

# Mutations- und Zellkulturforschung in den ersten 60 Jahren des 20. Jahrhunderts

Vortrag von Herbert G. Miltenburger  
am 14. Oktober 2010 bei der GUM - Tagung in Potsdam

Die Mutationsforschung beginnt eigentlich in den letzten 2 Jahrzehnten des 19. Jahrhunderts, als der Botaniker Hugo de Vries in den Niederlanden seine Untersuchungen über die vererbaren Änderungen des Phänotyps bei der „Nachtkerze“ durchführte. 1901 hat er die Ergebnisse seiner Untersuchungen in einem zweibändigen Werk zusammengefasst.

Vor de Vries hatte aber Gregor Mendel, auch in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts, als erster systematische Versuche über die Vererbung von „Merkmalen“ bei seinen Kreuzungen, vor allem mit Erbsen, beschrieben. Seine Arbeiten waren zwar keine Mutationsforschung. Aber dennoch hat er mit seinen „Regeln der Vererbung von Merkmalen“ eine der Grundlagen für die Arbeiten der späteren Mutationsforscher geschaffen.

Gregor Mendel, der eigentlich Johann hieß, erhielt den Vornamen Gregor als Ordensnamen zugeteilt, als er 1843 als Mönch in den Augustinerorden aufgenommen wurde.

Seine Kreuzungsexperimente mit etwa 28.000 Erbsenpflanzen hatte er 1858 begonnen und 1863 abgeschlossen. 1866 veröffentlichte er in kleiner Auflage die Ergebnisse („*Versuche über Pflanzenhybriden*“) in gebundener Form im Publikationsorgan des von ihm gegründeten „Naturforscher-Vereins Brunn“ und verschickte auch einige Exemplare an ihm bekannte Wissenschaftler, darunter an den damals bedeutenden Botaniker Carl Wilhelm von Nägeli. Die Bedeutung seiner Ergebnisse wurde jedoch nicht erkannt, auch nicht in einem 1870 verfassten Aufsatz „*Über einige aus künstlicher Befruchtung gewonnene Hieracium-Bastarde*“. Er hatte allerdings auch nicht alle seine Versuchsergebnisse publiziert bzw. verschickt. Umfangreiche Ergebnisse mit zahlreichen verschiedenen Pflanzenarten hatte er nicht erwähnt. Als Mendel im Jahr 1884 starb, war sein Werk schon weitgehend in Vergessenheit geraten.

Von den heute insgesamt noch existierenden 8 Exemplaren seiner Veröffentlichung von 1866 ist nur eins noch im Privatbesitz. Von diesem Exemplar-- mit eigenhändigen Druckfehler-Korrekturen von Mendel-- wurden 1984 zu seinem 100.Todestag vom Arkania Verlag einmalig 1000 Faksimile-Drucke herausgegeben. Diese Faksimile-Exemplare waren käuflich zu erwerben –und sind es vielleicht immer noch.

Es fällt mir hier eine Parallele zum relativ schnellen Vergessen eines bedeutenden Werkes ein.

Die Kompositionen von Johann Sebastian Bach waren wenige Jahrzehnte nach seinem Tod im Jahr 1750 nahezu vergessen. Als Felix Mendelssohn Bartholdy 1823 im Alter von 14 Jahren eine Partitur der Matthäus-Passion geschenkt bekam, erkannte er die außergewöhnliche Qualität des Werks und sorgte in Berlin, wo er zu dieser Zeit wohnte, 1829 im Alter von 20 Jahren für die erste Wiederaufführung unter seiner Leitung. Das war nur 79 Jahre nach Bachs Tod.

Doch zurück zur Mutationsforschung

Der holländische Botaniker Hugo de Vries (1848-1935), der in den Jahren seit 1886 mit der „großblütigen Nachtkerze“ (*Oenothera lamarckiana*) Kreuzungsversuche durchgeführt hatte, stieß im Jahr 1900 bei Literaturstudien zu seinen Experimenten auf die 1866er Publikation von Mendel und erkannte ihren Wert. Er bezog sie in die Veröffentlichung und Diskussion seiner eigenen Experimente in seinem 1901 erschienenen zweibändigen Buch mit dem Titel „*Die Mutationstheorie: Die Entstehung der Arten durch Mutation*“, ein, und machte sie damit wieder allgemein bekannt.

Übrigens führte de Vries in seinem Buch als erster Vererbungsforscher den Begriff MUTATION ( *Mutatio*=Veränderung) für die „stoßweisen Veränderungen von Arten“ – wie er im Vorwort zu seinem Buch schreibt - ein. Seitdem wird der Begriff MUTATION für die Beschreibung von „sprunghaften“ Veränderungen von Artmerkmalen verwendet.

(Den Begriff MUTATION gab es zwar schon früher in der medizinischen Literatur, aber mit einer völlig anderen Bedeutung. Mit Mutation bezeichnete man das Tieferwerden der Stimme in der Pubertät bei Knaben, also den Stimmbruch. Diese Bedeutung ist heute nicht mehr gebräuchlich).

In der gleichen Zeit, also um 1900, entdeckten unabhängig von de Vries noch zwei andere Vererbungsforscher die Arbeiten von Mendel. Es waren dies der Tübinger Botaniker Carl Correns (1896-1933), der dann auch die Bezeichnung „Mendelsche Regeln“ einführte, und der österreichische Botaniker Erich Tschermak (1871-1962).

Beide nahmen in ihren Arbeiten Bezug auf die Mendel'schen Versuche und Ergebnisse und trugen so zur weiteren Verbreitung seiner Experimente bei.

Nach de Vries, Correns und Tschermak soll noch ein weiterer Botaniker erwähnt werden, nämlich der Däne Wilhelm Johannsen (1857- 1927). In seinem 1909 herausgegebenen, damals bedeutenden Buch „Elemente der exakten Vererbungslehre“, eine deutsche Übersetzung seines in Dänisch geschriebenen Buches „Arvelighedslærens Elementer“, führte er erstmals den Begriff „GEN“ für die Einheit der Erbinformation ein. Von da an fand „GEN“ allgemeine Verwendung.

Drei Jahre vorher, also 1906, hatte schon der britische Embryologe William Bateson (1861 - 1926) zum ersten Mal in einer internationalen Konferenz über Pflanzenhybride in London den Begriff „GENETICS“ gebraucht, der ab dann auch allgemein verwendet wurde.

Es soll hier noch erwähnt werden, dass Mendel und die anderen Vererbungsforscher am Anfang des 20. Jahrhunderts Botaniker waren. Das hängt natürlich mit der relativ leichten Beschaffung und Handhabung der Pflanzen als Versuchsobjekte zusammen.

Jetzt soll ein Wissenschaftler genannt, der, obwohl er kein Mutationsforscher war, mit seiner Erfindung aber die Mutationsforschung -- bis heute -- ganz außergewöhnlich beeinflusst hat. Es ist der Physiker Wilhelm Conrad Röntgen, geboren 1845 in Lennep und gestorben 1923 in München. Er entdeckte am 8. November 1895 die nach ihm benannten ionisierenden Strahlen im Physikalischen Institut der Universität Würzburg. Er nannte sie immer nur „X-Strahlen“ und er wollte eigentlich nicht, dass sie nach ihm „Röntgenstrahlen“ genannt wurden. 1901 erhielt er für seine Entdeckung als erster den Nobelpreis für Physik.

Diese „X-Strahlen“ revolutionierten nicht nur die medizinische Diagnostik und Therapie und viele naturwissenschaftliche, technische und im allgemeinen Alltag „nützliche“ Bereiche. So erinnere ich mich noch gern an die Tage in meiner Kindheit, wenn wir zum Kauf von neuen Schuhen in die Stadt gingen. Das war deswegen aufregend, weil es in den 1930iger Jahren in guten Schuhgeschäften eine Art „Guck-Kästen“ gab, in die man seine Füße in den neuen Schuhen hineinstellen und auf einer Mattscheibe anhand eines Röntgenbildes die eigenen Fußknochen und den Schuhumriss sehen konnte. Man sah, ob die neuen Schuhe passten. Weil dabei ein Schutz gegen die Röntgenstrahlen, die von unten kamen, wohl nicht optimal war, wurden diese Kästen später aus dem Verkehr gezogen.

Schon bevor die Röntgenstrahlen für Mutationsversuche eingesetzt wurden, haben mehrere Biologen, die nicht Botaniker waren, nach geeigneten Versuchsobjekten im Nicht-Botanik-Bereich für die Mutationsforschung gesucht. Das begann im ersten Jahrzehnt des 20. Jahrhunderts.

Hier ist besonders der US-amerikanische Biologe Thomas Hunt Morgan (1866-1945) zu nennen, der an der Columbia Universität in New York Professor für Experimentelle Zoologie war. Er hatte erfahren, dass der Biologe C.W. Woodworth an der Harvard Universität 1901 zum ersten Mal die Fliege *Drosophila* in größerer Menge gezüchtet, und diese Insekten als

geeignet für genetische Experimente vorgeschlagen hatte. Morgan etablierte 1909 in seinem Labor eine Zucht von *Drosophila* und fand schon im ersten Jahr, dass in ihr spontan mehrere gut zu identifizierende Mutanten auftraten. Bei der näheren Analyse dieser Mutanten entdeckte er das Phänomen der exakten Lokalisation der Gene und der „linkage groups“, und dass die Gene auf den Chromosomen linear angeordnet waren.

Für diese Arbeiten erhielt er 1933 den Nobelpreis.

Ein Genetiker aus der Morgan-Gruppe ist hier auch noch zu erwähnen, nämlich Alfred Sturtevant (1891-1970). Er hatte 1913 die erste -- allerdings noch einfache -- Genkarte eines Organismus' erstellt, nämlich von *Drosophila*.

Der nächste nach 1910 zu nennende Mutationsforscher, der in der gleichen Zeit seine wissenschaftliche Laufbahn in den USA begann, ist Hermann Joseph Muller (1890-1967).

Väterlicherseits war er deutscher Abstammung. Seine Großeltern hießen noch Müller und waren Mitte des 19. Jahrhunderts aus dem Rheinland eingewandert.

Muller hatte einen ungewöhnlichen wissenschaftlichen und privaten Lebensweg.

1912 begann er in Morgan's Gruppe mit *Drosophila* zu arbeiten. In den Jahren nach 1918/1919 arbeitete er an der Columbia Universität in New York City. Dort führte er mit der CIB-Kreuzungsmethode Mutationsstudien durch, aus denen er als Ergebnis u.a. publizierte, dass spontane Mutationen ungerichtet sein können, und dass die meisten Mutationen rezessiv sind und sich negativ auswirken, z.B. letal sind. Er fand auch als erster einen Zusammenhang zwischen Mutationsrate und Körper- oder Umgebungstemperatur. 1920 wechselte er an die Universität von Texas in Austin, wo er bis 1932 blieb. Dort setzte er 1923 in seinen Versuchen auch Röntgenstrahlen als mutagenes Agens ein und 1925 konnte er erstmalig bei *Drosophila* die Induktion von Mutationen durch Röntgenstrahlen und Radium nachweisen.

1932 nahm er ein Angebot an, in der von Nikolai Vladimir Timoféeff-Ressovsky geleiteten Abteilung des Kaiser-Wilhelm- Instituts in Berlin als Gastwissenschaftler zu arbeiten. Timoféeff-Ressovsky war damals einer der prominentesten Mutationsforscher in Deutschland, der Mutationsforschung mit *Drosophila* auch schon betrieb und mit Muller eine Zusammenarbeit wollte. Muller traf in Berlin auch den späteren Nobelpreisträger für Genetik Max Delbrück, auf den im Folgenden noch eingegangen wird.

Da sich Muller während der Jahre in Texas einerseits immer wieder kritisch zum Kapitalismus geäußert und eine sehr linksgerichtete illegale Studentenzeitschrift herausgegeben hatte, war er in den USA in berufliche Schwierigkeiten gekommen. Als kurz nach seiner Ankunft in Berlin die Nationalsozialisten 1933 an die Macht kamen, verließ er Berlin und ging in die Sowjetunion. In Leningrad etablierte er ein *Drosophila*-Labor, was er aber schon 1934 nach Moskau verlegen musste. Die Arbeiten über die Mutationsinduktion mit Röntgenstrahlen führte er in Moskau vielfältig weiter. Nebenher schrieb er sein Buch „Out of the Night“, das aber in den USA veröffentlicht wurde. Darin stellte er u.a. auch seine kritische Einstellung zum Lamarckismus und zur Eugenik dar und bezog in seine Kritik auch die so beeinflusste sowjetische Staatsgenetik jener Zeit ein, propagiert und vertreten durch Trofim Lysenko (1898-1976). In einem langen Brief versuchte er außerdem Stalin davon zu überzeugen, dass die Lehre von Lysenko irrig, abwegig und sogar betrügerisch sei. Er hatte mit dem Buch und dem Brief bei Stalin aber keinen Überzeugungserfolg. Stalin ordnete eine Kampagne gegen das Buch und Muller selbst an. Muller sah sich daraufhin 1937 gezwungen, die Sowjetunion zu verlassen.

Er ging zunächst nach Spanien, wo er sich im Bürgerkrieg gegen Franco engagierte, und dann von dort nach Edinburgh, wo er die nächsten 3 Jahre blieb und - auch zusammen mit Charlotte Auerbach - *Drosophila*-Experimente plante und durchführte. 1940 ging er zurück in die USA. Wahrscheinlich wegen seiner „linken“ Vergangenheit bekam er an staatlichen

Universitäten keine Anstellung, aber am „Amherst College“ in Massachusetts. Das „Amherst College“ ist eine hoch angesehene, privat finanzierte Institution, die vor allem auf ein hohes Bildungsniveau ihrer Mitarbeiter Wert legt und keine Einschränkungen bezüglich Weltanschauung und/oder Religion macht. Dort bot man ihm in der Zeit bis 1945 an, auch am besonders gut finanzierten „Manhattan-Projekt“ mitzuarbeiten. Allerdings hatte man ihm nicht gesagt, dass es sich dabei um das Projekt zum Bau der Atombombe handelte.

1945 wurde er Professor für Zoologie an der Indiana Universität in Bloomington (IN).

1946 erhielt er den Nobelpreis für Medizin für seine Arbeiten zur Mutationsinduktion durch Röntgenstrahlen. Muller starb 1967 in Indianapolis.

Das eben erwähnte Kaiser-Wilhelm-Institut in Berlin war eine weltweit hoch angesehene Forschungsinstitution. Ursprünglich war es ein Institut für Neurologie und Hirnforschung, das 1919 von dem damals bedeutenden Hirnforscher Oskar Vogt gegründet und danach von ihm als Direktor geleitet worden war.

Vogt hatte bei einem Aufenthalt in Moskau, zu dem er von der sowjetischen Regierung eingeladen worden war, um die Leitung bei der Präparation von Lenins Gehirn zu übernehmen, den jungen Studenten der Zoologie Nikolai Vladimir Timoféeff-Ressovsky kennen gelernt, der Röntgenstrahlen in Mutationsversuchen mit *Drosophila* einsetzte. Vogt wollte diese Forschungsrichtung am Kaiser-Wilhelm-Institut in Berlin ebenfalls etablieren, und lud ihn daher ein, als Gastforscher bei ihm zu arbeiten. Er kam 1925, baute ein Laboratorium für Mutationsforschung und Genetik auf, und ging danach nicht mehr zurück in die Sowjetunion. Obwohl er nie ein Examen abgelegt hatte, wurde er später Direktor dieses Laboratoriums, das den Status eines „Instituts für Mutationsforschung“ erhielt.

Im Jahr 1932 wurde auch der Physiker Max Delbrück (1906-1981) und 1934 der Physiker Karl Günter Zimmer (1911-1988) Mitarbeiter in diesem Institut. Mit diesen beiden Wissenschaftlern veröffentlichte Timoféeff-Ressovsky 1935 eine der wichtigsten Theorien der Mutationsforschung, nämlich die biophysikalisch begründete „Treffertheorie“, mit der die Dosis-Wirkungsbeziehungen bei der biologischen Wirkung von ionisierenden Strahlen in Beziehung zu postulierten kritischen „Trefferbereichen“ in den biologischen Objekten gesetzt wurden. Der Titel der Arbeit war: „*Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur*“, (Nachr.Ges.Wiss.Göttingen,6,N.F.1;Nr.13,1935). Die Theorie sagte, dass eine ausreichende Energieübertragung im kritischen „Trefferbereich“, die für das Molekül oder das Objekt inaktivierend ist, oder bei mehr als einem kritischen „Trefferbereich“ die inaktivierende Energieübertragung in allen „Trefferbereichen“, die Inaktivierung des Objekts oder des Organismus bewirkt. Die quantitativen Inaktivierungsbeziehungen zwischen Strahlendosis und biologischer Strahlenwirkung konnten so erklärt werden. Die Eintreffer- und Mehrtreffer-Inaktivierungskurven bei „einfacheren“ biologischen Objekten (Moleküle, Viren und/oder einfacheren zellulären Organismen) und bei komplexeren biologischen Objekten (pflanzliche und tierische Zellen, isoliert oder im Gewebe- oder Organverbund), wurden damit einer quantitativen Wirkungsanalyse zugänglich.

Die Arbeitsgruppe Timoféeff- Ressovsky, Delbrück und Zimmer war eine der wichtigsten in der Mutationsforschung in Deutschland in den 1930iger und 1940iger Jahren, aber auch weltweit. Timoféeff-Ressovsky blieb Staatsbürger der Sowjetunion trotz der politischen und kriegerischen Ereignisse in Deutschland und Europa in den Jahren bis 1945. Eine 1937 an ihn gerichtete Aufforderung der sowjetischen Regierung, nach Moskau zurückzukehren, hatte er ignoriert, was 1945 nach dem Einmarsch der Roten Armee zu seiner Verhaftung und Deportation in ein Arbeitslager führte. Er blieb 10 Jahre in Haft, durfte aber ab 1947 im Rahmen eines Forschungsprogramms der sowjetischen Atombehörde radioökologische Untersuchungen durchführen, jedoch ohne Publikationsmöglichkeiten.

Nach heftigen Protesten der internationalen Mutationsforscher-Gemeinschaft und nach dem Tod von Stalin im Jahr 1953 wurde er rehabilitiert. Durch die Arbeit und die schlechte

Ernährung im Arbeitslager und während der nicht optimalen Gesundheitsfürsorge in den folgenden Jahren der Inhaftierung hatte er aber einen Großteil seiner Sehkraft eingebüßt. Er wurde später noch Direktor eines biophysikalischen Labors der Akademie der Wissenschaften der UdSSR und ab 1964 Direktor einer Abteilung für Genetik und Radiologie in Obninsk, einer Provinzstadt im Südwesten von Moskau, in der 1954 der erste Kernreaktor der Sowjetunion, der nur für Forschungszwecke gebaut worden war, in Betrieb genommen wurde. Timoféeff-Ressovsky starb 1981 in Obninsk.

Zu den beiden schon erwähnten Physikern Max Delbrück und Karl Günter Zimmer muss noch Folgendes gesagt werden.

Max Delbrück (1906-1981) hatte Physik in Göttingen studiert. Promoviert wurde er 1929 mit einer Arbeit in Quantenelektrodynamik. Ab 1932 war er Mitarbeiter im Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem in der Arbeitsgruppe von Timoféeff-Ressovsky. Mit ihm veröffentlichte er 1935 eine viel beachtete Arbeit über Genmutationen, in der vorgeschlagen wurde, Gene formal als Atomverbände zu betrachten. Zusammen mit der schon zitierten Treffer-Theorie-Arbeit, die auch 1935 veröffentlicht wurde, begann damit eine wichtige Neuorientierung der modernen Mutations- und Genetikforschung. Max Delbrück ging 1937 in die USA an das Caltech in Pasadena /Los Angeles, wo er in den späteren 1940iger Jahren zusammen mit dem Mikrobiologen Salvador Edward Luria (1912-1991) und dem Bakteriologen Alfred Day Hershey (1908-1997) genetische Experimente mit Bakteriophagen machte, deren Vermehrungsprozesse dadurch aufgeklärt werden konnten. Mit *Drosophila* arbeitete er weiter über die Quantenchemie und ihre Relevanz für Mutationen. Delbrück, Luria und Hershey schufen bedeutende Grundlagen für die zukünftige Entwicklung der Molekularbiologie und der Genetik.

Für diese Arbeiten erhielten sie 1969 gemeinsam den Nobelpreis für Physiologie und Medizin.

Karl Günter Zimmer (1911-1988) kam im Jahr 1934 als Photochemie-Physiker zur Gruppe von Timoféeff-Ressovsky. Er wurde 1935 der Co-Autor der Treffertheorie-Arbeit (s. oben). Er blieb in der Arbeitsgruppe bis zum Ende des 2. Weltkriegs im Jahr 1945 und veröffentlichte in dieser Zeit zahlreiche Arbeiten über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf Mutationsprozesse bei *Drosophila*, Mikroorganismen und Viren. Im Juli 1945 wurde er zusammen mit allen anderen Mitarbeitern des dann in Berlin-Buch befindlichen Kaiser-Wilhelm-Instituts von der sowjetischen Militärregierung nach Russland deportiert, wo er unter haftähnlichen Bedingungen am Nuklearprogramm der Sowjetunion mitarbeiten musste. Nach 10 Jahren konnte Zimmer in den Westen ausreisen. Nach einer Übergangszeit in Schweden wurde er 1956 zum Direktor des Instituts für Strahlenbiologie im Kernforschungszentrum bei Karlsruhe berufen, verbunden mit einem Lehrstuhl an der Universität Heidelberg. Als er 1957 sein Institut aufbaute, war ich einer der jungen wissenschaftlichen Mitarbeiter, den er einstellte, da ich während meines Biologie-Studiums der an der Technischen Hochschule Darmstadt 1955 eine strahlenbiologische Diplomarbeit angefertigt und auch eine Diplomprüfung im Fach Strahlenbiologie abgelegt hatte.

Ein weiterer Genetiker, der in der Mutationsforschung wesentliche Beiträge geleistet hat, der hier auch erwähnt werden muss, war Alexander Hollaender (1898-1986). Er war in Deutschland geboren und 1921 in die USA ausgewandert. Sein Hauptarbeitsgebiet war die Chemo-Strahlenbiologie und die genetische Wirkung von atomarer Strahlung, über die er zahlreiche Arbeiten publiziert hat. Von 1946 bis 1966 war er Direktor am Oak Ridge National Laboratory der US-Atomenergie-Kommission in Tennessee.

In den 20iger, 30iger und 40iger Jahren des 20. Jahrhunderts gab es in Deutschland neben der Timoféeff-Gruppe natürlich auch noch eine ganze Reihe von Wissenschaftlern in den Disziplinen Medizin, Physik, Chemie und Biologie, die zur Mutationsforschung bedeutende Beiträge geleistet haben, die ich aber hier nicht alle aufzählen kann. Erwähnen

will ich aber stellvertretend zwei Wissenschaftler: Einmal Boris Rajewsky (1893-1974), der in Frankfurt am Main Direktor des Instituts für Biophysik war. Aus seiner Schule kamen eine ganze Reihe von Biologen, Chemikern und Medizinern, die als Leiter von strahlenbiologischen Arbeitsgruppen Mutationsforschung in Deutschland betrieben und weiter entwickelten. Zu ihnen gehörte auch der Mediziner Otto Hug, der ab 1960 das Institut für Strahlenbiologie der Universität München und die strahlenbiologische Abteilung der „Gesellschaft für Strahlenforschung“ (GSF) in Neuherberg bei München leitete, an der ich von 1962 bis 1968 Mitarbeiter auf dem Gebiet der Mutationsforschung mit tierischen und menschlichen Zellkulturen war.

Und zum anderen will ich noch einen Botaniker und Genetiker besonders erwähnen. Es war der Mitgründer der GUM Hans Marquardt, der 2009 im 100. Lebensjahr verstorben ist. Er war in Freiburg i.Br. an der Universität Direktor des Instituts für Forstbotanik. Von 1937 an hat er vor allem an Wurzel-Meristemzellen als erster die Entstehung von Mikrokernen nach Röntgenbestrahlung beschrieben und den Mechanismus ihrer Entstehung aufgeklärt.

Ich konnte in diesem zeitlich begrenzten Vortrag aber nur einige besonders herausragende Mutationsforscher vorstellen, die seit 1900 in Europa und in den USA gearbeitet haben.

Zum Schluss dieser Liste muss ich aber noch besonders über eine Forscherin sprechen, die mit einer ihrer Publikationen, vielleicht mit ihrer wichtigsten, eine ganz neue Richtung in der Mutationsforschung eröffnet hat, nämlich die Mutationsforschung mit chemischen Agenzien.

Es ist Charlotte Auerbach.

Schon in den frühen Jahren der Mutationsforschung war vielfach versucht worden, Mutationen auch mit anderen Mitteln als Röntgenstrahlung zu induzieren, z.B. durch Temperaturänderungen, Wärme oder Kälte. Auch Versuche zur Mutationsinduktion durch Behandlung der Versuchsobjekte mit verschiedensten chemischen Agenzien waren durchgeführt worden, aber mehr oder weniger erfolglos. So schreibt Timoféeff-Ressovsky 1937 in seinem Buch „*Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre*“ (Verlag Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig) in der Zusammenfassung des Kapitels VIII „Auslösung von Mutationen durch Temperatur und andere Außenfaktoren“:

Zitat: „Aus allen bisher durchgeführten Versuchen über Beeinflussung der Mutationsrate durch Chemikalienbehandlung geht hervor, dass zwar in einigen Fällen eine Andeutung auf einen positiven Effekt gefunden wurde, dass aber im allgemeinen die Gene gegen chemische Behandlung weitgehend resistent sind....Trotzdem muss auf diesem Gebiet weiter gearbeitet werden...,da die chemische Behandlung Aussicht hat,...mehr oder weniger spezifisch den Mutationsprozess zu beeinflussen.“ Zitat Ende.

Charlotte Auerbach (1899-1994) hatte 1941 zum ersten Mal in gemeinsam mit dem Chemiker J.M. Robson (1900-1982) durchgeführten Experimenten bei Drosophila mit der chemischen im ersten Weltkrieg als Kampfgas eingesetzten Substanz „Senfgas“ (=Stickstoffdioxid, Dichlordiethylsulfid) konzentrationsabhängig Mutationen induzieren können. Die Ergebnisse konnten aber wegen Restriktionen für derartige wissenschaftliche Publikationen erst 1945 nach dem Ende des 2. Weltkriegs veröffentlicht werden.

Charlotte Auerbach wurde 1899 in Krefeld geboren. Ihr Berufsweg wurde durch die politischen Wirren der 1920iger und 1930iger Jahre mehrmals unvorhersehbar verändert und sie kam erst auf Umwegen zur Mutationsforschung. Nach dem Abitur 1919 in Berlin studierte sie Biologie in Würzburg, Freiburg und Berlin mit dem Ziel des Höheren Lehramts. Nach dem Staatsexamen 1924 wurde sie in Berlin Lehrerin an Privatschulen, da ihr schon damals ein Eintritt in den Staatsdienst als Jüdin nicht gelang. In dieser Zeit hatte sie aber schon Verbindungen zu Timoféeff-Ressovsky und wusste von seinen Drosophila Experimenten im Kaiser-Wilhelm-Institut. Dadurch dachte sie auch gelegentlich an eine Tätigkeit als Wissenschaftlerin in der Genetik- und Mutationsforschung. Als nach der Machtübernahme der Nationalsozialisten die allgemeinen Berufsaussichten für Deutsche jüdischen Glaubens immer mehr in Frage gestellt wurden, verließ sie 1933 Deutschland und erhielt in Edinburgh im Institut für Tierzuchtforschung bei minimaler Bezahlung eine

Anstellung als „Sittich-und Fliegenpflegerin“. Dort hatte sie aber die Gelegenheit, sich die Techniken der Drosophila-Zucht anzueignen und die Arbeiten der Mutationsforschung mit Drosophila kennen zu lernen. 1935 konnte sie dann dort mit einer Drosophila-Arbeit promovieren.

Wie schon erwähnt, war H.J. Muller 1937 für 3 Jahre nach Edinburgh gekommen, nachdem er die Sowjetunion verlassen hatte. Das war ein unvorhergesehener Glücksfall für sie, denn er regte an zu versuchen, geschlechtsgebunden-rezessive Letalmutanten mit Krebs-erzeugenden Polycyclen bei Drosophila zu induzieren, also im Vergleich zu seinen Ergebnissen mit Röntgenstrahlen nun mit chemischen Agenzien. Dies gelang aber nicht. Dagegen gelang die Induzierung von solchen Mutationen mit anderen chemischen Substanzen, nämlich mit alkylierenden Substanzen wie Isothiocyanaten und Epoxiden.

Charlotte Auerbach nahm dann neben Drosophila auch Mäuse, Hefen und Neurospora als Versuchsobjekte in ihre Experimente auf. Sie blieb, abgesehen von Aufenthalten bei H.J. Muller, nachdem er seit 1940 wieder in den USA war, und in den strahlengenetischen Laboratorien des US-Atomforschungszentrums Oak Ridge bei Alexander Hollaender, immer in Edinburgh. 1959 wurde sie zur Leiterin der für Edinburgh neu gegründeten „Mutagenesis Unit“ des Medical Research Councils berufen. 1967 erhielt sie den Professorentitel und wurde auch Mitglied der US National Academy of Sciences. 1969 wurde sie emeritiert. Sie starb 1994 in Edinburgh.

In Deutschland waren in den 1940iger Jahren auch Untersuchungen zur Induktion von Mutationen mit Chemikalien durchgeführt worden. Der Freiburger Botaniker Friedrich Oehlkers (1890-1971) veröffentlichte 1943 Ergebnisse aus Experimenten mit Urethan, das bei *Antirrhinum majus* (Großes Löwenmaul) Mutationen bewirkt hatte. Auf die Gefahren, dass Chemikalien --und auch Arzneimittel-- Mutationen induzieren können, hat der Münchner Botaniker Alfred Barthelmeß (1910-1987) mit seinem 1959 veröffentlichten Buch „Gefährliche Dosis: Erbgesundheit im technischen Zeitalter“ aufmerksam gemacht. Ebenso hat der Berliner Genetiker Herbert Lüers (1910-1978) auf diese Möglichkeiten hingewiesen. Von anderen Ländern ist auszugsweise zu erwähnen, dass das Institut für Genetik der Universität Kopenhagen unter Mogens Westergaard (1912-1975) in den 1940iger und 1950iger Jahren an *Neurospora crassa* (Ascomycet) die Mutagenese durch UV-Strahlung allein und in Kombination mit Chemikalien wie Formaldehyd nachwies, in der Sowjetunion zeigte in den 1940iger Jahren mit Drosophila der Genetiker A.J. Rapoport die Mutationsinduktion mit Chemikalien, und in den Niederlanden war es Frits Sobels (1922-1993), der in den 1950iger Jahren bei Drosophila über die Mutationen-auslösende Wirkung von Dihydroxydimethylperoxid berichtete, das sich bei der Einwirkung von UV auf Formaldehyd bilden kann.

Der Beginn der Mutationsforschung mit chemischen Agenzien war damit Realität geworden.

Mit Charlotte Auerbach und den eben erwähnten Genetikern ist zeitlich die zweite Hälfte des 20. Jahrhunderts erreicht worden. Nach der Darstellung der Anfänge der Mutationsforschung würde sich jetzt die Betrachtung der heute modernen Theorien und Techniken der Mutationsforschung anzuschließen haben, was aber der Inhalt eines weiteren Vortrags wäre. Deshalb soll darauf hier nicht eingegangen werden, da die restliche für den Vortrag vorgesehene Zeit für eine kurze Darstellung der Geschichte der frühen Gewebezücht- und Zellkulturforschung verwendet werden soll. Denn die Mutationsforschung war seit den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts auch eng mit der Zellforschung verbunden, insbesondere durch das Bemühen, Zellen von Wirbeltieren und --später auch vom Menschen-- zu Forschungszwecken unter künstlich geschaffenen Bedingungen in Kulturen am Leben und funktionstüchtig zu halten.

Versuche zur Haltung von lebenden tierischen Zellen für einige Zeit außerhalb des Organismus' gab es schon vor mehr als 100 Jahren. So konnte der Anatom und Embryologe

Wilhelm Roux (1850-1925) 1885 embryonale Hühnerzellen in isotonischen Salzlösungen für einige Tage am Leben halten.

Der erste „Gewebezüchter“ aber war der US-Amerikaner Ross Granville Harrison (1870-1959), ein Embryologe, der bei Literaturstudien auf die neuroanatomischen und histologischen Arbeiten des Spaniers Santiago Ramon y Cahal (1852-1934) gestoßen war. Cahal war der in seiner Zeit führende Neuroanatom, der die Strukturen des Zentralnervensystems von Vertebraten und des Menschen detailliert in einer bis heute unübertroffenen Genauigkeit und Klarheit zeichnerisch dargestellt hatte. Harrison war fasziniert von den dargestellten neuronalen Strukturen und fragte sich – wie Cahal auch – wie sich diese filigranen Strukturen bilden und zu einem Nervensystem werden. Er machte daher 1907 ein Experiment, das als Beginn der Gewebezüchtkultur und Zellkulturforschung gilt: Er entnahm Stücke des Neuralrohrs eines Frosch-Embryos und setzte sie in einem Hohlschliffobjektträger in einen Tropfen Froschlymphe. In dieser als „Primärkultur“ zu bezeichnenden „in vitro- Kultur“, konnte er über mehrere Tage das „Ausschieben“ von neuronalen Fortsätzen beobachten. Über eine Zellvermehrung hat er nichts berichtet.

Ein bedeutsamer Fortschritt bei der Haltung von Geweben und Zellen in Kultur gelang dann dem französischen Gefäßchirurgen und Transplantationsmediziner Alexis Carrel (1873-1944). Er entwickelte für außerhalb der Organismen am Leben zu haltende Organe und Gefäße geeignete Mineralsalz- und Hilfslösungen, die eine zeitlich ausgedehnte Haltung unter physiologischen Bedingungen ermöglichten. Die von ihm entwickelten physiologischen Lösungen, auch angereichert mit Hühner-Embryo-Extrakten, was ihm Harrison empfohlen hatte, fanden dann als „Medien“, bzw. „Nährmedien“ in weiter optimierter Zusammensetzung Eingang in die Zellkulturtechniken seines Labors. Damit legte er im Januar 1912 eine Gewebekultur von Herzzellen eines Hühnchen-Embryos an. Diese Kultur konnte in seinem Labor über 34 Jahre am Leben gehalten werden. Neben Harrison war somit Alexis Carrel der Begründer der tierischen Zellkultur.

Für seine Techniken zur Transplantation von Organen und Blutgefäßen und ihre physiologische Haltung außerhalb des Organismus' erhielt er 1912 der Nobelpreis für Medizin.

Diese Techniken der Kultivierung von Gewebeexplantaten wurden weltweit in vielen Laboratorien etabliert und optimiert, natürlich auch in Deutschland. Gewebestücke oder Organteile wurden in der Regel in einen Hühner-Plasma-Serum-Clot (=Koagulum) gesetzt und durch Umsetzen in frisch angesetzte neue Clots im Abstand von Tagen oder Wochen am Leben gehalten. Das Verhalten der Zellen im Gewebestück oder von daraus ausgewanderten Zellen konnte so mikroskopisch verfolgt werden. Morphologische, biochemische und auch chromosomale Veränderungen, ohne und mit über das Haltungsmedium zugegebenen Agenzien, konnten so beobachtet und registriert werden. Analysen an einzelnen Zellen waren aber schwierig. Das gelang befriedigend erst später in den Kulturen von einzelnen, aus dem Gewebeverband isolierten Zellen.

Unter den Laboratorien, die die Techniken der Gewebekultur aus explantiertem Material besonders beherrschten und eine herausragende Stellung hatten, ist in Deutschland das Labor von Else Knake (1901-1973) in Berlin am Max-Planck-Institut für Vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie zu nennen.

Else Knake war Schülerin der Zoologin Rhoda Erdman (1870-1935), die 1919 in Berlin am Institut für Krebsforschung der Charité eine Abteilung für Experimentelle Zellforschung aufgebaut hatte. Bei ihrer Habilitation im Jahr 1920 hatte ihre Antrittsvorlesung den Titel: *„Über die Bedeutung der Gewebezüchtung für die Zoologie“*. Sie gilt als Mitbegründerin der experimentellen Zellbiologie nicht nur in Deutschland, sondern weltweit.

Else Knake war in den 1940iger und 1950iger Jahren eine der ersten Adressen in der Forschung mit Gewebekulturen. Ich habe 1955 bei ihr die Techniken der Explantat-



Gewebezucht gelernt. Für die Mutationsforschung haben diese Techniken heute vor allem noch eine Bedeutung für die Isolierung / Etablierung von Zelllinien aus Gewebeexplantaten.

Seit Anfang der 1950iger Jahre werden aber in der Mutationsforschung vor allem die Methoden bzw. Techniken zur Herstellung von so genannten Monolayer-Zellkulturen eingesetzt, d.h. Kulturen aus meist einschichtigen „Zellrasen“, die sich aus vereinzelt Zellen bilden können. Eines der ersten Laboratorien in Deutschland, wo diese Techniken u.a. für Zytotoxizitätsbestimmungen bei der Produktion von Polio-Impfstoffen eingesetzt wurden, gab es in den Emil-von-Behring-Werken in Marburg. Ich konnte dort 1956 diese Technik erlernen und sie in den folgenden 40 Jahren vielfach einsetzen, z.B. auch in Chromosomenanalysen. Die Vereinzeltung der Zellen aus Gewebeexplantaten oder aus einem Zellrasen wird z.B. durch Enzymeinwirkung, meistens durch schonende Trypsin-Einwirkung, erreicht. Auf die technischen Details kann ich hier nicht weiter eingehen.

Mit dieser Methode wurde 1951 erstmals eine Zellkultur erhalten, von der die erste menschliche „Zelllinie“ etabliert werden konnte. Als die schwarze 31-jährige Henrietta Lacks im Johns-Hopkins-Hospital in Baltimore (Md) im Januar 1951 an einem Gebärmutterhalskrebs operiert wurde, war George Otto Gey (1899-1970) der Leiter des Gewebezuchtlabors in diesem Hospital (seine Eltern waren aus Deutschland eingewandert). Er erhielt, wie auch sonst von operierten Patienten, für sein Labor etwas Material von dem Tumorgewebe, um eine „Primärkultur“ für Forschungszwecke anzulegen. Mit den physiologischen Lösungen, die er als Nährmedien zur Haltung von solchen Tumorexplantaten verwendete, versorgte er die Tumorzellen der Henrietta Lacks, die nach regelmäßigen Mediumwechseln anfangen sich zu vermehren. Es konnten dann immer häufiger Subkulturen angelegt werden. Als Henrietta Lacks 9 Monate nach der Operation starb, vermehrten sich die Zellen von ihrem Tumor in der Kultur noch immer regelmäßig: Es war die erste sich permanent vermehrende Zellkultur aus menschlichem Gewebe entstanden. Gey gab der Kultur die aus dem Namen der Patientin abgeleitete Bezeichnung „HeLa“. Als solchen unter in vitro-Bedingungen sich permanent vermehrenden Zellkulturen das Attribut „Zelllinie“ zugeordnet wurde, war aus der HeLa-Zellkultur dann die HeLa-Zelllinie geworden. Subkulturen von ihr wurden von Gey an viele Laboratorien zu Versuchszwecken abgegeben, und zwar weltweit.

Von ihren ursprünglichen Eigenschaften bezüglich Zellmorphologie, Proliferation, Vitalität und genetische Stabilität u.a. sind aber im Laufe der Jahrzehnte der Kultivierung in den vielen verschiedenen Laboratorien die dort vorhandenen HeLa-Zelllinien nicht mehr mit den im Labor von Gey etablierten HeLa-Zellen identisch.

Inzwischen ist es aber allgemeine Praxis, dass die Identifizierung von Zelllinien unter anderem auch durch eine Analyse des Karyotyps durchgeführt wird, also durch die Identifizierung des Zelllinien-spezifischen Chromosomensatzes. 1952 wurde die Technik hierzu (= „Spreitungstechnik“) im MD Anderson Hospital in Houston /Texas im Labor von Tao-Chiuh Hsu (1917-2003) mit verschiedensten Säuger-Zellen entwickelt. Ich habe sie bei ihm 1962 erlernen können.

T.C.Hsu hat in einem von ihm über Jahre erstellten Katalog von zahlreichen Säugern und anderen Wirbeltieren die Chromosomensätze beschrieben und charakterisiert.

Mit dieser Technik wurde 1956 von zwei Zytologen ein bedeutendes Ergebnis für die weitere Entwicklung der Mutationsforschung gefunden. Es war der Nachweis, dass normale menschliche Zellen nicht 48 Chromosomen haben – wie in der Literatur bis dahin beschrieben – sondern 46. Der eine Zytologe war der Schwede Albert Levan (1905-1989) von der Universität Lund und andere war der Indonesier chinesischer Abstammung Joe Hin Tjio (1916-2001), der in den Jahren 1948 -1959 in Spanien arbeitete und Chromosomenstudien bei Pflanzen durchführte. Als er 1956 als Gast für ein paar Wochen bei Levan Chromosomenstudien in dessen Labor machte, gelang ihm die Darstellung der 46 menschlichen Chromosomen mit der von T.C.Hsu publizierten Spreitungstechnik.

Auf dem Gebiet der Chromosomenanalyse und Zellkulturforschung ist noch ein US-amerikanischer Wissenschaftler zu nennen, der besonders in den 1960er Jahren – aber auch schon in den Jahren davor – ganz wesentlich zur Entwicklung der Mutationsforschung beigetragen hat.

Es ist Theodore T. Puck (1916-2005), der über Mutationshäufigkeiten, Strahlengenetik und DNA-Reparatursysteme, vor allem in Zellkultursystemen, gearbeitet hat. Zudem war er in der Optimierung der Zellkulturtechniken wegweisend. Sein besonderes Interesse war aber die Verwendung von Säugerzellen und menschlichen Zellen in der Mutationsforschung. Dabei lag ein Schwerpunkt seiner Arbeit auf der Karyotyp-Charakterisierung von „normalen“ Zellen und von solchen aus Tumoren oder Zelllinien mit strukturell oder numerisch aberranten Chromosomen. Er war wesentlich dafür verantwortlich, dass Schwierigkeiten bei der Vergleichbarkeit von Chromosomenanalysen menschlicher Zellen von verschiedenen Laboratorien ausgeräumt wurden, die dadurch entstanden, dass unterschiedliche Bewertungskriterien für Form und strukturelle Charakteristiken der Chromosomen verwendet wurden. T.T. Puck organisierte daher 1960 in Denver eine Konferenz, an der damals führende Mutationsforscher teilnahmen, die mit menschlichen Zellen arbeiteten. Diese Gruppe beschloss, dass bei Darstellungen menschlicher Chromosomen ein einheitliches System zur Beschreibung der Chromosomenstruktur und –größe zu verwenden ist, das nach dem Ort der Konferenz als „Denver System of Human Chromosome Classification“ Eingang in die Literatur und Praxis fand. Zwei weitere Konferenzen haben später diese Vereinbarungen noch zusätzlich konkretisiert.

Wie ging nun die Mutationsforschung nach diesen Jahren von 1900 bis etwa 1960 weiter ?

Die Mutationsforschung nach den 1960er Jahren ging in zwei Richtungen. Einmal in die Richtung der Grundlagenforschung und zum anderen in die Richtung der angewandtorientierten Forschung, in der sich dann die Mutagenitätsforschung entwickelte, die in den letzten Jahrzehnten einen stürmischen Verlauf mit der Entwicklung neuer Methoden nahm. Beschleunigt wurde diese Entwicklung auch von dem zunehmenden Bewusstsein von Problemen in unserer Umwelt. Die vermehrt aufgedeckten schädigenden Einflüsse von chemischen Agenzien im weitesten Sinne, sowie von ionisierender Strahlung – oder auch UV-Strahlung – forderten neue Strategien zur Suche nach den Ursachen und deren Beseitigung heraus. Dazu wurde ein immer größer werdendes Spektrum von neuen Methoden und von quantitativen Analysemöglichkeiten entwickelt, angefangen von verschiedenen Zytotoxizitätstest und dem Ames-Test, über die verschiedenen Chromosomentests, den Felfleckentest, den HPRT-Test und bis zu DNS-Schäden erfassenden Tests wie dem Comet-Assay, um aus der Vielzahl der heute zur Verfügung stehenden in vivo-, hauptsächlich aber in vitro-Tests, einige zu nennen.

Als diese Entwicklung Ende der 1960er Jahre sich anbahnte, gab es keine spezifisch ausgerichtete Fachgesellschaft für die theoretische und praktische Bearbeitung der Aspekte der Mutations- und Mutagenitätsforschung. Daher trafen sich am 16. Februar 1971 Wissenschaftler aus deutschen Laboratorien, die mit Mutationsforschung und Mutagenitätsstudien vertraut waren, um eine wissenschaftliche Fachgesellschaft für diese beiden Forschungsrichtungen ins Leben zu rufen. Angeregt dazu hatten vor allem die späteren GUM-Ehrenmitglieder Hans Marquardt aus Freiburg und Gunter Röhrborn, damals in Heidelberg.

Die persönliche und besondere Unterstützung für die Gründung einer solchen wissenschaftlichen Gesellschaft auf dem Gebiet der grundlagen- und praxisorientierten Mutationsforschung kam auch von einem der Senioren der deutschen Krebsforschung, dem Heidelberger Chirurgen und Gründer des Deutschen Krebsforschungszentrums Heidelberg Karl Heinrich Bauer (1890-1978). Er hatte aus seiner beruflichen Erfahrung den Zusammenhang zwischen Krebsentstehung und zellulärem Mutationsgeschehen schon lange gesehen.

H.G.Miltenburger: Mutations-und Zellkulturforschung...

Am 2. August 1971 wurde die Neugründung mit dem Namen „Gesellschaft für Umwelt-Mutationsforschung (GUM)“ in das Handelsregister in Heidelberg eingetragen. Zum ersten Vorsitzenden wurde Hans Marquardt gewählt.

2011 besteht die GUM also dann 40 Jahre.

Die bisherige Arbeit der GUM kann als außerordentlich erfolgreich bezeichnet werden. Auf ihrer Internet-Präsentation sind die bisherigen Themenbearbeitungen auf Tagungen, in Arbeitsgruppen und in Forschungsprojekten zu sehen.

Ich wünsche der GUM, die in der Tradition der Mutations- und Zellkulturforscher der ersten 60 Jahre des 20. Jahrhunderts gegründet wurde, weiterhin einen guten Fortbestand, damit sie die Aufgaben, die sie sich in ihrer Satzung vorgenommen hat zu bearbeiten, auch in der Zukunft so gut wie bisher erfüllen kann.