meist rezessiv vererbt werden, d. h. sich unter Umständen erst nach mehreren Generationen auswirken, ist es äußerst schwierig, die fast immer ungünstigen Mutationen auf ihre wahre Ursache zurückzuführen. Es ist aber möglich, die mutagene Wirkung von Chemikalien an Testsystemen zu studieren, z. B. an *Drosophila* in vivo oder an menschlichen Chromosomen in vitro. Besonders stark mutagen wirken alkylierende Substanzen, die unmittelbar die DNA schädigen. Der Fortschrittsbericht enthält u. a. eine umfangreiche Zusammenstellung von Substanzen, die an menschlichen Chromosomen zu Aberrationen führen.*

1. Einleitung

Mit dem Begriff Mutation bezeichnet der Genetiker Veränderungen des Erbgutes. Die Mutationen treten bei allen Organismen spontan auf und können, sofern sie in Keimzellen entstehen, auf die Nachkommen übertragen werden. Die Mutabilität ist eine inhärente Eigenschaft des genetischen Materials, und zwar sowohl der Gene selbst als auch der Chromosomen, in denen die Gene in bestimmter Weise linear angeordnet sind. Die Bedeutung der Erbänderungen läßt sich unter mehreren Aspekten betrachten:

Die Individualentwicklung eines Organismus ist ein „sich selbst Konstruieren“, wobei der detaillierte Konstruktionsplan als genetische Information in der DNA festgelegt ist. Die Ontogenese kann damit als Übersetzung des genetischen Codes in die Gestalt eines Lebewesens aufgefaßt werden.

Um die Bedeutung der Mutabilität für die Organismen verstehen zu können, sind aber auch die Beziehungen der Lebewesen zu ihrer Umwelt wichtig. Die Umwelt ist es, die das Leben erst ermöglicht; gleichzeitig setzt sie der Entfaltung des Lebendigen auch mehr oder weniger enge Grenzen. Die Erbanlagen bestimmen die Reaktionsnorm eines Organismus innerhalb seiner Umwelt, seine Fähigkeit also, sich seiner Umwelt bis zu einem bestimmten

Grad anzupassen. Die Anpassung der Organismen ist das Ergebnis ihrer geschichtlichen Entwicklung und beruht im wesentlichen auf der Wirkung der beiden Evolutionsfaktoren Mutabilität und Selektion. Die Angehörigen einer Art, die eine bestimmte Umwelt bevölkern und damit zu einer Fortpflanzungsgemeinschaft gehören, bezeichnet man als Population.

Die Individuen einer Population besitzen keineswegs den gleichen Erbanlagenbestand, obwohl sie alle in jeder Körperzelle die gleiche Anzahl von Chromosomen und die gleiche Anzahl von Genen haben. Dieser scheinbare Widerspruch erklärt sich folgendermaßen: Ein befruchtungsfähiges Ei enthält den artspezifischen Chromosomenbestand einmal, es ist haploid; das gleiche gilt für die männliche Keimzelle (Spermium). Nach der Befruchtung entsteht die diploide Zygote, die also je einen homologen väterlichen und mütterlichen Chromosomensatz enthält. Aus der Zygote kommt im Verlaufe normaler Zellteilungen (Mitosen) der diploide Organismus zustande. In den Keimdrüsen bilden sich durch Reduktionsteilung (Meiose) wieder die haploiden Keimzellen.

Beim Menschen und bei *Drosophila* enthalten weibliche Individuen die beiden homologen X-Chromosomen, männliche Individuen dagegen ein X-Chromosom sowie das morphologisch und genetisch von ihm verschiedene Y-Chromosom (Geschlechtschromosomen). Der übrige Chromosomenbestand (Autosomen) stimmt bei beiden Geschlechtern überein (Abb. 3).

[*] Dr. G. Obe, Dr. K. Sperling und Prof. Dr. H. J. Belitz
Institut für Genetik der Freien Universität
1 Berlin 33, Arnimallee 5–7

Jedes Autosom hat eine Garnitur von Erbanlagen (Genen), die der Garnitur seines homologen Partnerchromosoms entspricht. Allerdings müssen zwei homologe Gene nicht genau gleich sein. Verändert sich die Sequenz der Purin- und Pyrimidinbasen der DNA eines Gens, so kann dadurch die Funktion dieser Erbanlage verschieden stark modifiziert oder unmöglich gemacht werden. Solche Veränderungen registriert der Genetiker als Genmutationen.

Die unterschiedlichen Zustandsformen eines Gens werden Allele genannt. In diploiden Zellen ist jeder Genort durch zwei Allele vertreten. Sind beide Allele gleich (Homozygotie), werden sie sich im Erscheinungsbild (Phänotyp) voll manifestieren. Sind sie dagegen verschieden (Heterozygotie), ergeben sich mehrere Möglichkeiten der Merkmalsausprägung. In der Regel sind neu auftretende Genmutationen rezessiv, das heißt, sie wirken sich im heterozygoten Zustand phänotypisch nicht aus. Eine Ausnahme von dieser Regel sind rezessive Mutationen im X-Chromosom des männlichen Geschlechtes. Einem mutierten Allel im X-Chromosom steht kein Normalallel gegenüber, und Mutationen können sich deshalb bereits „in einfacher Dosis“ phänotypisch ausprägen. Dominante Mutationen entfalten ihre phänotypischen Effekte auch im heterozygoten Zustand.

Die meisten Erbänderungen senken im homozygoten Zustand die Vitalität ihrer Träger, sehr viele führen als Letalfaktoren sogar zum Tode, und nur die wenigsten stellen eine Verbesserung dar. Das wird verständlich, wenn man bedenkt, daß der Mutationsvorgang ungerichtet ist und jede zufällige Veränderung in einem System, das weitgehend optimal an seinen Lebensraum angepaßt ist, mit größerer Wahrscheinlichkeit zu einer Verschlechterung als zu einer Verbesserung führt. Infolge der Selektion werden die Träger vitalitätssenkender Allele ausgemerzt oder sie haben eine verringerte Fortpflanzungswahrscheinlichkeit. Die Frequenz schädlicher Allele ist deshalb in natürlichen Populationen meist niedrig.

Erweist sich eine neu aufgetretene Mutation als vorteilhaft, haben ihre Träger eine größere Fortpflanzungswahrscheinlichkeit als ihre normalen Artgenossen. Das neue Allel wird durch die Selektion begünstigt; seine Frequenz wird von Generation zu Generation zunehmen, und schließlich wird es das Allel, aus dem es einmal entstanden war, ganz verdrängen.

Außer den bisher erwähnten Gen- oder Punktmutationen spielen auch die Chromosomenmutationen eine wichtige Rolle, von denen hier drei Typen erwähnt werden sollen. Unter einer Deletion versteht man den Verlust eines Chromosomenabschnittes:

$ABCD \rightarrow ABD$

In der Regel wirkt der Verlust eines solchen Abschnittes (hier Abschnitt C) letal. Gleiches gilt für Chromosomenstückverlagerungen zwischen nicht homologen Chromosomen (Translokationen):

$ABCD + EFGH \rightarrow ABGH + EFCD$

Bei einer weiteren Chromosomenmutation ist ein Abschnitt eines Chromosoms gegenüber der Normalanordnung um 180° gedreht (Inversion):

$ABCD \rightarrow ACBD$

Inversionen werden in natürlichen Populationen häufiger gefunden als die oben erwähnten Aberrationen.

Störungen im Ablauf der Mitose oder Meiose können ungleichmäßige Verteilungen der Chromosomen auf die Tochterzellen bedingen. Dadurch entstehen Zellen mit abweichenden Chromosomenzahlen (Aneuploidien), was in der Regel eine empfindliche Störung der Genbalance bedingt. Eine beim Menschen spontan auftretende Aneuploidie ist die mit dem Down-Syndrom (Mongolismus) assoziierte Verdreifachung (Trisomie) des kleinen Chromosoms Nr. 21 (vgl. Abb. 7).

Ein weiterer, bei Pflanzen weit verbreiteter Mutationstyp besteht in der Vermehrung ganzer Chromosomensätze über den diploiden Zustand hinaus (Polyploidie). Die Polyploidien spielen im Tierreich keine große Rolle.

Die berühmten Arbeiten von Muller^[1], Auerbach^[2] und Oehlkers^[3] hatten gezeigt, daß sowohl Röntgenstrahlen als auch Chemikalien die Häufigkeit spontaner Punkt- und Chromosomenmutationen drastisch erhöhen. Aus diesen Entdeckungen entwickelten sich zwei umfangreiche Forschungsrichtungen, die Strahlengenetik und die Chemogenetik.

Hier soll über einige Ergebnisse berichtet werden, die an einem genetischen und an einem cytologischen Testsystem zur Frage der mutagenen Wirksamkeit chemischer Substanzen gewonnen werden konnten. Im Folgenden sollen zunächst die Testsysteme genauer beschrieben werden.

1.1. *Drosophila melanogaster*

Das klassische Objekt der Mutationsforschung ist die Taufliege *Drosophila melanogaster*, an der Muller^[1] 1927 die mutagene Wirkung der Röntgenstrahlen nachwies. Muller, der ein Meister im Aufbau von Spezialstämmen war, verwendete damals den berühmten CLB-Stamm zum Nachweis der geschlechtsgebundenen (d. h. im X-Chromosom gelegenen) rezessiven Letalmutationen. Später züchtete er einen weitaus besseren Stamm für den gleichen Zweck, der seit 1948 allgemein verwendet wird^[4].

Dieser Spezialstamm trägt die Bezeichnung Muller-5 (M-5) oder Basc nach den sein X-Chromosom kennzeichnenden Faktoren. Der Faktor B (bandförmige Augen) ist dominant, die beiden anderen Faktoren (aprikosenfarbene Augen und eine Borstenanomalie) sind rezessiv. Außerdem enthält das M-5-Chromosom zwei Inversionen.

Beim Mutagenitätstest werden normale Männchen (sie haben rote, runde Augen) der Wirkung von Röntgenstrahlen oder von Chemikalien ausgesetzt. Vor der Ganzkörperbestrahlung schließt man die Tiere in kleine Gelatine-kapseln ein. Die Chemikalien können auf unterschiedliche Weise appliziert werden. Häufig bringt man die Tiere auf Glasfiltertiegel, die mit Lösungen der zu prüfenden Substanz gesättigt sind; die Tiere nehmen dann das Mutagen per os auf^[5]. Die gelösten Stoffe können den Tieren auch in den Hinterleib injiziert werden.

Die behandelten Männchen werden einzeln mit einem oder mehreren Weibchen des M-5-Stammes gepaart. Die weiblichen Nachkommen der ersten Generation haben eines

ihrer X-Chromosomen von der Mutter bekommen (M-5-X), während das andere X vom Vater stammt, also verändert sein kann. Die Männchen dieser Generation erhalten ihr einziges X-Chromosom von der Mutter und sehen, da das vom Vater stammende Y-Chromosom praktisch keine Gene enthält, wie die Mütter aus. Die Weibchen haben bandförmige, aber rote Augen. Jedes Weibchen besitzt also ein X-Chromosom, das im Ausgangsmännchen behandelt worden war.

Das Schicksal der Autosomen kann in diesem Testsystem nicht weiter verfolgt werden. Jedes Weibchen der ersten Generation wird mit einem Bruder zur nächsten Generation angesetzt; der Versuch läßt sich etwa 12 Tage später auswerten. Jede Kultur repräsentiert jetzt ein im Ausgangsmännchen behandeltes X-Chromosom. Ist in einem solchen ein Letalfaktor induziert worden, dann findet man in der betreffenden Kultur kein normal aussehendes Männchen, sondern nur M-5-Tiere und heterozygote Weibchen (mit bandförmigen Augen). Während die Erkennung sichtbarer Erbänderungen weitgehend von der Erfahrung des Untersuchers abhängt, ist der Ausfall einer ganzen Mendel-Klasse nicht zu übersehen (vgl. Abb. 1).

Mit dem M-5-Stamm läßt sich sehr exakt bestimmen, wieviele der geschlechtsgebundenen rezessiven Letalfaktoren insgesamt auftreten.

Die behandelten Männchen kommen aus Laborstämmen, bei denen die Häufigkeit neuer Spontanmutationen be-

kannt ist. Sie liegt für die geschlechtsgebundenen Letalfaktoren etwa zwischen 0.07 und 1.0%. Das bedeutet, daß in 10000 Keimzellen 7 bis 100 Letalmutationen im X-Chromosom neu auftreten.

Die Wirkung von Röntgenstrahlen läßt sich größenordnungsmäßig angeben. Die Häufigkeit der rezessiven geschlechtsgebundenen Letalfaktoren nimmt bei *D. melanogaster* pro 1000 R um etwa 3% zu. Für chemische Mutagene, auf die später eingegangen werden soll, lassen sich keine generalisierenden Aussagen machen.

1.2. Menschliche Chromosomen

Die Chromosomen der höheren Organismen machen im Verlaufe der Zellteilung (Mitose) einen charakteristischen Formwechsel durch. Sie sind im Stadium maximaler Kontraktion (Metaphase) im Lichtmikroskop am besten analysierbar. Diese Bedingung ist in der Colchicin-Metaphase (C-Metaphase)^[6, 7] optimal erfüllt. Unter dem Einfluß von Colchicin bleibt die Verteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen aus, da die hierfür notwendigen Spindelfasern nicht gebildet werden. Die beiden identischen Spalt-hälften der Chromosomen, die Chromatiden (die Replikation der Chromosomen findet im teilungsinaktiven Stadium der Interphase statt), bleiben vielmehr an der Spindelfaseransatzstelle (Kinetochor) miteinander verbunden, wie es Abbildung 2 für menschliche Chromosomen ver-

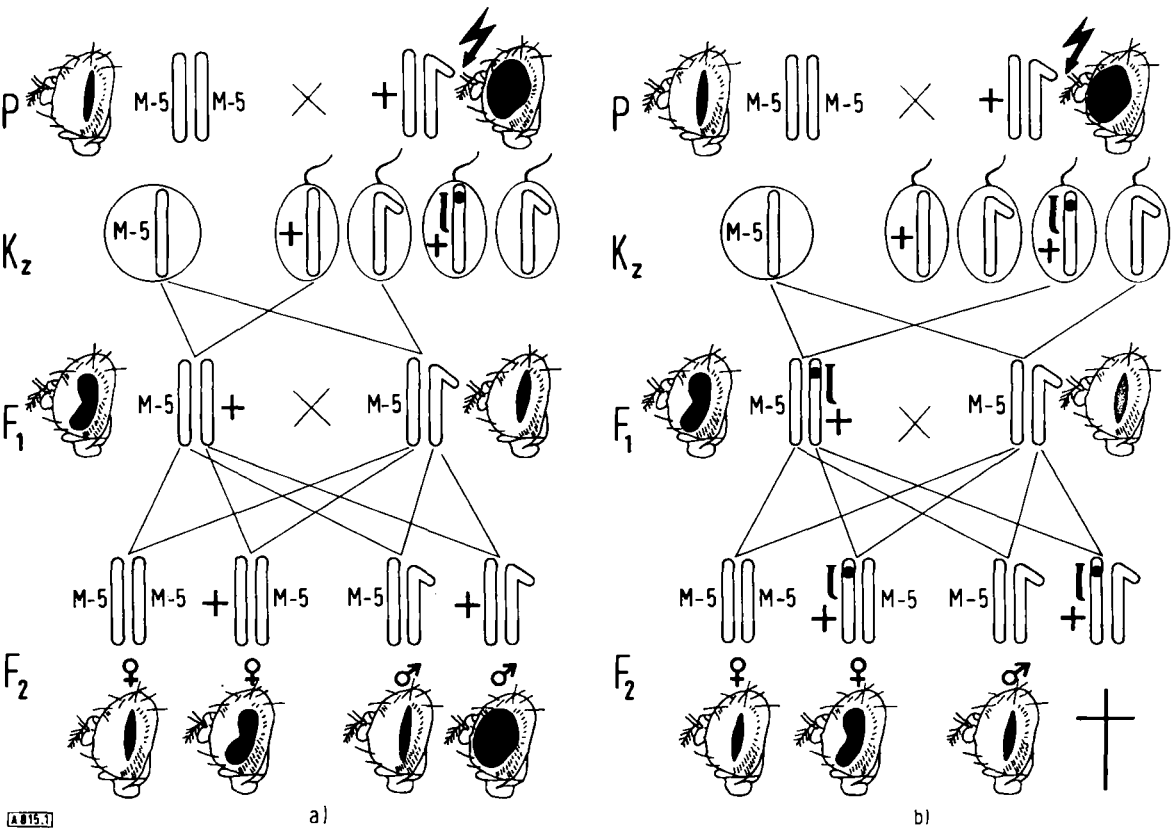


Abb. 1. Muller-5-Methode zum Nachweis rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster*. a) Kreuzungsverlauf unter Beteiligung des normalen X-Chromosoms; b) Kreuzungsverlauf unter Beteiligung des X-Chromosoms mit induziertem Letalfaktor. Die Linien kennzeichnen die Kombinationsmöglichkeiten bei der Befruchtung. P = Parentalgeneration; F₁, F₂ = 1. und 2. Filialgeneration; K₂ = Keimzellen der Parentalgeneration (stabförmige Elemente = X-Chromosomen; hakenförmige Elemente = Y-Chromosomen); M-5 = Muller-5-Chromosom; + = X-Chromosom vom Wildtyp; l = rezessiver Letalfaktor; ⚡ = Behandlung mit Röntgenstrahlen oder Chemikalien; † = Ausfall der normalen Männchen. (Nach Schautafeln des Institutes für Genetik der Freien Universität Berlin.)



So gelang es *Tjio* und *Levan*^[8] 1956 erstmals, die genaue Chromosomenzahl des Menschen mit $2n = 46$ zu ermitteln.

Nach der Kultivierung werden die Zellen in einem Gemisch aus Alkohol und Eisessig fixiert und in diesem Fixiergemisch auf gekühlte Objektträger aufgetropft. Nach Ausbreiten der Zellsuspension auf dem Objektträger und Austrocknen des Fixiergemisches färbt man die Chromosomen mit Orcein, und die Metaphasen können jetzt unter dem Lichtmikroskop untersucht werden.

Der normale Chromosomensatz des Menschen besteht aus 44 Autosomen (22 Paare) und zwei X-Chromosomen bei der Frau bzw. einem X- und einem Y-Chromosom beim Mann. Die Chromosomen werden schematisch nach abnehmender Länge geordnet und von 1–22 nummeriert. Die Geschlechtschromosomen werden als solche benannt. Dieses Ordnungsprinzip zeigt Abbildung 3 für eine weibliche und eine männliche Metaphase.

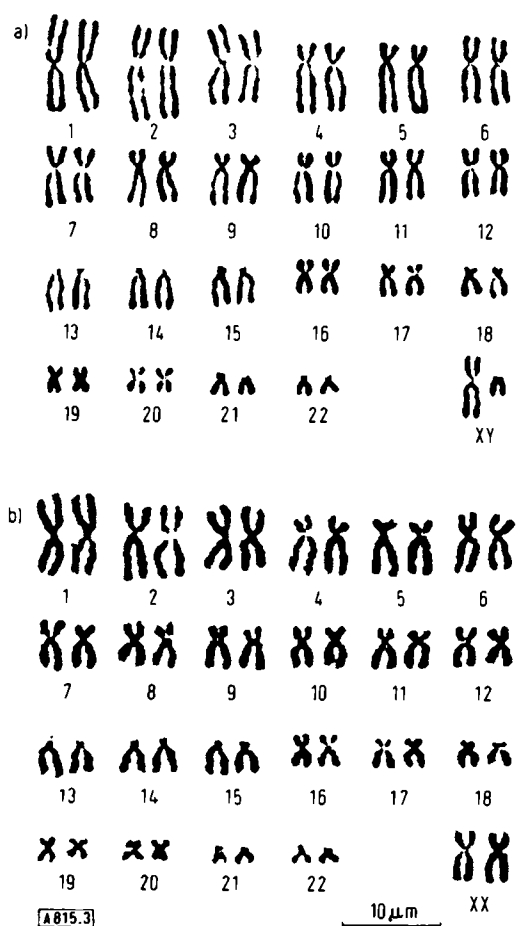


Abb. 3. Geordnete menschliche Metaphasen: a) männlich, b) weiblich. (Original von *Th. Lüers*.)

Die auf Mutagenität zu testenden Substanzen werden den Zellkulturen in den gewünschten Konzentrationen einige Stunden vor der Aufarbeitung zugesetzt. Die Metaphase-Chromosomen können anschließend auf eventuell induzierte Schäden hin untersucht werden.

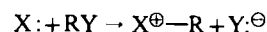
Eine Übersicht über die im Testsystem menschlicher Chromosomen in vitro als mutagen erkannten Substanzen gibt die Tabelle.

Ganz besonders wichtig ist die Tatsache, daß nicht nur nach Einwirkung von Mutagenen in vitro Chromosomenmutationen nachgewiesen werden können, sondern auch nach Kontamination in vivo, etwa nach chemotherapeutischer Behandlung mit Cytostatica, Einnahme von Psychopharmaca (z.B. LSD) oder nach Einatmung von verunreinigter Luft (Benzoldampf). Derartige Fälle sind in der Tabelle unter der Rubrik „in vivo“ vermerkt.

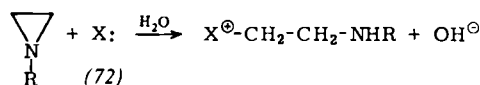
2. Alkylierende Agentien^[9–12]

Aus der Vielzahl der mutagenen Substanzen sollen hier die alkylierenden Verbindungen genauer besprochen werden. Sie zählen zu den stärksten bekannten Mutagenen überhaupt. In der Therapie werden sie besonders als Cytostatica verwendet, spielen aber auch als Schädlingsbekämpfungsmittel eine große Rolle. In der Textilindustrie werden sie zur Herstellung von Farbstoffen sowie zur Fertigung feuer- und knitterfester Waren benötigt. Besonders bedenklich ist, daß sie auch in den Autoabgasen vorkommen.

Die strukturell sehr verschiedenen Verbindungen haben eine Fähigkeit gemeinsam: Sie übertragen einen Alkylrest auf andere Atome oder Moleküle. Dieser Alkylrest ist bei den biologisch wirksamen Alkylantien über ein Sauerstoff-, Stickstoff- oder Schwefelatom mit dem Grundkörper verbunden. Bei der Alkylierung handelt es sich gewöhnlich um eine S_N2 -Reaktion,

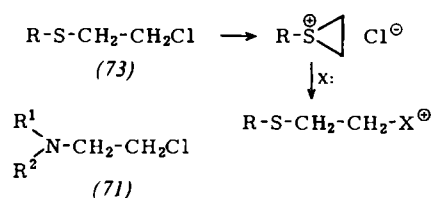


wobei X das nucleophile Agens und R der Alkylrest ist. Nach diesem Schema verläuft etwa die Alkylierung durch Methansulfonsäureester $ROSO_2CH_3$. Bei funktionellen Gruppen mit cyclischer Struktur wie den Aziridinen (72), Epoxiden und β -Lactonen ist die Alkylierung mit einer Ringöffnung verbunden.



Im Hinblick auf die cytostatische Wirkung der Aziridine ist die Tatsache von Bedeutung, daß die hydrolytische Aufspaltung des Ringes bei dem für die Krebszelle typischen pH-Wert (6.5) viermal so schnell verläuft wie beim pH-Wert der gesunden Zelle (7.2)^[13].

Eine weitere hochwirksame Gruppe bilden die Schwefel- (73) und Stickstofflose (71), die erst nach Ringbildung alkylierend wirken. Die Reaktionskinetik wird hierbei

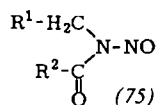
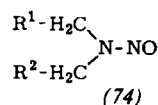


durch die relativen Geschwindigkeiten der beiden Reaktionsschritte bestimmt.

Zu den *N*-Nitrosoverbindungen gehören die Dialkyl-nitrosamine (74) und die Acyl-alkylnitrosamide (75). Eine Besonderheit dieser Substanzen ist, daß sie als solche inaktiv sind. Diese ihre „Transportform“ geht in der Zelle über enzymatische und spontan verlaufende Umbauten in die alkylierende Wirkform über.

Nicht nur bei den *N*-Nitrosoverbindungen unterscheiden sich Transportform und Wirkform. Besonders bekannt hierfür ist das als Endoxan oder Cytosan in der Krebstherapie verwendete Stickstofflost-Derivat (16) (siehe

Tab. 1), dessen alkylierende Aktivität sich erst nach hydrolytischer Spaltung in der Leber entfaltet.



Die nucleophilen Gruppen in der Zelle sind primäre bis tertiäre N-Atome sowie OH-, SH- und Sulfidgruppen. Damit sind eine Vielzahl von Reaktionen zwischen Alky-

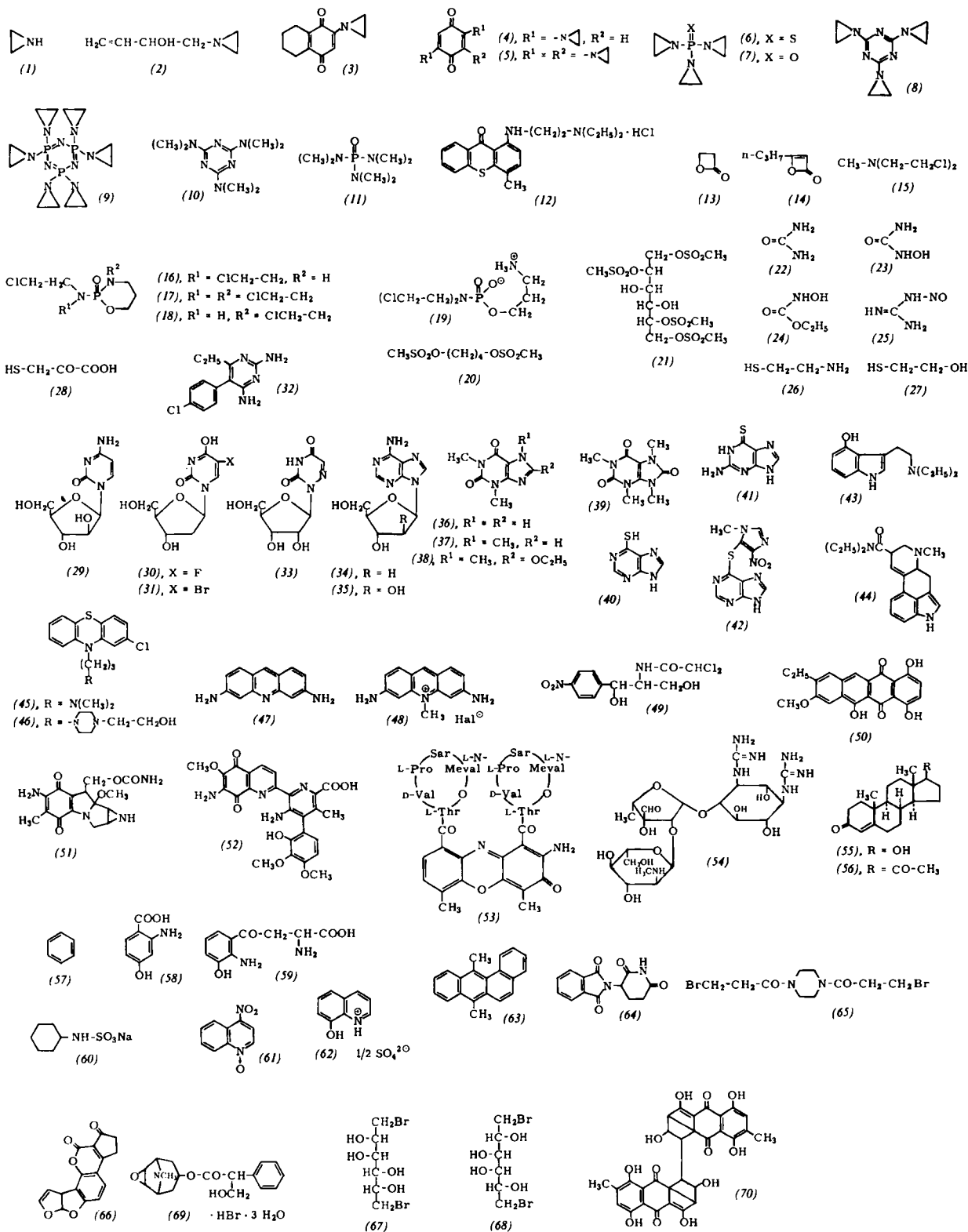


Tabelle. Substanzen, die an menschlichen Chromosomen Aberrationen induzieren. in vitro = nach Einwirkung der Substanz auf Zellkulturen; in vivo = nach Einnahme oder Einatmung. (Siehe dazu die Zusammenstellung der Formeln auf Seite 306.)

Nr. oder Formel	Name	mutagen		Literatur	Nr. oder Formel	Name	mutagen		Literatur
		in vitro	in vivo				in vitro	in vivo	
(1)	Aziridin, Äthylenimin	+		[40]	(34)	2'-Desoxyadenosin	+		[55d]
(2)	1-Aziridino-3-buten-2-ol	+		[40b]	(35)	Adeninarabinosid	+		[60]
(3)	2-Aziridino-5,6,7,8-tetrahydro-1,4-naphthochinon; A 137	+		[41]	(36)	1,3-Dimethylxanthin, Theophyllin	+		[61]
(4)	2,5-Bis(aziridino)-1,4-benzochinon; Chinon I	+		[39]	(37)	1,3,7-Trimethylxanthin, Coffein	+		[61, 62]
(5)	2,3,5-Tris(aziridino)-1,4-benzochinon; Trenimon	+		[29, 42]	(38)	8-Äthoxy-1,3,7-trimethylxanthin	+		[63]
(6)	Tris(aziridino)thiophosphoran; Thio-TEPA, Tespa	+		[42]	(39)	1,3,7,9-Tetramethylharnsäure	+		[63a]
(7)	Tris(aziridino)oxophosphoran; TEPA	+		[40b]	(40)	6-Mercaptopurin	+	+	[45, 64]
(8)	2,4,6-Tris(aziridino)-1,3,5-triazin; Triäthylenmelamin, TEM	+		[42, 43]	(41)	6-Thioguanin	+		[57a]
(9)	2,4,6-Tris(aziridino)-1,3,5,2,4,6-triazatriphosphorin; Apholat	+		[40b]	(42)	6-(1-Methyl-4-nitro-5-imidazolylthio)purin; Azathioprin, Imuran	+	+	[65]
(10)	Hexamethylmelamin; Hemel	+		[40b]	(43)	3-(2-Diäthylaminoäthyl)-4-hydroxyindol; CZ - 74		+	[66]
(11)	Hexamethylphosphorsäuretriamid	+		[40b]	(44)	Lysergsäurediäthylamid, LSD	+	+	[67]
(12)	1-(2-Diäthylaminoäthylamino)-4-methylthioxanthon-hydrochlorid; Miracil D	+		[18]	(45)	2-Chlor-10-(3-dimethylaminopropyl)phenothiazin; Chlorpromazin		+	[67f]
(13)	β -Propiolacton	+		[44]	(46)	2-Chlor-10-[3-(4-(2-hydroxyäthyl)piperazinyl)propyl]phenothiazin; Perfenazin		+	[67f]
(14)	2-Hexensäure- β -lacton	+		[44]	(47)	3,6-Diaminoacridin; Proflavin	+		[68]
(15)	Bis(2-chloräthyl)methylamin; Stickstofflost	+	+	[45]	(48)	3,6-Diamino-10-methylacridiniumhalogenid; Acriflavin, Trypaflavin, Euflavin	+		[69]
(16)	2-[Bis(2-chloräthyl)amino]perhydro-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxid; Cyclophosphamid, Endoxan, Cytosan	+		[46]	(49)	Chloramphenicol	+		[70]
(17)	2-[Bis(2-chloräthyl)amino]-3-(2-chloräthyl)perhydro-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxid; Asta Z 4828	+		[47]	(50)	Daunomycin	+	+	[25, 71]
(18)	2-(2-Chloräthylamino)-3-(2-chloräthyl)perhydro-1,3,2-oxazaphosphorin-2-oxid; Asta Z 4942	+		[47]	(51)	Mitomycin C	+		[72]
(19)	N-Bis(2-chloräthyl)amido-phosphorsäure(3-amino-propyl)ester	+		[42]	(52)	Streptonigrin	+		[73]
(20)	Tetramethylenbis(methansulfonat)	+		[48]	(53)	Actinomycin D	+		[68]
(21)	1,2,5,6-Tetrakis(methansulfonyl)-D-mannit	+		[49]	(54)	Streptomycin	+		[19]
(22)	Harnstoff	+		[50]	A 649	Antibioticum unbekannter Konstitution	+	+	[45]
(23)	Hydroxylharnstoff	+		[50]	(55)	Testosteron	+		[74]
(24)	N-Hydroxyurethan	+		[50]	(56)	Progesteron	+		[74]
(25)	N-Nitrosoguanidin	+		[51]	O ₃	Ozon	+		[75]
(26)	2-Aminoäthanthiol	+		[52]	K ₃ AsO ₃	Kaliumarsenit	+		[50]
(27)	2-Mercaptoäthanol	+		[52, 53]	NH ₂ OH	Hydroxylamin	+		[57a, 57c]
(28)	3-Mercaptobrenztraubensäure	+		[54]	(57)	Benzol		+	[76]
(29)	Cytosinarabinosid	+	+	[55]	(58)	4-Hydroxyanthranilsäure	+		[77]
(30)	5-Fluor-2'-desoxyuridin	+		[42, 56]	(59)	3-Hydroxykynurenin	+		[77]
(31)	5-Brom-2'-desoxyuridin	+		[57]	(60)	Natrium-cyclohexylamidosulfat; Natrium-Cyclamat	+		[78]
(32)	2,4-Diamino-6-äthyl-5-p-chlorphenyl-pyrimidin; Pyrimethamin		+	[58]	(61)	4-Nitrochinolin-N-oxid	+		[79]
(33)	6-Azauridin		+	[59]	(62)	Chinosol	+		[80]
					(63)	7,12-Dimethylbenz[a]-anthracen	+		[81]
					(64)	2-Phthalimidoglutaramid; Thalidomid, Contergan	+		[82]
					(65)	1,4-Bis(3-brompropionyl)-piperazin	+	+	[83]
					(66)	Aflatoxin B ₁	+		[44]
					(67)	1,6-Dibrommannit	+		[84]
					(68)	1,6-Dibromdulcit	+		[84]
					(69)	Scolpolaminhydrobromid	+		[46a]
					(70)	Luteoskyrin	+		[85]

lantien und biologischem Material denkbar, wobei der Alkylierung der DNA aber eine zentrale Bedeutung zukommt. Permanente Änderungen an der DNA werden schon durch geringste Mengen von Alkylantien hervorgerufen. An isolierter DNA konnte nachgewiesen werden, daß besonders die Basen alkyliert werden. Bevorzugt angegriffen werden Stickstoffatome vom Pyridin-Typ. Das wird verständlich, wenn man bedenkt, daß das freie Elektronenpaar dieses N-Atoms nicht in das konjugierte Elektronensystem des Heterocyclus einbezogen ist. Die Einführung eines Alkylrestes an dieser Stelle bewirkt demnach keine Zerstörung des konjugierten Systems, sondern nur einen geringen Verlust an Resonanzenergie. Schwer verständlich ist dagegen, warum das N-7-Atom des Guanins am häufigsten alkyliert wird, während das N-1-Atom dieser Base und N-3 sowie N-7 des Adenins seltener betroffen sind. Vermutlich beruhen diese Unterschiede im wesentlichen auf sterischen Effekten an der DNA-Doppelhelix. In vivo werden die Verhältnisse noch viel komplizierter. Nach Behandlung mit tritiiertem β -Propiolacton konnte aber auch hier eine N-7-Alkylierung des Guanins nachgewiesen werden.

Neben den Basen sind die Phosphatgruppen primäre Angriffspunkte für bestimmte Alkylantien wie etwa das Stickstofflost (15). Ein Teil der dabei entstehenden Phosphatester setzt beim hydrolytischen Zerfall ein Alkylradikal frei, das anschließend mit einer Base reagieren kann. Dieser Vorgang und die direkte Basenalkylierung führen also zum gleichen Ergebnis. Infolge der Bildung eines Alkylguanins etwa kann es nach hydrolytischer Spaltung der Bindung zwischen Base und Desoxyribose zur Eliminierung des Guanins und danach zu einem Bruch in der Polynucleotidkette kommen.

Alkylierende Verbindungen mit mehreren funktionellen Gruppen sind in ihrer biologischen Wirksamkeit den monofunktionellen Alkylantien um ein Vielfaches überlegen. Diese Tatsache kann auf die Bildung von Vernetzungen zurückgeführt werden. Derartige „Cross-Links“ können die Schwesterstränge der DNA-Doppelhelix oder aber zwei Moleküle innerhalb eines Stranges der Doppelhelix miteinander verknüpfen. Brücken zwischen verschiedenen Doppelhelices konnten im Elektronenmikroskop sichtbar gemacht werden. Auch an Vernetzungen zwischen chromosomalen Proteinen und der DNA muß gedacht werden. Die starke toxische Wirkung der polyfunktionellen Alkylantien beruht wahrscheinlich auf derartigen Vernetzungen, die eine geregelte Replikation der DNA erschweren oder verhindern.

Die durch die Alkylierungen an der DNA verursachten Schäden werden in vivo zum größten Teil enzymatisch repariert („Repair“). Hierbei auftretende Fehler ändern die native Basensequenz und sind damit sicherlich eine Quelle von Punktmutationen. Wie es zu lichtmikroskopisch sichtbaren Veränderungen an den Chromosomen kommt, ist noch weitgehend unbekannt. Eine Klärung dieser Frage wird erst dann möglich sein, wenn der Bau der Chromosomen höherer Organismen aufgeklärt ist.

Wohl am besten sind die Ergebnisse deutbar, wenn man annimmt, daß ein einzelnes Chromosom im Kern der sich nicht teilenden Zelle (Interphasekern) aus nur einer durch-

laufenden DNA-Doppelhelix besteht, die – mit Proteinen assoziiert – in der Synthesephase des Zellzyklus als Matrize für die Bildung der Schwesterchromosomen dient. Diese erscheinen in der C-Metaphase als zwei im Kinetochor noch zusammenhängende Chromatiden (vgl. Abb. 2). Die Kontraktion der Chromosomen könnte als fortschreitende Auffaltung der DNA-Protein-Fibrille einer jeden Chromatide verstanden werden (Falt-Fibrillen-Modell der Chromosomenstruktur)^(14, 15). Werden die infolge der Alkylierung in einem DNA-Strang des Interphasechromosoms entstandenen Brüche nicht repariert, so führt das zu einer Unterbrechung in der Fibrille einer nach der Replikation entstandenen Chromatide. Diese Vorstellung ist auch mit der Tatsache im Einklang, daß in der ersten Metaphase nach Einwirkung eines Alkylans (in der vorhergehenden Interphase) nur Schäden an den Chromatiden gefunden werden. Diese Chromatid-Aberrationen können nach einer weiteren Mitose in Chromosomen-Aberrationen übergehen, lassen sich aber meist ihrer Letalwirkung wegen nicht beobachten. Um ein genaues Bild vom Schädigungsmuster an den Chromosomen zu erhalten, ist es also wichtig, die erste Mitose nach Einwirkung des Alkylans zu erfassen.

Im folgenden seien einige Ergebnisse, die an den beiden Testsystemen gewonnen wurden, vergleichend besprochen.

2.1. Achromatische Läsionen (AL)

Die achromatischen Läsionen kommen an menschlichen Chromosomen sehr häufig vor. Hierbei handelt es sich um Färbelücken in der Längsstruktur der Chromatiden, nicht jedoch um Unterbrechungen der Chromatidstruktur. Distal von der achromatischen Läsion, das heißt zum Chromosomenende hin gelegene Chromatidbereiche werden in der Anaphase nicht von dem proximalen (kinetochor-nahen) Abschnitt getrennt. Die Läsionen werden vermutlich in der auf ihre Induktion folgenden Synthesephase wieder repariert⁽¹⁶⁾.

Besonders wichtig ist die Frage, ob die achromatischen Läsionen als Mutationsäquivalente zu gelten haben. Vergleichende Betrachtungen zur mutagenen Wirksamkeit des Thioxanthonderivates Miracil D (12) (siehe Tab. 1) an *Drosophila*⁽¹⁷⁾ und an menschlichen Chromosomen⁽¹⁸⁾ weisen darauf hin, daß diese Frage verneint werden kann. Bei *Drosophila* erwies sich Miracil D als fast wirkungslos, lediglich die Häufigkeit an chromosomalen Umbauten war hier gegenüber der Kontrolle erhöht. An der Färbung der Hodenspiralen von *Drosophila* konnte festgestellt werden, daß die Substanz sich dort sogar angereichert hatte und nicht etwa nach Verfütterung metabolisiert und ausgeschieden worden war und aus diesem Grunde wirkungslos blieb.

Bei menschlichen Chromosomen fanden sich neben einigen Translokationen nach 24-stündiger Einwirkung von $1 \cdot 10^{-5}$ mol/ml immerhin über 40% achromatische Läsionen. Wären sie Mutationsäquivalente, dann hätte die Häufigkeit geschlechtsgebundener Letalmutationen bei *Drosophila* erhöht sein müssen, zumal größenordnungsmäßig gleiche Testkonzentrationen verwendet wurden.

Einen weiteren Hinweis zu dieser Frage ergaben Untersuchungen zur Wirkung der an höheren Organismen nicht mutagenen Antibiotica Streptomycin (54) (siehe Tab. 1) und Dihydrostreptomycin auf menschliche Chromosomen *in vitro*^[19]. Während Streptomycin fast 40% achromatische Läsionen induzierte, war Dihydrostreptomycin vollkommen wirkungslos. Die Häufigkeit aller anderen Aberrationstypen wurde – abgesehen von ganz vereinzelt sowohl nach Streptomycin- als auch nach Dihydrostreptomycingaben aufgetretenen Translokationen – durch beide Streptomycine nicht erhöht. Sie unterscheiden sich unter anderem darin, daß Streptomycin auf Polyanionen zehnmal stärker vernetzend wirkt als Dihydrostreptomycin^[20]. Die achromatischen Läsionen könnten durch derartige unspezifische Vernetzungen chromosomaler Polyanionen zustande gekommen sein.

2.2. Chromatidbrüche (B')

Die Chromatidbrüche sind echte Unterbrechungen der Chromatiden. In der auf die Induktion folgenden Anaphase bleibt das Bruchstück zurück und kann höchstens passiv in eine der entstehenden Tochterzellen gelangen. Dieser Schädigungstyp führt also zu terminalen Stückverlusten (Deletionen).

Terminale Stückverluste kommen beim Menschen in seltenen Fällen spontan vor (etwa bei 1/100 000 Geburten) und bedingen sehr schwere Mißbildungen. Ein Stückverlust im kurzen Arm eines Chromosoms Nr. 5 führt zur Ausbildung des Katzenschrei-Syndroms (Cri-du-chat-Syndrom)^[21], das nach dem katzenartigen Schreien der mit vielen Mißbildungen behafteten Kinder benannt wurde.

2.3. Isochromatidbrüche (B'')

Ein weiterer, im cytogenetischen Test erfaßbarer Aberrationstyp sind die Isochromatidbrüche. Es handelt sich hierbei um zwei Brüche, die an morphologisch homologen

Stellen zweier Schwesterchromatiden auftreten. Sie führen zur Entstehung zweier kinetochorloser Chromatidstücke und eines Restchromosoms. Ein Isochromatidbruch führt zu Stückverlusten in beiden Tochterzellen.

Abbildung 4a zeigt eine Metaphase mit achromatischen Läsionen sowie Chromatid- und Isochromatidbrüchen neben Chromatidtranslokationen. In Abbildung 4b sind die geschädigten Chromosomen einzeln zusammengestellt.

2.4. Chromatidtranslokationen (RB')

Am leichtesten erkennbar und am eindeutigsten als Mutationsäquivalente verwertbar sind die Chromatidtranslokationen. Sie sind das Ergebnis von Reparaturvorgängen, bei denen aber nicht zusammengehörige Bruchstücke verschiedener Chromatiden miteinander verheilen. Diese Translokationen zeigen meist eine typische Kreuzform.

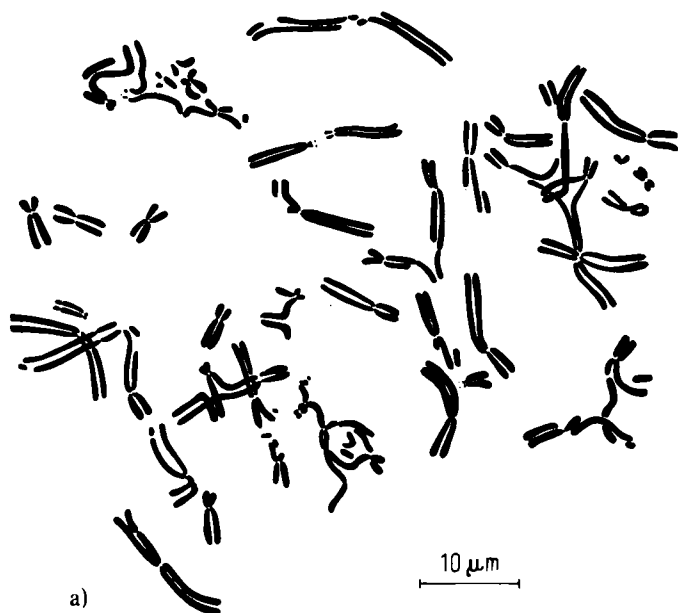
In Abhängigkeit von der Art der Verheilung können RB'-Figuren entstehen, in denen die Kinetochoren nicht miteinander verknüpft sind (symmetrische RB'), und solche, in denen die Kinetochoren durch eine Chromatidbrücke verbunden sind (asymmetrische RB'), die in der folgenden Anaphase zwischen den zu den Polen wandernden Kinetochoren ausgespannt wird.

Die Translokationen können als sichtbarer Ausdruck für die Reparaturvorgänge in der Zelle gewertet werden. Gelegentlich auftretende, sehr stark zerstörte Metaphasen ohne Translokationen weisen auf einen Zusammenbruch des Reparatursystems in diesen Zellen hin. Die Abbildungen 5a–5c zeigen Übergänge von stark zerstörten Metaphasen mit Translokationen zu solchen, die vollständig „pulverisiert“ erscheinen.

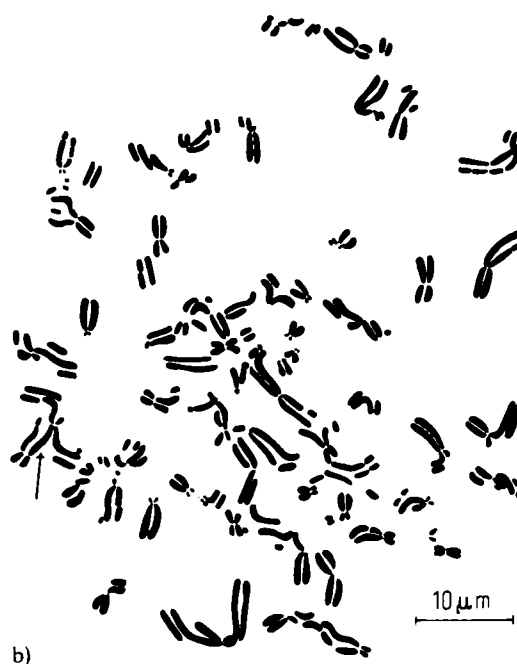
Die interzelluläre Verteilung der Translokationen und Brüche ermöglicht es ebenfalls, Rückschlüsse auf Reparaturvorgänge in der Zelle zu ziehen^[22]. Geht man von einer zufallsgemäßen Verteilung der primär entstandenen Schäden auf die untersuchten Zellen aus, dann müßten die Chromatidbrüche und Translokationen pro Zelle nach



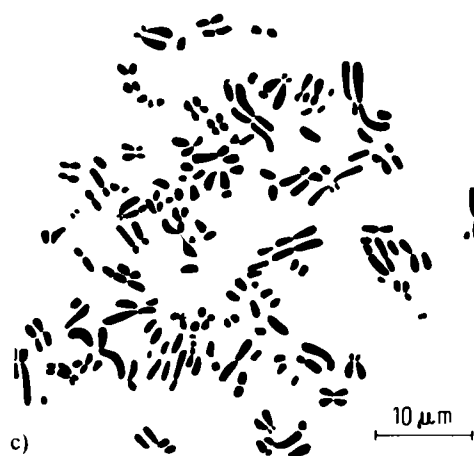
Abb. 4. a) Metaphase mit Chromosomenschädigung durch 32-stündige Einwirkung von 0.02 µg/ml Chinon I (4). b) Zusammenstellung der geschädigten Chromosomen. 1 = achromatische Läsion; 2 = Chromatidbrüche; 3 = Isochromatidbrüche; 4 = Chromatidtranslokationen (aus [39]).



a)



b)



c)

Abb. 5. Unterschiedlich stark geschädigte Metaphasen durch 24-stündige Einwirkung von 5.0×10^{-7} mol/ml Trenimon (5). a) Viele Chromatidtranslokationen; b) neben sehr vielen Brüchen ist nur noch eine Chromatidtranslokation vorhanden (Pfeil); c) völlig zerstückelte Metaphase (Pulverisierung) ohne Chromatidtranslokationen (aus [29]).

Poisson verteilt sein. Nach Behandlung mit Chinon I (4) (siehe Tab. 1) fanden sich aber immer zu viele Zellen in der 0-Klasse, d. h. Zellen ohne Chromosomen-Aberrationen waren nach der Erwartung bei Zufallsverteilung zu häufig. Es könnte sich hierbei um Zellen handeln, in denen alle Schäden repariert wurden.

Eine weitere Frage ist die nach dem Zeitraum, innerhalb dessen solche zu Translokationen führenden Bruchverteilungen möglich sind. Experimente mit Röntgenbestrahlung haben für menschliche Lymphocyten eine Zeitspanne von 60–90 Minuten ergeben^[23].

Die Translokationsausbeute kann durch Inhibitoren sowohl der DNA- als auch der Proteinsynthese verringert werden^[24–27]. Das weist auf eine Beteiligung dieser Synthesen an der Bildung von Translokationen hin.

Neben Translokationen, an denen zwei Chromatiden teilhaben, treten im Mutationsexperiment auch solche auf, an denen mehr als zwei Elemente beteiligt sind. Abbildung 6 gibt einige Beispiele für Translokationen zwischen drei Chromosomen.

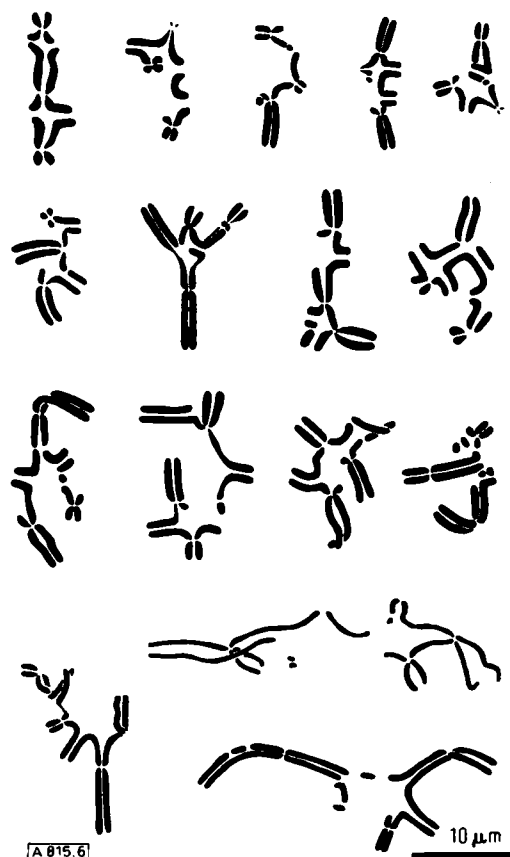


Abb. 6. Chromatidtranslokationen (RB') aus drei Chromosomen durch 24- und 32-stündige Einwirkung von Chinon I (4) (aus [39]).

Spontane Translokationen sind beim Menschen ebenso selten wie Deletionen. Eine Translokation zwischen einem Chromosom Nr. 13 und einem Nr. 21 führt zur Entstehung eines neuen Chromosoms, dessen kurze Arme einem Nr. 21 und dessen lange Arme einem Nr. 13 entsprechen. Die bei

der Entstehung der Translokation verlorengegangenen kurzen Arme beider beteiligten Chromosomen scheinen keine genetische Bedeutung zu haben. Die Translokations-träger sind phänotypisch normal, haben aber nur 45 Chromosomen. Abbildung 7a zeigt den Chromosomensatz einer weiblichen Translokationsträgerin. Gelangt ein Nr. 21 und zusätzlich das Translokationschromosom in eine Eizelle, so wird nach Befruchtung mit einem normalen Spermium ein Organismus mit $2n=46$ Chromosomen entstehen, der aber die 3-fache Gendosis für das Chromo-

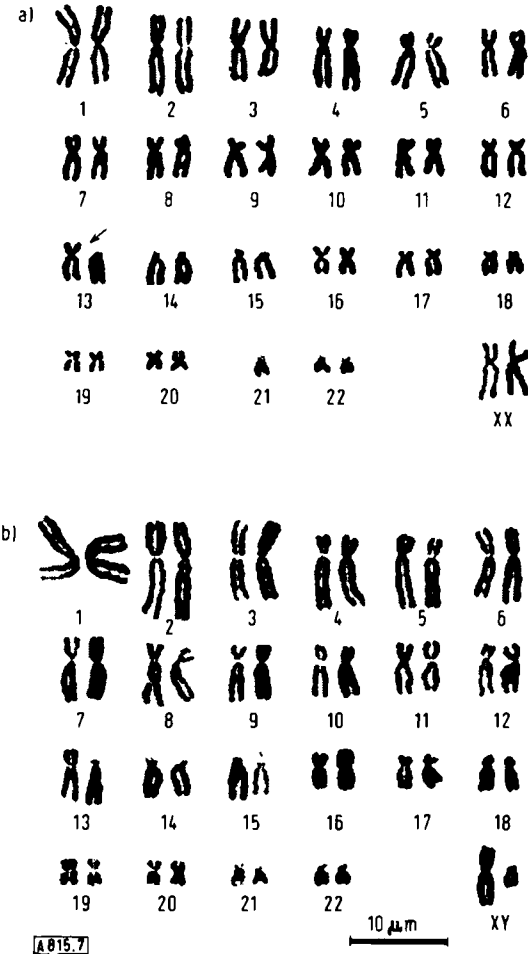


Abb. 7. Geordnete menschliche Metaphasen mit Translokationschromosom 13/21 (Pfeil). a) Balancierter Zustand (45 Chromosomen); b) verbunden mit einer Trisomie 21 (Translokationsmongolismus, 46 Chromosomen) (Original von Th. Lüers.)

som Nr. 21 besitzt und damit das Down-Syndrom (Translokationsmongolismus) aufweist^[28]. Abb. 7b zeigt den Chromosomensatz eines männlichen Translokationsmongoloiden.

3. Dosiseffektbeziehungen

Alle genannten Aberrationstypen (AL, B', B'' und RB') nehmen in ihren Häufigkeiten mit der Dosis des zu testenden Mutagens zu. Abbildung 8 stellt derartige Dosiseffektbeziehungen für das Alkylans Trenimon (5) dar^[29] (siehe Tab. 1). Dosiseffektbeziehungen ergeben sich auch für re-

zessive Letalmutationen bei *Drosophila* etwa nach Einwirkung von Triäthylenmelamin (8)^[30] und von Stickstofflost-Derivaten in steigenden Konzentrationen^[31].

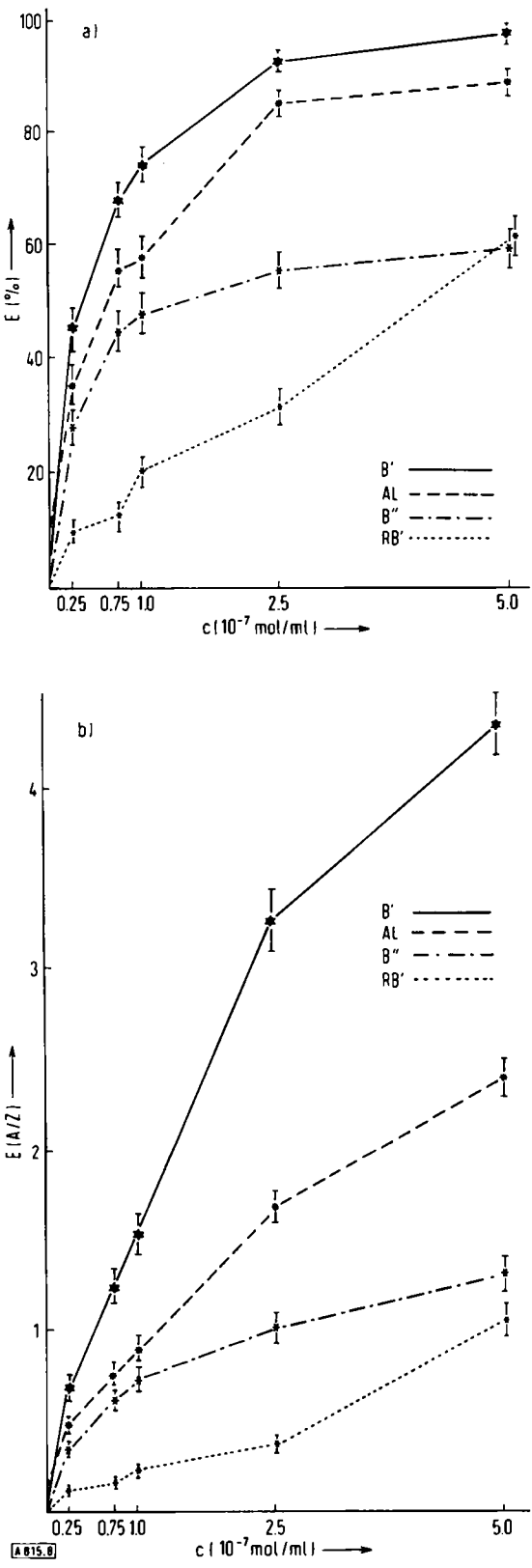
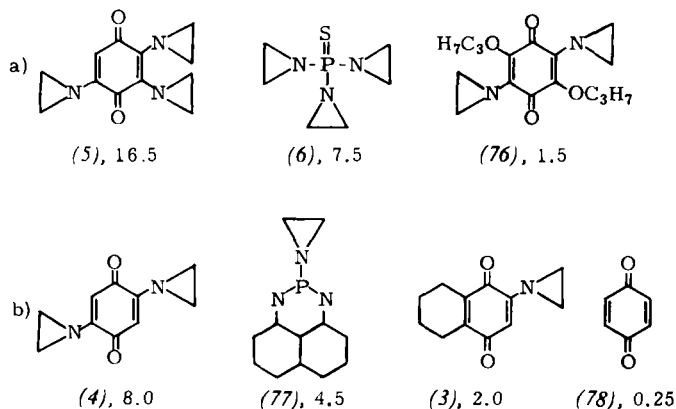


Abb. 8. Dosiseffektbeziehungen für achromatische Läsionen (AL), Chromatidbrüche (B'), Isochromatidbrüche (B'') und Chromatidtranslokationen (RB') durch 24-stündige Einwirkung von Trenimon (5). a) Angabe des Effekts (E) in Prozent; b) Angabe des Effekts in Aberrationen pro Zelle (A/Z) (aus [29]).

4. Chemische Konstitution und mutagene Wirkung

Der Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution und mutagener Wirkung soll am Beispiel einiger Aziridine aufgezeigt werden.

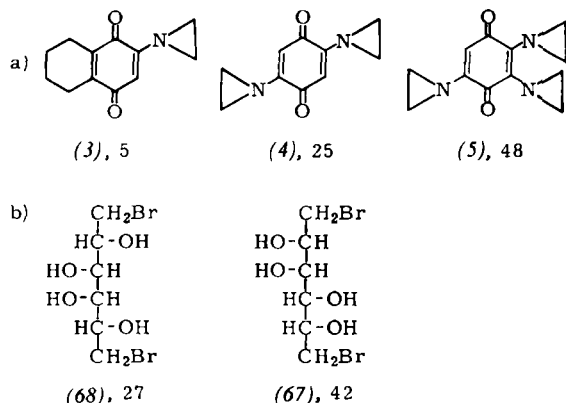
Im Hinblick auf die Induktion rezessiver Letalmutationen ergibt sich eine positive Korrelation mit der Anzahl der Aziridiningruppen pro Molekül^[32]. Das trifunktionelle Trenimon (5) ist etwa 10-mal wirksamer als das bifunktionelle E 39 (76), und das bifunktionelle Chinon I (4) ist 3.5-mal stärker mutagen als das monofunktionelle A 137 (3) (Schema 1). Aber auch der Grundkörper eines Alkylans



Schema 1. Häufigkeit rezessiver Letalmutationen im X-Chromosom von *Drosophila melanogaster* durch dreitägige Verfütterung von a) $2.3 \cdot 10^{-4}$ -proz. Lösungen von Trenimon (5), Thio-TEPA (6) und E 39 (2.5-Bis(aziridino)-3,6-n-propoxy-1,4-benzochinon) (76) und von b) $2.3 \cdot 10^{-2}$ -proz. Lösungen von Chinon I (4), A 140 (2-Aziridino-1,3-diaza-2-phospha-perhydrophenalen) (77), A 137 (3) und *p*-Chinon (78). Die Zahlen unter den Formeln geben die Häufigkeit (%) an (nach Werten aus [32]).

hat einen Einfluß auf seine mutagene Wirksamkeit. Trenimon (5) ist doppelt so wirksam wie Thio-TEPA (6), obwohl beide Substanzen trifunktionelle Aziridin-Verbindungen sind.

Die Mutationsausbeute zeigt keine einfache Abhängigkeit von der Zahl der reaktiven Gruppen. Eine vergleichende Untersuchung an menschlichen Chromosomen *in vitro* zur



Schema 2. Häufigkeit von Chromatidtranslokationen an menschlichen Chromosomen durch 24-stündige Einwirkung von $1 \cdot 10^{-6}$ mol/ml A 137 (3), $0.5 \cdot 10^{-6}$ mol/ml Chinon I (4) und $0.33 \cdot 10^{-6}$ mol/ml Trenimon (5) (nach Werten aus [33]) und b) durch 40-stündige Einwirkung von $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l Dibromdulcit (68) und Dibrommannit (67). Die Zahlen unter den Formeln geben die Häufigkeit (%) an.

Wirksamkeit von $1 \cdot 10^{-6}$ mol/ml A 137 (3) (monofunktionell), $0.5 \cdot 10^{-6}$ mol/ml Chinon I (4) (bifunktionell) und $0.33 \cdot 10^{-6}$ mol/ml Trenimon (5) (trifunktionell) hat ergeben, daß trotz gleicher Anzahl von Aziridiningruppen pro Kultur Trenimon erheblich wirksamer ist als Chinon I und dieses wiederum in seiner mutagenen Effektivität deutlich über der des A 137 liegt^[33].

Schema 2 zeigt das Ergebnis dieses Versuches für die Translokationen. Hier wirkt sich die Vernetzung aus, die nur den polyfunktionellen Alkylantien – nicht den monofunktionellen – möglich ist.

Die unterschiedliche Effektivität von Dibromdulcit (68) und Dibrommannit (67) bei der Induktion von Translokationen (RB') weist auf einen Einfluß des sterischen Baues einer Verbindung auf die mutagene Wirksamkeit hin (Schema 2).

5. Lokalisation der Mutationen

An einem sehr großen Material hat Belitz die Verteilungen spontaner, durch Chinon I (4) und Triäthylenmelamin (8) induzierter rezessiver Letalfaktoren auf der genetischen Karte des X-Chromosoms von *Drosophila* untersucht^[34]. Die spontanen Mutationen häuften sich im distalen Bereich (32.4%) und zeigten ein Minimum (9.8%) im proximalen und damit kinetochornahen Abschnitt des einschlenkligen Chromosoms. Nach Behandlung mit Chinon I fanden sich im distalen Abschnitt nur 14.4%, im Kinetochorenbereich dagegen 19.1% Letalfaktoren. Diese Unterschiede ließen sich statistisch absichern. Ein eigenes Verteilungsmuster wiesen auch die durch (8) induzierten Mutationen auf (distal 20.5%, proximal 23.2%). Die Mutationen häufen sich also deutlich in bestimmten Regionen des X-Chromosoms.

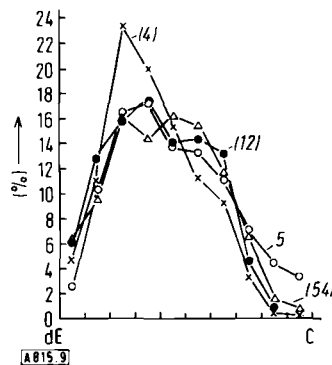


Abb. 9. Verteilung von achromatischen Läsionen und Chromatidbrüchen in zehn relativ gleichen Abschnitten aller Chromosomen des menschlichen Karyotyps nach Einwirkung von Chinon I (4), Trenimon (5), Miracil D (12) und Streptomycin (54). dE = distales Ende; C = Kinetochor (nach Werten aus [19, 29, 35, 36]).

Auch auf den menschlichen Chromosomen sind die Aberrationen nicht zufällig verteilt. Auf zehn relativ gleich langen Abschnitten aller Chromosomenarme ergeben sich für die Läsionen (AL) und Brüche (B) nach Behandlung mit Trenimon (5) (AL + B)^[29], Chinon I (4) (AL + B)^[35], Miracil D (12) (AL + B)^[36] und Streptomycin (54) (AL)^[19]

gleichartige Verteilungsmuster (Abb. 9). Die Aberrationen häufen sich im mittleren Bereich und fallen zum distalen Ende sowie zum Kinetochorenbereich stark ab. Während bei *Drosophila* vor allem eine Anreicherung der Mutationen am distalen Ende und im Kinetochorenbereich beobachtet wurde, sind die achromatischen Läsionen und die Chromatidbrüche in menschlichen Chromosomen gerade umgekehrt verteilt.

6. Schlußbemerkungen

Wir haben versucht, anhand einiger weniger Ergebnisse, die mit einem genetischen (*Drosophila*) und mit einem cytologischen (menschliche Zellen in Kultur) Testsystem gewonnen wurden, einen knappen und exemplarischen Einblick in die Chemogenetik zu geben. Die Mutationsforschung nimmt heute einen sehr breiten Raum innerhalb der Genetik ein und ist mit anderen Forschungsrichtungen eng verknüpft. Während die Vorgänge, die zu Genmutationen führen, im Prinzip bekannt sind, wissen wir noch relativ wenig über die Vorgänge, die Chromatid- oder Chromosomen-Aberrationen entstehen lassen^[37]. Auch das Studium der Repairprozesse gehört in das Gebiet der Mutationsforschung.

Anderen Arbeitsgebieten leisten die Techniken der Mutationsauslösung unentbehrliche Dienste, so etwa der Entwicklungs-genetik, die aus der Fehlleistung oder Funktionslosigkeit eines mutierten Allels wichtige Rückschlüsse auf die Bedeutung des normalen Allels für die Individualentwicklung ziehen kann. Der Populationsgenetiker verwendet in größerem Umfang mutagene Noxen, um in künstlichen Populationen die genetische Variabilität zu erhöhen oder das Schicksal von Populationen unter erhöhtem Mutationsdruck zu verfolgen.

Keineswegs geringer als die wissenschaftliche ist die praktische Bedeutung der Mutationsforschung. In der Kulturpflanzenzüchtung werden in großem Umfang Mutationen erzeugt und auf ihre Brauchbarkeit für Qualitäts- und Ertragssteigerungen geprüft.

Die meisten neu auftretenden Erbänderungen wirken sich bekanntlich negativ aus. Eine besonders wichtige Aufgabe erwächst der Mutationsforschung daher aus der ständigen Kontamination unserer Umwelt mit einer Vielzahl von Stoffen, deren genetische Wirkungen nicht oder nur ungenügend bekannt sind. Die zunehmende Verunreinigung unserer Umwelt mit den verschiedenartigsten Substanzen wie Nahrungsmittelzusätzen, Medikamenten, Narkotika, Contraceptiva, Schädlingsbekämpfungsmitteln sowie schädlichen Stoffen in Luft und Wasser wird immer mehr zu einem der vordringlichsten Probleme unserer Zeit. Die mutagene Gefährdung des Menschen durch solche Chemikalien ist entschieden größer als die durch Strahlung aller Art.

Untersuchungen zur möglichen mutagenen Wirksamkeit derartiger Substanzen sind daher von ganz besonderer Wichtigkeit. Ist eine Substanz als mutagen erkannt, sollte sie nur mit äußerster Vorsicht gehandhabt werden; wenn irgend möglich, sollte sie ganz aus unserer Umwelt ver-

bannt werden, wie es kürzlich in den USA mit dem Cyclamat geschehen ist, das im Verdacht steht, mutagen und cancerogen zu sein^[38].

Während akute biologische Effekte wie etwa Vergiftungserscheinungen sofort erkannt und meist mit ihrer auslösenden Noxe in Zusammenhang gebracht werden können, verstreicht zwischen dem Mutationsvorgang und der Manifestation eines genetisch bedingten Defektes eine längere Zeit. Dominante Mutationen, die zum überwiegenden Teil auf Chromosomenmutationen beruhen, wirken in der Regel letal und dürften beim Menschen meist zu Frühaborten führen, die als solche nicht erkannt werden. Dominante genetische Defekte, die zu Mißbildungen führen, sind im Mutationsspektrum relativ selten, aber rezessive autosomale Erbänderungen können sich erst in späteren Generationen manifestieren.

Da induzierte Mutationen sich qualitativ nicht von natürlichen (spontanen) unterscheiden, ist der Nachweis einer induzierten Mutabilität nur quantitativ möglich. Wollte man warten, bis man beim Menschen eine Zunahme der neu auftretenden Mutationen als Folge der Kontamination mit Mutagenen nachweisen kann, wäre der angerichtete Schaden bereits unübersehbar.

Die einzige Möglichkeit, die Menschheit vor mutagenen Substanzen zu schützen, ist die laboratoriumsmäßige Prüfung aller Chemikalien, bevor sie in unsere Umwelt gelangen. Das ist eine gigantische Aufgabe, wenn man bedenkt, daß jährlich ca. 30000 neue chemische Verbindungen entwickelt werden. Eine besondere Schwierigkeit steht diesem Unternehmen noch dadurch entgegen, daß es erfahrungsgemäß nicht leicht ist, Mittel zur Abwendung von Gefahren zu mobilisieren, deren Ausmaß dem Laien nicht unmittelbar vor Augen steht.

Um so mehr ist es zu begrüßen, daß von amerikanischen Genetikern eine „Environmental Mutagen Society“ (EMS) ins Leben gerufen wurde, deren europäische Sektion kürzlich gegründet wurde. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterhält in Freiburg/Br. ein „Zentrallaboratorium für Mutagenitätsprüfung“, das in enger Zusammenarbeit mit der chemischen Industrie auf breiter Basis Chemikalien auf ihre mögliche mutagene Wirksamkeit prüft.

Eingegangen am 24. August 1970 [A 815]

- [1] H. J. Muller, Verhandl. 5. Kongr. Vererb. (1927).
- [2] C. Auerbach, DIS (Drosophila Information Service) 17, 48 (1943); C. Auerbach u. J. M. Robson, Nature 154, 81 (1944).
- [3] F. Oehlkers, Z. Vererbungslehre 81, 313 (1943).
- [4] W. P. Spencer u. C. Stern, Genetics 33, 43 (1948).
- [5] H. Lüers, Arch. Geschwulstforsch. 6, 77 (1953).
- [6] O. J. Eigsti u. P. Dustin jr.: Colchicine in Agriculture, Medicine, Biology and Chemistry. Iowa State College Press, Ames, Iowa (USA) 1955.
- [7] A. Levan, Hereditas 24, 471 (1938).
- [8] J. H. Tjio u. A. Levan, Hereditas 42, 1 (1956).
- [9] B. W. van Duuren (Herausgeb.): Biological Effects of Alkylating Agents. Ann. N. Y. Acad. Sci. 163, 589–1029 (1969).
- [10] A. Loveless: Genetic and Allied Effects of Alkylating Agents. Butterworths, London 1966.
- [11] W. C. J. Ross: Biological Alkylating Agents. Butterworths, London 1962.
- [12] G. P. Wheeler, Cancer Res. 22, 651 (1962).

- [13] H. Berg u. G. Horn, *Naturwissenschaften* 50, 356 (1963).
- [14] E. J. DuPraw, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 53, 161 (1965).
- [15] E. J. DuPraw, *Nature* 209, 577 (1966).
- [16] H. J. Evans in G. Silini: *Radiation Research*. North Holland Publ., Amsterdam 1967.
- [17] H. Lüers, *Z. Vererbungslehre* 87, 93 (1955).
- [18] G. Obe, *Mol. Gen. Genetics* 103, 326 (1969).
- [19] G. Obe, *Mol. Gen. Genetics* 107, 361 (1970).
- [20] T. D. Brock, *Fed. Proc.* 23, 965 (1964).
- [21] J. Lejeune, J. Lafourcade, R. Berger, J. Vialatte, M. Boeswillwald, P. Seringe u. R. Turpin, *C. R. Acad. Sci. Paris* 257, 3098 (1963).
- [22] G. Obe, *Z. Naturforsch.* 24b, 1207 (1969).
- [23] T. Prempre u. T. Merz, *Mutation Res.* 7, 441 (1969).
- [24] H. J. Tüylor, W. F. Haut u. J. Tung, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 48, 190 (1962).
- [25] B. K. Vig, *Mutation Res.* 9, 607 (1970).
- [26] F. Vogel u. M. Vrba, *Mutation Res.* 4, 874 (1967).
- [27] S. Wolff, *Am. Naturalist* 94, 85 (1960).
- [28] P. E. Polani, J. H. Briggs, C. E. Ford, C. M. Clarke u. J. M. Berg, *Lancet* 1960 I, 121 (1960).
- [29] K. Sperling, Dissertation, Freie Universität Berlin 1968.
- [30] O. G. Fahmy u. M. J. Bird, *Heredity*, Suppl. 6, 149 (1952).
- [31] O. G. Fahmy u. M. J. Fahmy, *Heredity* 15, 115 (1960).
- [32] H. Lüers u. G. Röhrborn, *Mutation Res.* 2, 29 (1965).
- [33] G. Obe, *Mutation Res.* 6, 467 (1968).
- [34] H. J. Belitz, *Z. Vererbungslehre* 88, 334 (1957).
- [35] G. Obe, *Chromosoma* 26, 475 (1969).
- [36] G. Obe, *Z. Naturforsch.* 25b, 115 (1970).
- [37] R. Rieger u. A. Michaelis: *Chromosomenmutationen*. Fischer-Verlag, Jena 1967.
- [38] S. S. Epstein, A. Hollaender, J. Lederberg, M. Legator, H. Richardson u. A. H. Wolff, *Science* 166, 1575 (1969).
- [39] G. Obe, Dissertation, Freie Universität Berlin 1967.
- [40] a) T.-H. Chang u. F. T. Elequin, *Mutation Res.* 4, 83 (1967); b) T.-H. Chang u. W. Klassen, *Chromosoma* 24, 314 (1968).
- [41] G. Obe, *Z. Naturforsch.* 23b, 1557 (1968).
- [42] K. E. Hampel, B. Kober, D. Rösch, H. Gerhartz u. K.-H. Meinig, *Blood* 27, 816 (1966).
- [43] K. E. Hampel u. H. Gerhartz, *Exp. Cell Res.* 37, 251 (1965).
- [44] R. F. J. Withers, *Sympos. Mutational Process, Mechanisms of Mutation and Inducing Factors*, S. 359, Academic, Prag 1967.
- [45] C. E. Nasjleti u. H. H. Spencer, *Cancer Res.* 26, 2437 (1966).
- [46] a) K. E. Hampel, *Int. J. Clin. Pharmacol.* 1, 322 (1968); b) K. E. Hampel, M. Fritzsche u. D. Stopik, *Humangenetik* 7, 28 (1969); c) E. Schmid u. M. Bauchinger, *Mutation Res.* 9, 417 (1970); d) M. Vrba, *Humangenetik* 4, 362 (1967).
- [47] K. E. Hampel, D. Stopik u. M. Fritzsche, *Humangenetik* 5, 321 (1968).
- [48] a) M. Chevrement, J. Frederic u. E. Baeckeland, *Bull. Acad. Roy. Med. Belg.*, Ser. 6, 24, 141 (1959); b) E. Gebhart, *Humangenetik* 7, 126 (1969); c) E. Gebhart, *Chromosoma* 29, 336 (1970); d) J. Y. Richmond u. B. N. Kaufmann, *Exp. Cell Res.* 54, 377 (1969); e) G. Schwanitz u. E. Gebhart, *Ärztl. Prax.* 20, 2491 (1968).
- [49] D. Schuler u. G. Gacs, *Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.* 16, 463 (1968).
- [50] J. J. Oppenheim u. W. N. Fishbein, *Cancer Res.* 25, 980 (1965).
- [51] F. J. Kelly u. F. M. Sauro, *J. Cell Biol.* 39, 72 (1968).
- [52] J. F. Jackson u. K. Lindahl-Kiessling, *Exp. Cell Res.* 34, 515 (1964).
- [53] W. Schnedl, *Humangenetik* 4, 140 (1967).
- [54] J. F. Jackson u. K. Lindahl-Kiessling, *Science* 141, 424 (1963).
- [55] a) W. R. Bell, J. J. Whang, P. P. Carbone, G. Brecher u. J. B. Block, *Blood* 27, 771 (1966); b) J. G. Brewen, *Cytogenetics* 4, 28 (1965); c) J. G. Brewen u. N. T. Christie, *Exp. Cell Res.* 46, 276 (1967); d) B. A. Kihlman, W. W. Nichols u. A. Levan, *Hereditas* 50, 139 (1963); e) W. W. Nichols u. W. K. Heneen, *ibid.* 52, 402 (1964).
- [56] K. E. Hampel u. H. Gerhartz, *Antimicrob. Agents Chemotherapy* 1965, 306.
- [57] a) W. Engel, W. Krone u. U. Wolf, *Mutation Res.* 4, 353 (1967); b) M. M. Kaback, E. Saksela u. W. J. Mellmann, *Exp. Cell Res.* 34, 182 (1964); c) W. Krone, U. Wolf u. B. Fouladwand, *Homo. Suppl.* 1965, 46; d) C. G. Palmer u. S. Funderburk, *Cytogenetics* 4, 261 (1965).
- [58] C. Bottura u. V. Coutinho, *Rev. Brasil. Biol.* 25, 145 (1965).
- [59] M. W. Elves, A. S. Buttoo, M. D. Israels u. J. F. Wilkinson, *Brit. Med. J.* 1, 156 (1963).
- [60] W. W. Nichols, *Cancer Res.* 24, 1502 (1964).
- [61] W. Ostertag, *Mutation Res.* 3, 249 (1966).
- [62] W. Ostertag, E. Duisberg u. M. Stürmann, *Mutation Res.* 2, 293 (1965).
- [63] a) B. A. Kihlman u. G. Odmark, *Mutation Res.* 2, 494 (1965); b) J. F. Jackson, *J. Cell. Biol.* 22, 291 (1964).
- [64] a) C. Bottura u. I. Ferrari, *Blood* 21, 207 (1963); b) L. E. Reisman, W. W. Zuelzer u. M. Mitani, *Lancet* 1963 II, 1038.
- [65] M. Krogh Jensen, *Acta Med. Scand.* 182, 445 (1967); b) M. Krogh Jensen, *Int. J. Cancer* 5, 147 (1970); c) G. Obe, *Arzneimittel-Forsch.*, im Druck.
- [66] P. Eberle u. H. Leuner, *Humangenetik* 9, 281 (1970).
- [67] a) G. Abbo, A. Norris u. H. Zellweger, *Humangenetik* 6, 253 (1968); b) M. M. Cohen, M. J. Marinello u. N. Back, *Science* 155, 1417 (1967); c) M. Hultén, J. Lindsten, L. Lidberg u. H. Ekelund, *Ann. Genet.* 11, 201 (1969); d) D. A. Hungerford, K. M. Taylor, C. Shagass, G. U. LaBadie, G. B. Balaban u. G. R. Paton, *J. Amer. Med. Assoc.* 206, 2287 (1968); e) S. Irwin u. J. Egozcue, *Science* 157, 313 (1967); f) J. Nielsen, U. Friedrich u. T. Tsuboi, *Brit. Med. J.* 3, 634 (1969).
- [68] W. Ostertag u. W. Kersten, *Exp. Cell Res.* 39, 296 (1965).
- [69] G. Bauchinger, *Humangenetik* 7, 323 (1969).
- [70] K. E. Hampel, G. W. Löhr, K. G. Blume u. H. W. Rüdiger, *Humangenetik* 7, 305 (1969).
- [71] B. K. Vig, S. B. Kontras u. A. M. Aubele, *Mutation Res.* 7, 91 (1969); b) J. Whang-Peng, B. G. Leventhal, J. W. Adamson u. S. Perry, *Cancer* 23, 113 (1969).
- [72] a) M. M. Cohen u. M. W. Shaw, *J. Cell. Biol.* 23, 386 (1964); b) J. German u. J. LaRock, *Texas Rep. Biol. Med.* 27, 409 (1969); c) P. C. Nowell, *Exp. Cell Res.* 33, 445 (1964); d) M. W. Shaw u. M. M. Cohen, *Genetics* 51, 181 (1965).
- [73] a) M. M. Cohen, *Cytogenetics* 2, 271 (1963); b) M. M. Cohen, M. W. Shaw u. A. P. Craig, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 50, 16 (1963); c) T. T. Puck, *Science* 144, 565 (1964).
- [74] Y. S. Kang, H. S. Kang u. S. D. Park, *Can. J. Genet. Cytol.* 10, 299 (1968).
- [75] R. H. Fetner, *Nature* 194, 793 (1962).
- [76] a) A. Forní, *Proc. XV. Int. Congr. Occupational Health II.1*, Wien, 1966, S. 437; b) G. Pollini u. R. Colombi, *Med. Lavoro* 55, 241 (1964); c) G. Pollini u. R. Colombi, *ibid.* 55, 641 (1964); d) G. Pollini, E. Stroselli u. R. Colombi, *ibid.* 55, 735 (1964); e) I. M. Tough u. W. M. Court Brown, *Lancet* 1965 I, 684 (1965); f) I. M. Tough, P. G. Smith, W. M. Court Brown u. D. G. Harnden, *Europ. J. Cancer* 6, 49 (1970).
- [77] L. E. Kuznezova, *Nature* 222, 484 (1969).
- [78] a) D. R. Stoltz, K. S. Khera, R. Bendall u. S. W. Gunner, *Science* 167, 1501 (1970); b) D. Stone, E. Lamson, Y. S. Chang u. K. W. Pickering, *ibid.* 164, 568 (1969).
- [79] Y. Kurita, T. H. Yosida u. K. Moriwaki, *Jap. J. Genetics* 40, 365 (1965).
- [80] E. Gebhart, *Mutation Res.* 6, 309 (1968).
- [81] R. Kato, *Hereditas* 59, 120 (1968).
- [82] M. Krogh Jensen, *Acta Med. Scand.* 177, 783 (1965).
- [83] C. E. Nasjleti, J. M. Walden u. H. H. Spencer, *Cancer Res.* 25, 275 (1965).
- [84] K. Sperling u. G. Obe, unveröffentlicht.
- [85] J. Keutel u. Möckel, *Humangenetik* 7, 344 (1969).