

Die gonadendifferenzierende Funktion von H-Y Antigen während der Vertebratenevolution

Autor(en): **Müller, Ulrich**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Jahrbuch der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft. Wissenschaftlicher und administrativer Teil = Annuaire de la Société Helvétique des Sciences Naturelles. Partie scientifique et administrative**

Band (Jahr): **160 (1980)**

PDF erstellt am: **16.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-90831>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Die gonadendifferenzierende Funktion von H-Y Antigen während der Vertebratenevolution

Ulrich Müller

Als H-Y Antigen (kurz: H-Y) bezeichnet man eine oder mehrere antigene Determinanten, die mit einem auf möglichst identischem genetischen Hintergrund erzeugten Antiserum, dem H-Y Antiserum, reagieren. Das H-Y Antiserum wird in der Regel durch Immunisierung weiblicher Tiere mit Haut- oder Milzzellen männlicher Tiere desselben isogenen Nagerstammes (Maus, Ratte) gewonnen. Da sich die beiden Geschlechter in isogenen Inzuchtstämmen genetisch nur durch das Y-Chromosom unterscheiden, müssen die Antikörper gegen ein Antigen oder Antigene auf den männlichen Zellen gerichtet sein, die in irgend einer Weise vom Y-Chromosom genetisch kontrolliert werden. Darauf soll das «Y» bei der Bezeichnung H-Y Antigen hinweisen; das «H» bedeutet «Histokompatibilitätsantigen».

H-Y findet sich auf fast allen Zellen nicht nur männlicher Nager, sondern aller untersuchter männlicher, nicht jedoch weiblicher Säuger. Darüber hinaus kann H-Y in niedrigeren Vertebraten wie Vögeln (Wachtel u. Mitarb., 1975a), Reptilien (Zaborski u. Mitarb., 1979), Amphibien (Wachtel u. Mitarb., 1975a) und Fischen (Müller und Wolf, 1979, Pechan u. Mitarb., 1975) geschlechtsspezifisch nachgewiesen werden, wobei das H-Y Antiserum entweder ausschliesslich oder aber überwiegend mit Zellen des heterogametischen Geschlechtes reagiert. Offensichtlich ist das durch das H-Y Antiserum definierte H-Y Antigen während der Evolution sehr stabil geblieben. Diese beiden Befunde, die Stabilität von H-Y während der Evolution einerseits und seine Geschlechtsspezifität andererseits sprechen für eine wichtige Aufgabe des Moleküls, die mit der primären Geschlechtsentwicklung, d.h. der Gonadenentwicklung, in Zusammenhang zu stehen scheint (Wachtel u. Mitarb., 1975b, Ohno, 1976). Zahlreiche Befunde machen eine testisdifferenzierende Funktion des H-Y Anti-

gens bei Säugern überaus wahrscheinlich. Hier will ich dies am Beispiel des Auftretens von Rinderzwicken verdeutlichen. Im Anschluss daran sollen Befunde zur Diskussion gestellt werden, die eine Rolle von H-Y bei der Gonadendifferenzierung auch niederer Vertebraten wahrscheinlich machen.

Das Auftreten von Zwicken ist seit langem als Beispiel abnormer Geschlechtsentwicklung bei Säugern bekannt. Bereits im 18. Jahrhundert wird berichtet, dass weibliche Kälber, die als Zwilling eines männlichen geboren werden, steril sind (Hunter, 1779). Die betroffenen Tiere zeigen starke Virilisierungserscheinungen der inneren Genitalien. Die Gonaden imponieren als Oovestestes oder kleine Testes. Differenzierungsprodukte der Müllerschen Gänge wie Uteri und Tuben sind häufig rudimentär oder fehlen ganz. Statt dessen finden sich Epididymis und Ductus deferens, die Derivate der Wolffschen Gänge (siehe Jost u. Mitarb., 1973).

Wie lässt sich diese partielle Geschlechtsumkehr erklären?

Die Kreisläufe von Rinderzwicken sind durch Anastomosen miteinander verbunden. Somit können Komponenten des männlichen Tieres in das weibliche gelangen und die beschriebenen Vermännlichungserscheinungen induzieren. Sowohl zelluläre als auch hormonelle Induktoren werden diskutiert. Die «zelluläre Hypothese» (Fechheimer u. Mitarb., 1963) basiert auf dem Befund, dass männliche Zellen im weiblichen Zwicken nachgewiesen wurden, die Zwicken somit XX/XY Chimären darstellen. Die männlichen Zellen sollten demnach die testikuläre Entwicklung der XX Gonade entweder direkt durch Zellkontakt oder durch virilisierende Stoffe veranlassen, die über kurze Strecken wirken. Diese Hypothesen erscheinen heute zweifelhaft. Das überzeugendste Gegenargument erbrachten die Untersuchungen von Vigier und Mitarbeitern (1976),

die gezeigt haben, dass sich die Virilisierung selbst nach Etablierung des XX/XY Chimarismus durch Unterbindung der Anastomosen verhindern lässt. Es bleibt zur Erklärung des Zwicken-Phänomens die «hormonelle Hypothese» (Lillie, 1916). Bis vor kurzem waren jedoch keine Stoffe bekannt, die a) vom männlichen Tier gebildet werden, b) humoral übertragen werden, c) an den Gonaden beider Geschlechter angreifen und so d) schliesslich testisdifferenzierend wirken können. Die seit langem bekannten männlichen Sexualsteroiden sind zwar für die sekundäre Geschlechtsentwicklung, d.h. die Reifung der Wolffschen Gänge, erforderlich, haben jedoch bei Eutherien keinen Einfluss auf die Gonadendifferenzierung (Jost u. Mitarb., 1973, Burns, 1961). Ebenso lässt das die Entwicklung der Müllerschen Gänge unterdrückende Anti-Müllersche Hormon (Josso u. Mitarb., 1973) die Gonadenreifung offenbar unbeeinflusst. Alle zur Unterstützung der hormonellen Hypothese benötigten Bedingungen werden aber von H-Y erfüllt.

Durch *in vitro* Versuche mit verschiedenen Geweben männlicher Ratten konnte gezeigt werden, dass nur Testiszellen nachweisbare Mengen von H-Y in das Kulturmedium abgeben. Die H-Y-Sekretion ist von Proteinsynthese abhängig und durch den Translations-Inhibitor Cycloheximid hemmbar (Müller u. Mitarb., 1978b). Während H-Y in die Zellmembran aller männlicher Zellen mit Ausnahme diploider Keimzellen (Zenzes u. Mitarb., 1978a) und Erythrozyten (Müller u. Mitarb., 1980b) integriert ist, scheinen nur Sertolizellen H-Y aktiv zu sezernieren. Die Fähigkeit zur H-Y Sekretion ist nicht auf das Embryonalstadium oder Neugeborenenalter beschränkt; selbst Testes adulter Tiere sezernieren H-Y. Das vom Testis gebildete H-Y wird *in vivo* offenbar in den Nebenhoden abgegeben, wo es reichlich nachweisbar ist. Ausserhalb der Geschlechtswege findet sich freies H-Y im Serum männlicher Säuger (Müller u. Mitarb., 1980b, Wachtel u. Mitarb., 1980b). Dabei ist unbekannt, ob das Molekül, vom Testis gebildet, in den Kreislauf gelangt, oder ob es von der Oberfläche nichtgonadaler Zellen in die Umgebung diffundiert. Auch das Serum embryonaler männlicher Rinder und von Zwicken enthält H-Y, nicht jedoch das Serum normaler weiblicher Rinderembryonen (Wachtel u. Mit-

arb., 1980b). Damit werden die beiden ersten oben genannten Anforderungen an eine testis-induzierende Substanz erfüllt: H-Y wird vom Testis sezerniert, findet sich im Serum männlicher Säuger und gelangt bei Rinderzwicken über die Anastomosen vom männlichen in das weibliche Tier.

Damit kommen wir zum dritten Postulat, der Möglichkeit der Interaktion des Testisinduktors mit den gonadalen Zielzellen. Da das gonadale Geschlecht – wie das Beispiel des Rinderzwicken zeigt – nicht unbedingt mit dem chromosomalen übereinstimmen muss, sollten die Gonaden beider genetischer Geschlechter mit einer Bindungsstelle, d.h. einem Rezeptor, für die testisinduzierende Substanz ausgestattet sein. Tatsächlich haben Bindungsstudien mit H-Y bei Ratten ergeben, dass sowohl Testis als auch Ovar exogen zugeführtes H-Y binden, somit mit einem spezifischen Rezeptor ausgestattet sind (Müller u. Mitarb., 1978a; Müller u. Mitarb., 1979a). Für nicht-gonadale Gewebe besteht kein Hinweis auf eine solche Bindungsstelle. Ovarien vom Rind binden ebenfalls H-Y und im Zwicken findet sich H-Y in den Gonaden (Ohno u. Mitarb., 1976). Das Vorhandensein von H-Y in der Zwickengonade mag zum Teil auf eingewanderte männliche Zellen zurückzuführen sein. Diese Erklärung ist zumindest nicht vollständig, da der H-Y Titer in der Freemartingonade dem in normalen Rindertestes vergleichbar ist (Wachtel u. Mitarb., 1980b), eine XX/XY Chimäre jedoch einen niedrigeren Titer erwarten liesse. Theoretisch könnte H-Y jedoch von den eingewanderten männlichen Zellen abgegeben und von den weiblichen gebunden werden (Ohno u. Mitarb., 1976). Dies erscheint unwahrscheinlich, da offenbar nur Sertolizellen H-Y aktiv sezernieren (Zenzes u. Mitarb., 1978a), nicht jedoch andere gonadale oder nicht-gonadale Zellen (Müller u. Mitarb., 1978b). Demnach bleibt als Erklärung des hohen H-Y Titers in der Zwickengonade die Annahme, dass das H-Y über die Anastomosen vom männlichen zum weiblichen Tier humoral gelangt. Dies wird um so wahrscheinlicher, als Ovarien, die *in vitro* mit männlichem fetalem Kälberserum inkubiert wurden, H-Y positiv werden (Wachtel u. Mitarb., 1980b).

Es bleibt noch die letzte Frage offen: Wirkt H-Y auch testisdifferenzierend? Mit anderen

Worten: Führt die Bildung des H-Y/Rezeptor-Komplexes zur Testisorganisation? Dieses Problem wurde zuerst mit Hilfe von Zell-Reorganisationsexperimenten nach Moscona bearbeitet (Moscona, 1957). Zerlegt man ein Ovar durch Proteolyse in Einzelzellen und belässt die Zellen für 16 bis 24 Stunden bei 37 °C in Rotationskultur, so bilden sich histotypische Reaggregate. Werden die Ovarzellen neugeborener Ratten auf dieselbe Weise, jedoch in Gegenwart von H-Y kultiviert, so bilden sich testikuläre Strukturen (Zenzes u. Mitarb., 1978b). Die zusätzliche Zugabe von H-Y Antiserum hebt die Wirkung von H-Y auf. Die H-Y induzierte Konversion scheint nicht nur morphologisch, sondern auch funktionell zu erfolgen. Im Mosconaexperiment wird der HCG Rezeptor, der nur auf Testiszellen Neugeborener vorhanden ist, auf konvertierten Ovarien ebenfalls nachweisbar (Müller u. Mitarb., 1978c).

Der entwicklungsphysiologisch direkteste Beleg für eine testisinduzierende Wirkung des H-Y wurde durch in vitro-Untersuchungen an indifferenten XX Gonaden von Rinderembryonen in Organkultur erbracht. Die mehrtägige Kultur der XX Gonaden in Anwesenheit von H-Y führt zur Ausbildung testikulärer Strukturen. In Abwesenheit des Differenzierungsfaktors entwickelt sich die Gonade, ihrem genetischen Geschlecht entsprechend, als Ovar (Nagai u. Mitarb., 1979). Für Eutherien ist damit eine massgebliche Rolle des H-Y Antigens bei der Testisdifferenzierung sehr wahrscheinlich. Über die genaueren Wirkungsmechanismen von H-Y bestehen z.Zt. jedoch nur Spekulationen (Ohno, 1976; Müller, 1980).

Im Gegensatz zu den plazentalen Säugern ist die Gonadendifferenzierung bei Marsupialiern und nicht-säugerartigen Vertebraten durch Sexualsterioide beeinflussbar (siehe Mittwoch, 1973). Das Vorhandensein von H-Y Antigen ist jedoch – wie oben ausgeführt – auch bei diesen Wirbeltierklassen weitgehend auf das heterogametische Geschlecht beschränkt (Gewebe des homogametischen Geschlechts absorbieren, wenn überhaupt, weitaus weniger H-Y Antiserum). Somit typisiert bei Vögeln mit dem ZZ/ZW Mechanismus der Geschlechtsbestimmung das weibliche Geschlecht H-Y positiv, der männliche Vogel ist negativ (Wachtel u. Mitarb., 1975a). Bei Amphibien kommen sowohl der

ZZ/ZW (z.B. bei *Xenopus*) als auch der XX/XY Mechanismus (z.B. bei *Rana*) vor. Entsprechend findet sich H-Y in ersterem Fall im weiblichen, in letzterem im männlichen Geschlecht (Wachtel u. Mitarb., 1975a). Selbst bei bestimmten Fischen wie Zahnkarpfen (Cyprinodontinae) kreuzreagiert das H-Y Antiserum mit dem heterogametischen Geschlecht (Müller und Wolf, 1979, Pechan u. Mitarb., 1979). Bei der Frage nach einer gonadendifferenzierenden Funktion von H-Y bei Nicht-Eutherien ergeben sich somit zwei zusätzliche Probleme. 1. Wirkt H-Y bei Vertebraten mit Heterogametie im weiblichen Geschlecht als Differenzierungsfaktor des Ovars? 2. Besteht eine Beziehung zwischen Sexualsteroiden und H-Y derart, dass H-Y durch diese Hormone induzierbar ist? Zur Beantwortung dieser Fragen haben wir Versuche mit geschlechtskonvertierten «männlichen» (ZZ) Vögeln durchgeführt (Müller u. Mitarb., 1979b, Müller u. Mitarb., 1980a). Die Gabe von Östrogenen am 3. oder 4. Embryonaltag führt bei genetisch männlichen (ZZ) Hühnern und Wachteln zu einer Feminisierung der Gonaden; es wird ein Ovotestis angelegt. Das Ausmass der gonadalen Geschlechtsumkehr erreicht noch während der Embryonalentwicklung ein Maximum. Später entwickelt sich die Gonade normalerweise – dem genetischen Geschlecht entsprechend – wieder in männlicher Richtung. Während die Gonaden normaler männlicher Vogelembryonen definitionsgemäss H-Y-negativ sind, wird in den Gonaden der mit Östrogen behandelten ZZ-Embryonen H-Y nachweisbar. Nicht-gonadale Gewebe bleiben jedoch – im Gegensatz zu normalen weiblichen Vögeln – H-Y negativ. Dem Feminisierungsgrad entsprechend, absorbieren die Gonaden «geschlechtsumgekehrter» männlicher Hühner am 13. Embryonaltag mehr H-Y Antiserum als am 16. Offenbar ist die einmalige Verabreichung von Östrogenen nicht ausreichend, um H-Y permanent zu induzieren. Vielmehr scheint die ständige Anwesenheit weiblicher Sexualsterioide sowohl für die andauernde Expression des – offensichtlich nicht W-chromosomalen – Strukturgens für H-Y als auch für die normale ovarielle Reifung vonnöten zu sein. Die Befunde legen die Vermutung nahe, dass bei Vögeln H-Y, von Östrogenen reguliert, als

Differenzierungsfaktor bei der Ovarentwicklung wirksam ist. Dies wird um so wahrscheinlicher, als auch die Gonaden von Vögeln mit einem spezifischen Rezeptor für H-Y ausgestattet sind (Wachtel, persönliche Mitteilung), über den die Ovardifferenzierung induziert werden kann, wie im «Moscona-Experiment» mit dissoziierten Gonadenzellen wahrscheinlich gemacht wurde (Zenzes u. Mitarb., in Vorbereitung). Das «primum movens» der Eierstockentwicklung sind bei Vögeln jedoch die Östrogene.

Bei Amphibien lässt sich H-Y in der Gonade des homogametischen Geschlechts ebenfalls induzieren. Dies wurde durch Versuche mit östrogenbehandelten *Xenopus*-Fröschen gezeigt (Wachtel u. Mitarb., 1980a).

Die unterschiedlichen Wirkungen von H-Y, Testisinduktor bei Säugern einerseits und Differenzierungsfaktor des Ovars bei Vögeln und *Xenopus*, andererseits, lässt sich durch verschiedene Prädetermination der Gonadenzellen von XX/XY und ZZ/ZW Organismen erklären. Das Phänomen der Prädetermination soll anhand eines Experiments aus dem Bereich der Endokrinologie verdeutlicht werden: Das luteinisierende Hormon (LH) stimuliert in den ovariellen Luteal-Zellen über einen spezifischen LH-Rezeptor vor allem die Progesteronsynthese. Der LH-Rezeptor lässt sich von Ovarzellen isolieren und in die Zellmembran von Nebennierenrinden-Zellen (NNR-Zellen) einbauen. NNR-Zellen synthetisieren normalerweise unter dem Einfluss von ACTH Cortisol. Gibt man nun zu einer Kultur von NNR-Zellen, auf die der LH-Rezeptor übertragen wurde, das luteinisierende Hormon, so stimuliert es jetzt, dem Zelltyp gemäss, Cortisol (Dufau u. Mitarb., 1978). Entsprechend kann man annehmen, dass H-Y nach Bindung an seinen Rezeptor auf XX/XY Gonadenzellen die Differenzierung des Testis in Gang bringt, auf ZZ/ZW Gonadenzellen hingegen die des Ovars. Gene, die für eine derartige Prädetermination verantwortlich sind, könnten autosomal oder X/Z chromosomal, nicht jedoch Y/W chromosomal sein.

Wie schon erwähnt, ist H-Y auch bei einigen Teleostern geschlechtsspezifisch nachweisbar. Die Geschlechtszugehörigkeit des Individuums ist in dieser Wirbeltierklasse oft jedoch nicht lebenslang festgelegt. Übergänge von einem in das andere Geschlecht sind

bekannt, ebenso wie Hermaphroditismus. Umweltfaktoren und Sexualsteroiden scheint hier eine zentrale Rolle bei der Gonadenentwicklung zuzukommen. Eine Beteiligung des H-Y Antigens an der Organisation der heterogametischen Gonade in Abhängigkeit von den genannten Faktoren ist zu prüfen; bisher ist darüber noch nichts bekannt.

Tab. 1. Regulation des H-Y Antigens in der Vertebratevolution

| Vertebratenklasse | chromosomaler Mechanismus der Geschlechtsbestimmung | Regulation der H-Y Genexpression |
|-------------------|---|---|
| Eutherien | XX/XY | «konstitutiv» im männlichen Geschlecht |
| Vögel | ZZ/ZW | durch Östrogene induzierbar |
| Amphibien | ZZ/ZW XX/XY | durch Östrogene induzierbar durch Testosteron induzierbar? |
| Teleosteer | ZZ/ZW XX/XY | abhängig von verschiedenen exogenen und endogenen Faktoren? |

Zusammenfassend lässt sich der evolutionäre Werdegang von H-Y wie folgt beschreiben (Tab. 1). H-Y erscheint geschlechtsspezifisch in einigen Spezies der Knochenfische. Eine Funktion bei der Gonadendifferenzierung ist bisher nicht bekannt. Bei höheren Vertebraten wie Amphibien und Vögeln konnte für das heterogametische Geschlecht eine Rolle des H-Y Antigens bei der Ovardifferenzierung wahrscheinlich gemacht werden. H-Y wirkt hier als Östrogen-abhängiger Differenzierungsfaktor. Bei Eutherien wird H-Y von Sexualsteroiden unabhängig. Es wird offenbar konstitutiv im heterogametischen Geschlecht exprimiert und hat eine entscheidende Funktion bei der Organisation des Testis.

Literatur

- Burns, R. K.: Role of hormones in the differentiation of sex. In *Sex and Internal Secretions*, 3rd edition, Vol. 1, W. C. Young, ed. pp. 76-158 (Williams and Wilkins, Baltimore 1961).

- Dufau, M.L., Hayashi, K., Sala, G., Baukal, A., and Catt, K.J.: Gonadal luteinizing hormone receptors and adenylate cyclase: Transfer of functional ovarian luteinizing hormone receptors to adrenal fasciculata cells. *Proc Natl Acad Sci* 75: 4769-4773 (1978).
- Fechheimer, N.S., Herschler, M.S. and Gilmore, L.O.: Sex chromosome mosaicism in unlike sexed cattle twins. In *Genetics today. Proceedings of the XI International congress of genetics, Vol. I*, S.J. Geerts, ed., p.265 (Macmillan Co., New York 1963).
- Hunter, J.: Account of the freemartin. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.* 69: 279-293 (1779).
- Josso, N., Picard, J.-Y., and Tran, D.: The Antimüllerian Hormone. *Rec. Prog. Horm. Res.* 33: 117-167 (1977).
- Jost, A., Vigier, B., Prepin, J., and Perchellet, J.-P.: Studies on sex differentiation in mammals. *Rec. Prog. Hormone Res.* 29: 1-41 (1973).
- Lillie, F.R.: The theory of the freemartin. *Science* 43: 611-613 (1916).
- Mittwoch, U.: *Genetics of sex differentiation* (Academic Press, New York 1973).
- Müller, U.: Testis determining H-Y antigen and the induction of the hCG receptor. In *Chorionic Gonadotropin*, Segal, S.J., ed. pp.371-382 (Plenum Press, New York, 1980).
- Müller, U., and Wolf, U.: Cross-reactivity to mammalian anti-H-Y antiserum in teleostean fish. *Differentiation* 14: 185-187 (1979).
- Müller, U., Aschmoneit, I., Zenzes, M.T., and Wolf, U.: Binding studies of H-Y antigen in rat tissues. Indications for a gonad-specific receptor. *Hum. Genet.* 43: 151-157 (1978a).
- Müller, U., Siebers, J.W., Zenzes, M.T., and Wolf, U.: The testis as a secretory organ for H-Y antigen. *Hum. Genet.* 45: 209-213 (1978b).
- Müller, U., Zenzes, M.T., Bauknecht, T., Wolf, U., Siebers, J.W., and Engel, W.: Appearance of hCG-receptor after conversion of newborn ovarian cells into testicular structures by H-Y antigen in vitro. *Hum. Genet.* 45: 203-207 (1978c).
- Müller, U., Wolf, U., Siebers, J.W., and Günther, E.: Evidence for a gonad-specific receptor for H-Y antigen. Binding of exogenous H-Y-antigen to gonadal cells is independent of β_2 -microglobulin. *Cell* 17: 331-335 (1979a).
- Müller, U., Zenzes, M.T., Wolf, U., Engel, W., and Weniger, J.-P.: Appearance of H-W (H-Y) antigen in the gonads of oestradiol sex-reversed male chicken embryos. *Nature* 280: 142-144 (1979b).
- Müller, U., Guichard, A., Reyss-Brion, M., and Scheib, D.: Induction of H-Y antigen in the gonads of male quail embryos by diethylstilbestrol. *Differentiation* 16: 129-133 (1980a).
- Müller, U., Mayerová, A., Siebers, J.W., and Wolf, U.: Phenotypic conversion of human erythrocytes by H-Y antigen. *Hum. Genet.* 56: 177-181 (1980b).
- Moscona, A.A.: The development in vitro of chimaeric aggregates of dissociated chick and mouse cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 43: 184-189 (1957).
- Nagai, Y., Ciccarese, S., and Ohno, S.: The identification of human H-Y antigen and testicular transformation induced by its interaction with the receptor site of bovine fetal ovarian cells. *Differentiation* 13: 155-164 (1979).
- Ohno, S.: Major regulatory genes for mammalian sexual development. *Cell* 7: 315-321 (1976).
- Ohno, S., Christian, L.C., Wachtel, S.S., and Koo, G.C.: Hormon-like role of H-Y antigen in bovine freemartin gonad. *Nature* 261: 597-599 (1976).
- Pechan, P., Wachtel, S.S., and Reinboth, R.: H-Y antigen in the teleost. *Differentiation* 14: 189-192 (1979).
- Vigier, B., Locatelli, A., Prepin, J., du Mesnil, du Buisson, F., et Jost, A.: Les premières manifestations du «freemartinisme» chez le fœtus de Veau ne dépendent pas du chimérisme chromosomique XX/XY. *C.R. Acad. Sci. [D] (Paris)* 282: 1355-1358 (1976).
- Wachtel, S.S., Koo, G.C., and Boyse, E.A.: Evolutionary conservation of H-Y («male») antigen. *Nature* 254: 270-272 (1975a).
- Wachtel, S.S., Ohno, S., Koo, G.C., and Boyse, E.A.: Possible role for H-Y antigen in the primary determination of sex. *Nature* 257: 235-236 (1975b).
- Wachtel, S.S., Bresler, P.A., and Koide, S.S.: Does H-Y antigen induce the heterogametic ovary? *Cell* 20: 859-864 (1980a).
- Wachtel, S.S., Hall, J.L., Müller, U., and Chaganti, R.S.K.: Serum-borne H-Y antigen in the fetal bovine freemartin. *Cell* 21: 917-926 (1980b).
- Zaborski, P., Dorizzi, M., et Pieau, C.: Sur l'utilisation de sérum anti-H-Y de Souris pour la détermination du sexe génétique chez *Emys orbicularis* L. *C.R. Acad. Sci. [D] (Paris)* 288: 353-354 (1979).
- Zenzes, M.T., Müller, U., Aschmoneit, I., and Wolf, U.: Studies on H-Y antigen in different cell fractions of the testis during pubescence. Immature germ cells are H-Y antigen negative. *Hum. Genet.* 45: 297-303 (1978a).
- Zenzes, M.T., Wolf, U., and Engel, W.: Organization in vitro of ovarian cells into testicular structures. *Hum. Genet.* 44: 333-338 (1978b).

Adresse des Auteurs:

Dr. Ulrich Müller
 Institut für Humangenetik und
 Anthropologie der Universität Freiburg
 Albertstrasse 11
 D-7800 Freiburg