

Nicht einzeln im Buchhandel.

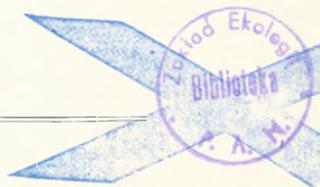
Überreicht vom Verfasser.

Sonderabdruck aus dem
Archiv für experimentelle Zellforschung
besonders Gewebezüchtung (Explantation).

1938. Bd. XXII.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Printed in Germany.



577.



Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

Struktur und Doppelbrechung der Chromosomen.

Von

W. A. Becker, Warschau.



Apł. do

S.S. 14315 14, iicin.org.pl

Nach den bekannten Untersuchungen von Schmidt sind die optischen Eigenschaften des Chromatins, der Zellkerne und der Chromosomen durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Nukleinsäuren bedingt. Das Chromatin ist aus stabförmigen, anisotropen, eine negative Eigendoppelbrechung aufweisenden, Submikronen oder Micellen aufgebaut. Die chromatinhaltigen Bestandteile der Zelle weisen — je nach dem Quellungsstande — bald eine negative Eigendoppelbrechung, bald eine positive Formdoppelbrechung auf. Den experimentellen Nachweis dieser Hypothese liefern die Untersuchungen Schmidts und seiner Mitarbeiter über die Zellkerne der Spermatozoen und Colliden und über Tierspermatozoen sowie Modellversuche an Nukleinsäuregallerte. Ähnlich deutet Schmidt auch die optischen Eigenschaften der tierischen Chromosomen. In lebenden, furchenden Eiern von *Psammochinus* weisen die Chromosomen eine positive Formdoppelbrechung auf, während in den in absolutem Alkohol fixierten Speicheldrüsenchromosomen von *Chironomus* die Chromomeren eine negative Eigendoppelbrechung aufweisen. Die physikalisch-chemische Theorie von Schmidt erklärt ausgezeichnet die optischen Eigenschaften des Chromatins und der Chromosomen, sie berücksichtigt aber keinesfalls die morphologische Seite des Problems und insbesondere die neuesten Anschauungen der Zytomorphologen über den mikroskopischen Bau der Chromosomen.

Den morphologischen Gesichtspunkt in den Untersuchungen über die optischen Eigenschaften der Chromosomen repräsentieren die Japaner Kuwada und Nakamura. Beide akzeptieren die von Schmidt festgestellte negative Eigendoppelbrechung der Chromatinmicelle, setzen aber überdies voraus, daß auch das Chromonema eine negative Eigen-

doppelbrechung aufweist. Kuwada gehört bekanntlich zu den hervorragendsten Vertretern der Theorie vom Spiralbau der Chromosomen. Nach diesen Anschauungen ist das Chromosom nichts anderes als ein zu einer kompakten Spirale zusammengedrehtes Chromonema. In den heterotypen, und bei manchen Pflanzen auch in den homöotypen, Chromosomen ist das Chromonema zu einer Doppelspirale zusammengedreht, von denen eine „*Spirala maior*“ und die andere „*Spirala minor*“ genannt wird. Nimmt man mit Kuwada und Nakamura an, daß das Chromonema eine negative Eigendoppelbrechung aufweist, dann müssen die somatischen Chromosomen im Verhältnis zu ihrer Längsachse optisch positiv und die heterotypen Chromosomen optisch negativ sein. Kuwada und Nakamura stellten dies tatsächlich an Pflanzenzellen, die in absolutem Alkohol fixiert wurden, experimentell fest und lieferten auf diese Weise einen objektiven Beweis für ihre morphologische Konzeption.

Wir sehen daraus, wie die polarisationsoptische Methode zur Lösung gewisser Probleme der Chromosomenmorphologie herangezogen wurde. Im Zusammenhange mit den Untersuchungen von Kuwada und Nakamura drängt sich die Möglichkeit auf, daß auch die optischen Eigenschaften der tierischen Chromosomen durch ihren mikroskopischen Bau bedingt sind.

Die Untersuchungen von Kuwada und Nakamura sind, obwohl ihre Autoren sie als vollständig übereinstimmend mit ihren morphologischen Konzeptionen betrachten — von gewissen Unklarheiten und Widersprüchen nicht frei. Eine schwache Seite derselben ist vor allem der Mangel genauerer Angaben über die angewendete Fixierungsmethode. Bekanntlich kann das Fixierungsverfahren von entscheidendem Einfluß auf die optischen Eigenschaften des Chromatins und der Chromosomen sein. Um diese Unklarheiten zu lösen, insbesondere um festzustellen, ob die polarisationsoptische Methode eine objektive Basis für die Untersuchungen über den mikroskopischen Aufbau der Chromosomen bilden kann, stellte ich eigene Untersuchungen an, deren Ergebnisse — wie ich gleich vorwegnehmen will — von den Untersuchungen Kuwadadas und Nakamuras in manchem abweichen.

Die somatischen Chromosomen aus den Wurzelspitzen von *Allium Cepa* und *Vicia Faba* sind — wenn sie in reinem absoluten Alkohol fixiert werden — im Verhältnis zu ihrer Längsachse immer optisch-negativ. Sie sind dünn und länglich, ihr mikroskopischer Bau ist dagegen undeutlich.

Dieselben Chromosomen weisen — wenn sie vor der Fixierung mit Essigsäuredampf behandelt werden — einen sehr deutlichen und hü-

sehen Spiralbau auf und ändern überdies auch ihre optischen Eigenschaften. Sie werden oft optisch-positiv, oder teilweise negativ — teilweise positiv, oder auch teilweise bzw. ganz isotrop. Aus dieser Beobachtung folgt, daß die optischen Eigenschaften der somatischen Chromosomen verschieden ausfallen können, je nachdem, wie die Chromosomen fixiert wurden. Ueberdies ist das Fixierverfahren noch insofern von Bedeutung, daß es bestimmte mikroskopische Spiralstrukturen sichtbar machen kann.

Es fragt sich nun, wie sich in dieser Hinsicht die meiotischen Chromosomen verhalten, an denen Kuwada und Nakamura die volle Uebereinstimmung mit ihren morphologischen Konzeptionen feststellen konnten. Nun: das Resultat, das ich in dieser Frage erzielte, ist ebenfalls anders als bei Kuwada und Nakamura.

Wenn man PMZ von *Gingko biloba* in reinem abs. Alkohol fixiert, sind alle Chromosomen aus der 1. und 2. Teilung im Verhältnis zu ihrer Längsachse optisch-negativ und besitzen keine deutliche Struktur. Wenn man dagegen die Knospen vor der Fixierung mit Essigsäuredampf behandelt, dann weisen die Chromosomen häufig einen sehr hübschen Spiralbau auf und sind überdies oft optisch-positiv. Die heterotypen und homöotypen Chromosomen verhalten sich darin vollständig gleich.

Aehnliche, wenn auch weniger gelungene Ergebnisse erzielte ich mit PMZ von *Tradescantia reflexa* und *Tradescantia virginica*.

Aus den dargestellten Untersuchungen folgt, daß das optische Vorzeichen des Chromosoms je nach der Fixiermethode wechseln kann und daß zwischen heterotypen, homöotypen und somatischen Chromosomen in dieser Hinsicht gar kein Unterschied besteht. Es sei hervorgehoben, daß es sich in meinen Untersuchungen, wie die durchgeführten Imbibitionsversuche beweisen, um die Eigendoppelbrechung und nicht um die Formdoppelbrechung handelte. Nach dem Gesagten kann die polarisationsoptische Methode keinesfalls als ein objektiver Beweis der morphologischen Konzeptionen Kuwadadas und Nakamuras vom spiraligen bzw. doppelspiraligen Aufbau der Chromosomen betrachtet werden.

Nakamura versucht gewisse Widersprüche in seinen Resultaten auf diese Weise aufzuklären, daß er die gewiß interessante These aufstellt, wonach die negativen optischen Eigenschaften der somatischen Chromosomen von den in der Chromosomenmatrix vorhandenen Lipoiden (Shinke-Shigenaga) hervorgerufen werden können. Zur Begründung dieser These stellte Nakamura einige Versuche über den Einfluß heißen Wassers auf die optischen Eigenschaften der Chromosomen an und stellte dabei fest, daß die chromatinhaltige, innere Partie

des aufgequellten Chromosoms isotrop, während die äußere chromatinlose Partie — die Chromosomenmatrix — anisotrop und optisch-negativ ist.

Nun, diesen Versuch Nakamuras wiederholte ich, auch diesmal mit abweichendem Resultat. Ich konnte feststellen, daß in Chromosomen, die mit heißem Wasser behandelt und danach in absolutem Alkohol fixiert wurden, immer gerade nur die chromatinhaltigen Partien und nicht die chromatinlose „Matrix“ Nakamuras optisch-anisotrop sind.

Die Interpretation Nakamuras stellt uns noch vor manche andere Schwierigkeiten. Sie vermag beispielsweise die Tatsache nicht aufzuklären, daß die heterotypen Chromosomen unter der Einwirkung von Essigsäuredampf optisch-positiv sein können. Weiter stellen sich — wie bekannt — die Lipoidmicellen senkrecht zur Oberfläche auf; danach dürften nur die Chromosomränder und nicht das ganze Chromosom optisch negativ sein — was wieder mit den Tatsachen nicht übereinstimmt. Zusammenfassend sehen wir uns gezwungen, die Interpretation Nakamuras abzulehnen und nehmen übereinstimmend mit Schmidt an, daß die optischen Eigenschaften der Chromosomen durch das Chromatin, d. i. die Nukleinsäuren bedingt sind.

Nun drängt sich die überaus wichtige Frage auf, worin besteht die Einwirkung der Essigsäuredämpfe auf die optischen Eigenschaften der Chromosomen. Die einfachste Erklärung dürften wir in der Theorie Schmidts finden, wonach die Säure die Aufquellung des Chromatins und folglich die Aenderung des optischen Vorzeichens hervorrufen kann. — In unserem Falle kompliziert sich die Angelegenheit insofern, als die Essigsäure hier gleichzeitig gewisse vorher unsichtbare mikroskopische Spiralstrukturen zum Vorschein bringt.

In diesem Falle sind zwei Interpretierungen möglich: 1. entweder bildet sich die mikroskopische Spiralstruktur infolge der Einwirkung der Essigsäure, mit anderen Worten, sie ist ein Artefakt; 2. oder die Essigsäure löst manche an der Oberfläche liegenden Chromosomen-substanzen auf und beseitigt sie, wodurch die vorher verdeckte Spirale sichtbar gemacht wird. Auf Grund der polarisationsoptischen Untersuchungen allein kann dieses Dilemma nicht entschieden werden, und daher berechtigt uns die polarisationsoptische Methode zu keinen sicheren objektiven Schlüssen über den mikroskopischen Bau der Chromosomen.

Auf Grund der allgemein-zytologischen Untersuchungen, insbesondere der Vitalbeobachtungen, neige ich eher dazu, die zweite Eventualität anzunehmen, wonach die mikroskopische Spirale durch irgendeine „Matrix“ verdeckt wird. Aber auch in dieser Interpretation kann die erwähnte „Matrix“ nicht als Lipoidenmatrix im Sinne Nakamuras, sondern als Nukleinbestandteil des Chromosoms aufgefaßt werden.

Nach dem Schema des Chromatinmicellenbaues von Wrinch liegen die Nukleinsäuremoleküle an der Oberfläche der Proteinmakromoleküle und umfassen sie reifenartig. Nimmt man dieses Schema an, dann wird es klar, daß in einem spiralgedrehten Chromonema die Nukleinsäuremicellen längs der Chromosomenlängsachse liegen werden. Diesem Umstande wäre es zu verdanken, daß ein in absolutem Alkohol fixiertes somatisches Chromosom eine negative Eigendoppelbrechung aufweist. Das Schema von Wrinch einigt daher ausgezeichnet sowohl unsere Auffassung vom Spiralbau des somatischen Chromosoms, wie die scheinbar widersprechenden Ergebnisse der Polarisationsanalyse. Dagegen vermag es nicht das Verhalten der heterotypen Chromosomen genügend aufzuklären — natürlich, wenn wir den Doppelspiralbau derselben annehmen.

Wir dürfen nicht vergessen, daß die Voraussetzung Kuwadas und Nakamuras von der negativen Eigendoppelbrechung des in absolutem Alkohol fixierten Chromonemas ganz willkürlich ist und der Diskussion unterliegen kann. Nimmt man die Gegenwart einer bestimmten Ultraspirale (einer ultramikroskopischen Spirale) an, dann könnte es sich erweisen, daß das Chromonema — wenigstens teilweise — keine negative, sondern eine positive Eigendoppelbrechung aufweist. Schließlich kann auch die Möglichkeit nicht außer acht gelassen werden, daß die Essigsäure eine künstliche stärkere Spiraldrehung der sonst schwachen natürlichen Spirale verursachen kann. Ein derartiger Vorgang könnte infolge der Spiraldrehung und Faltung der fadenförmigen Makromoleküle unter der Einwirkung der Säure eintreten. Der Prozeß wäre ein Umgekehrtes zu der bekannten Methode der experimentellen Aufwicklung und Entfaltung der Chromosomen mittels Ammoniakdampf (Kuwada und Nakamura). Zugunsten dieser Interpretation spricht der Umstand, daß die mit Essigsäuredampf behandelten, optisch positiven und spiralgedrehten Chromosomen kürzer und dicker als die in reinem absoluten Alkohol fixierten Chromosomen sind.

Ich habe hier einige Interpretierungsmöglichkeiten der dargestellten Beobachtungen angeführt; welche von ihnen die einzig richtige ist, kann vorläufig nicht entschieden werden. Wir glauben überdies, daß, um ein vollständiges Bild vom Micellarbau der Chromosomen zu gewinnen die Untersuchung der optischen Eigenschaften derselben längs der Längsachse allein nicht genügen kann, sondern daß für diesen Zweck auch eine optische Analyse des Querschnittes erforderlich ist. Diesbezügliche ganz deutliche und zuverlässige Präparate sind indessen sehr schwer erzielbar, und daher kann in dieser Angelegenheit noch nichts Bestimmtes gesagt werden.

