

## Über einige Probleme der biochemischen Genetik

Von Prof. Dr. RICHARD KUHN, Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg\*).

- |  |  |
|--|--|
| 1. Die Zelle als aufzuklärendes chemisches Industrierwerk. | 6. Probleme der Pigmentbildung.                  |
| 2. Tryptophan-Synthese durch <i>Neurospora</i> .           | 7. Gen und Carcinom.                             |
| 3. Arginin-Synthese.                                       | 8. Probleme der Sexualität.                      |
| 4. Leistungsfaktoren bei Mais.                             | 9. Entwicklungsgeschichte einer mutierten Zelle. |
| 5. Resistenz-Faktoren bei Kartoffeln.                      | 10. Zusammenfassung.                             |

### 1. Die Zelle als aufzuklärendes chemisches Industrierwerk

In mancher Hinsicht läßt sich jede lebende Zelle mit einem großen Werk der chemischen Industrie vergleichen. Die mikroskopische Zellforschung enthüllt uns den Bauplan in groben Zügen; sie läßt jedoch, ebenso wie die Bilder der Luftaufklärung, viele Fragen nach Einzelheiten der Werksanlagen und Einrichtungen offen. Die Physiologie des Zellstoffwechsels registriert, was an Rohstoffen eingeht und an Fabrikaten ausläuft; vielfach beschränkt sich ihre Rolle auf die eines Spions, der die ein- und ausfahrenden Güterwagen kontrolliert, ohne daß es ihm gelingt, in die eigentlichen Werksanlagen einzudringen. Ziel der Biochemie ist es den Inhalt dieser Güterwagen, ferner die innerhalb des Werkes zirkulierenden Zwischenprodukte und schließlich die maschinellen sowie apparativen Einrichtungen aufzuklären. Diese letzte Aufgabe ist besonders schwierig, weil sie ohne Zerstörung der Zellstruktur kaum durchführbar ist. Dadurch sind manche Aussagen der Biochemie, die sich auf das Apparat der Zellen beziehen, nicht höher zu bewerten als jene Schlußfolgerungen, die man ziehen kann, wenn man die Trümmer einer zusammengeschlagenen Fabrik durchwühlt. Von den für die Aufklärung herangezogenen Hilfsmitteln der Chemie sind besonders diejenigen wertvoll, welche schon in geringsten Konzentrationen starke Wirkungen auf die Leistungen der Zellen ausüben. Es sei erinnert an das CO und die Blausäure, die in den Händen Otto Warburgs zu tiefen Einblicken in die Zellatmung geführt haben, an die Mitosegifte, Zellteilungsgifte und viele andere. Die Physik hat mit den verschiedensten Strahlenquellen und mit Hilfe der Isotope neue Wege ins Innere der Zellen gebahnt. In letzter Zeit ist es gelungen, die von Gregor Mendel begründete Genetik, d. h. die Lehre von den Erbfaktoren, die als Gene in den Chromosomen der Zellkerne lokalisiert sind, experimentell zu bestimmten chemischen Leistungen der Zellen in Beziehung zu setzen. Dies ist es, was man als biochemische Genetik bezeichnet. Es handelt sich um die ersten Einblicke in die chemischen Mechanismen, die das Gen mit dem erbgelunden Merkmal verknüpfen.

Die Existenz eines bestimmten Gens läßt sich bisher nur dann beweisen, wenn man in der Natur Zellen findet, die dieses Gen nicht enthalten, oder wenn man dieses Gen künstlich zerstören kann, d. h. wenn man in den Besitz von Mutanten kommt, bei denen das betreffende Merkmal ausfällt. Bewährte Zerstörungsmittel für diesen Zweck sind die chemischen Kampfstoffe der Senfgasgruppe, ultraviolettes Licht, Röntgenstrahlen, Neutronen u. a. Die sogen. Treffertheorie besagt, daß nur ein winziger Bruchteil derartiger Geschosse, die in die Zellen gelangen, genetisch wirksam ist. Kommt aber ein Treffer zustande, der nicht tödlich ist, so können aus der getroffenen Zelle Nachkommen erhalten werden, an denen sich studieren läßt, was der Treffer angerichtet hat. Man kann so erkennen, daß die Wirkung durchaus ähnlich ist derjenigen eines Fliegerangriffs auf eine große chemische Fabrik, in der über viele aufeinanderfolgende Zwischenprodukte hinweg, die in räumlich getrennten Bauten fabriziert werden, Synthesen organischer Produkte durchgeführt werden. Jeder Volltreffer in einen Teilbetrieb zerreißt die Pro-

duktionskette an einer bestimmten Stelle, so daß nicht nur das an der getroffenen Stelle erzeugte Zwischenprodukt ausfällt, sondern auch jedes weitere, das von diesem abhängt, bis zum Fertigfabrikat. Da die Fabrik im übrigen weiterläuft, wird an Stelle des Fertigfabrikats in der lebenden Zelle dasjenige Zwischenprodukt sich anhäufen, das im getroffenen Teilbetrieb nicht mehr weiterverarbeitet werden kann. Verläßt es die Fabrik, so wird schon ein die Werksanlagen nur umkreisender Agent Schlußfolgerungen über innerhalb der Fabrik sich abspielende Prozesse ziehen können.

Für die Ergebnisse der Aufklärung, die man durch derartige Fliegerangriffe gegen die chemischen Werke lebender Zellen erzielen kann, werde ich Beispiele anführen. Vorausschicken möchte ich aber noch, daß es sich meist um eine Gemeinschaftsaktion von drei Waffengattungen handelt: der Physik, welche die Projektile liefert; der Genetik (Biologie), welche aus dem Haufen der beschossenen Zellen die entscheidend getroffenen zu isolieren und weiterzuzüchten hat; der Chemie, welche die Konstitution der isolierten Zwischenprodukte mit derjenigen der normalen Endprodukte vergleicht, und die in vielen Fällen auch die zur Mutation führenden chemischen Projektile liefert.

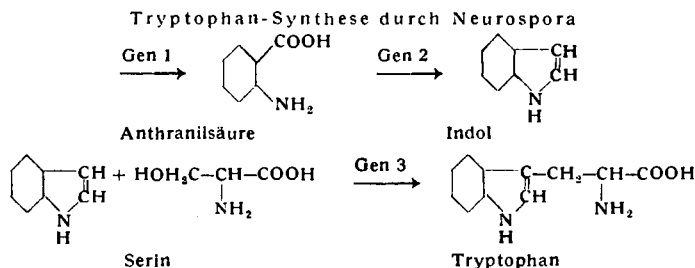
Es sei auch noch daran erinnert, daß die Zahl der Gene, die man treffen kann, in den meisten Zellen sehr groß ist. Sie wird bei *Drosophila*, einem der bestuntersuchten Objekte der Genetik mit 8 Chromosomen, größenordnungsmäßig auf 10000 geschätzt. Für den Menschen haben verschiedene Schätzungen eine Zahl von etwa 40000 Genen, die sich auf 48 Chromosomen verteilen, wahrscheinlich gemacht. Von den 500000—600000 organischen Verbindungen, die wir kennen, kommt bekanntlich nur ein Teil in der Natur vor. Es wäre nicht überraschend, wenn sich herausstellen würde, daß die Zahl der chemischen Verbindungen, aus denen sich die höheren Lebewesen zusammensetzen — einschließlich der beim Auf- und Abbau durchlaufenen Zwischenstufen — der Größenordnung nach mit der Anzahl der Gene übereinstimmt. Diese Mutmaßung stützt sich darauf, daß, wie wir noch sehen werden, in vielen bisher näher aufgeklärten Fällen ein Gen jeweils eine bestimmte Teilreaktion in der Zelle beherrscht. Um eine strenge Gesetzmäßigkeit wird es sich vermutlich nicht handeln. Es ist wohl richtiger zu sagen, daß die Vorstellung „1 Gen — 1 Schritt“ eine Arbeitshypothese der biochemischen Genetik darstellt.

### 2. Tryptophan-Synthese durch *Neurospora*

Der Schlauchpilz *Neurospora crassa*, synthetisiert Aminosäuren und Eiweiß aus einfachsten Bausteinen. Er braucht an Nährstoffen nur Zucker, Ammonitrat, einige Mineralstoffe und eine Spur von Biotin. E. L. Tatum, G. W. Beadle und deren Mitarbeiter haben gefunden, daß sich durch Einwirkung von Röntgenstrahlen oder ultraviolettem Licht auf die ungeschlechtlichen Sporen von *Neurospora* leicht Mutanten gewinnen lassen. Unter diesen gibt es solche, die zum Wachsen unbedingt noch zusätzlich eine bestimmte Aminosäure brauchen, z. B. Arginin oder Tryptophan oder Methionin usw. Es ist offenkundig, daß diese Mutanten die Fähigkeit verloren haben Arginin oder Tryptophan usw. zu synthetisieren, so daß man sie als „arginine-less“, „tryptophan-less“ usw. bezeichnet hat. Es wurde erkannt, daß die Tryptophan-

\*) Vortrag gehalten in der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik, Ludwigshafen/Rh. am 16. Dezember 1948.

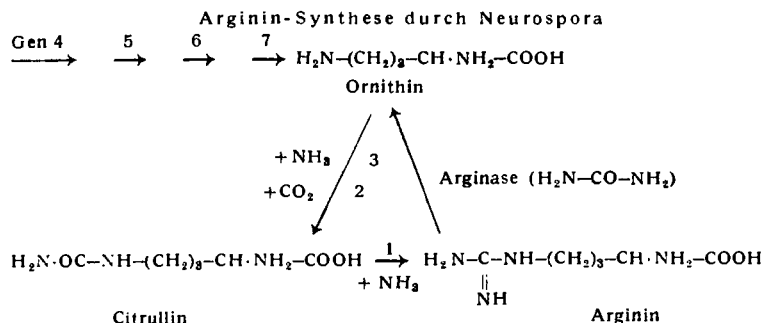
Synthese an verschiedenen Stellen unterbrochen sein kann. Als Endstufe erscheint die Kondensation von Indol mit Serin. Ist das Gen getroffen worden, das diese Kondensation lenkend beherrscht, so wird kein Tryptophan bzw. tryptophan-haltiges Protein gebildet, sondern es läßt sich aus den Kulturlösungen der betreffenden Mutante (die eine Spur von Tryptophan zugesetzt erhält, um lebensfähig zu bleiben) Indol präparativ isolieren. Es wurde aber auch eine „tryptophan-less“-Mutante aufgefunden, die kein Indol, sondern Anthranilsäure ausscheidet, und eine weitere, bei der auch die Bildung von Anthranilsäure ausbleibt. Hier fallen weiter zurückliegende Vorprodukte aus. Diese Erfahrungen führen für die Tryptophan-Synthese durch *Neurospora* zu folgendem Bild:



Ist Gen 1 ausgefallen, so wirken Anthranilsäure und Indol an Stelle von Tryptophan als Wuchsstoff, ist Gen 2 ausgefallen, so ist Anthranilsäure unwirksam, aber Indol wirksam.

### 3. Arginin-Synthese

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Synthese von Arginin durch *Neurospora*. A. Srb und N. H. Horowitz konnten nicht weniger als 15 verschiedene Mutanten künstlich gewinnen, die im Gegensatz zur Wildform von *Neurospora* Arginin für normales Wachstum unbedingt benötigen. Eine dieser Mutanten wuchs nur, wenn Arginin selbst gegeben wurde. Zwei weitere (die genetisch voneinander verschieden waren) wuchsen, wenn Arginin oder Citrullin geboten wurde; vier weitere Mutanten (genetisch von den drei ersten und untereinander verschieden) konnten ihren Bedarf mit Arginin oder Citrullin oder Ornithin decken. Diese Befunde lassen sich biochemisch und genetisch wie folgt deuten:



Man beachte, daß die Umwandlung von Ornithin in Citrullin mit der Einführung von CO<sub>2</sub> und von NH<sub>3</sub> nicht nur chemisch zwei Reaktionsstufen darstellt, sondern daß auch genetisch an dieser Umwandlung zwei Gene beteiligt sind. Die Vorstellung, daß ein Gen in der Zelle jeweils eine Reaktion beherrscht, hat durch diese und weitere Erfahrungen eine wesentliche Stütze gefunden.

Die angeführten Beispiele kennzeichnen bereits eine breite Fülle von theoretischen Aufgaben der biochemischen Genetik. Aus der Praxis des Züchtungsforschens kommen zahllose weitere hinzu. Bevor wir *Neurospora* verlassen, verdient jedoch noch vermerkt zu werden, daß bei diesem niederen Lebewesen bisher nur die Synthese derjenigen Aminosäuren unterbrochen werden konnte, die als unentbehrlich für den Menschen bekannt sind, nicht aber solcher, die der Mensch und die Säugetiere aus andersartigen Bestandteilen der Nahrung aufzubauen vermögen<sup>1)</sup>. Dies läßt vermuten, daß die den „essential aminoacids“ zugeordneten Gene gegen ultraviolettes Licht und andere Einflüsse besonders empfindlich sind. Gelänge es bei *Neurospora* Mutanten der Mutanten herzustellen, derart, daß schließlich ein und dieselbe Zelle gleichzeitig alle Aminosäure-Defekte in sich vereinigt, die man von mutierten Stämmen einzeln bereits kennt, dann hätte man

<sup>1)</sup> Das Arginin nimmt eine Grenzstellung ein.

diesen *Ascomyceten* in ein Lebewesen verwandelt, das sich hinsichtlich des Bedarfs an Aminosäuren ähnlich wie der Mensch verhalten würde. Dieser Gedanke mag im Hinblick auf Entwicklungen, die sich im Laufe erdgeschichtlicher Epochen abgespielt haben könnten, von Interesse sein.

### 4. Leistungsfaktoren bei Mais

Zu wirtschaftlich wichtigen Ergebnissen haben Versuche über die Selbstbefruchtung bei Mais geführt. Zu diesem Zweck wird die männliche Blütenrispe, die an der Spitze der Pflanze steht, noch vor dem Aufblühen in eine Pergamenttüte eingeschlossen. Dasselbe geschieht mit dem weiblichen Blütenstand, dem Kolben. Nach erfolgter Bestäubung wird der weibliche Blütenstand zum Schutz gegen Fremdbefruchtung wieder mit einer Tüte versehen. Führt man eine derartige Selbstung etwa vier Generationen (Jahre) lang durch, so kommt man zu Inzuchtlinien, die gegenüber der Ausgangsrasse an Wüchsigkeit und Samenertrag weit zurückstehen. Durch Kreuzung derartiger Eltern lassen sich jedoch F<sub>1</sub>-Bastarde gewinnen, deren Ertrag bis zu 30% über den der ertragreichsten Handelssorten hinausgeht (Tabelle 1):

Anbaujahr	Elter A	Elter B	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>
1917	6	22	65	56			
1918	24	17	121	128	15		
1920	28	16	128	48	35		
1921	13	20	73	55	49	29	10
1922	26	20	160	83	74	68	49
1923	21	13	61	45	41	47	16
Mittel	20	18	101	69	43	44	23

Tabelle 1  
Kornerträge von 2 reinen Maislinien und ihrer Bastarde in mehreren durch Selbstung gewonnenen Folgegenerationen

In USA, wo diese Versuche von East, Shull, Jones u. a. durchgeführt wurden, sind schon 1939 über 6 Millionen ha mit solchem Saatgut bepflanzt worden und inzwischen haben sich die Anbauflächen noch gewaltig vermehrt. Wir erkennen, daß der Ertrag bei den Folge-Generationen (F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> . . .) wieder rasch absinkt. Der Farmer muß also jedes Jahr neues hybrid corn als Saatgut aus den Zuchtgärten kaufen, aber er erntet im Durchschnitt an Stelle von 80 dz etwa 100 dz. Dieser Mehrertrag kommt nicht nur der Viehfütterung zugute, d. h. der Produktion von Eiern, Speck, Fleisch u. a., sondern auch der Industrie zur Herstellung von Stärke, Zucker, Äthylalkohol, Butylalkohol, Aceton, von Furfural, das man auf Nylons verarbeiten kann, usw.

Genetisch und biochemisch sind die Erscheinungen der Heterosis bei Mais noch nicht geklärt. Manches spricht dafür, daß es sich um ein Wuchsstoffproblem handelt. Vielleicht werden die neuen sehr genauen Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe, die F. Moewus an unserem Institut in Heidelberg entwickelt hat, auch hier weiterführen. Die pflanzlichen Zellen enthalten, wie sich gezeigt hat, nicht nur Wuchsstoff (Auxin), sondern auch Antagonisten des Wuchsstoffes (Blastokoline) sowie Wuchsstoff in hochmolekular gebundener (inaktiver) Form. Diese drei Komponenten kann man jetzt nebeneinander bestimmen. Auf ihr Verhältnis zueinander kommt es offenbar beim Pflanzenwuchs an.

### 5. Resistenzfaktoren bei Kartoffeln

Beim Mais haben wir ein Problem der biochemischen Genetik gestreift, das mit einer direkten Ertragssteigerung zu tun hat, wie sie im allgemeinen sonst durch Düngemittel angestrebt wird. Es gibt daneben in großer Zahl genetische Probleme, die eine indirekte Steigerung des Ertrags anstreben, nämlich durch Züchtung von Pflanzen, die gegen gewisse Schädlinge resistent sind. Derartige Bestrebungen versuchen die Anwendung eines Schädlingsbekämpfungsmittels gegebenenfalls überflüssig zu machen.

Die Erfahrungstatsache, daß von sehr nahe verwandten Pflanzen die eine von einem Schädling befallen wird, die andere aber nicht, ist in vielen Fällen zweifellos genetisch bedingt. Über die chemische Natur der Resistenzfaktoren ist jedoch erst sehr wenig bekannt. Es ist z. B. gelungen, durch Kreuzung einer Wildkartoffel, *Solanum demissum*, die 72 Chromosomen enthält

und die gegen *Phytophthora* resistent ist, die *Phytophthora*-Resistenz auf Kulturkartoffeln mit 48 Chromosomen zu übertragen. Die chemischen Grundlagen der *Phytophthora*-Resistenz sind aber noch nicht geklärt.

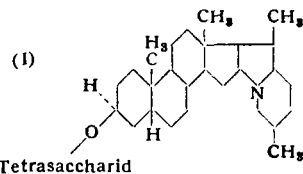
Eigene Versuche haben dafür die Tatsache, daß *Solanum demissum* auch gegen die Larven des Kartoffelkäfers resistent ist, theoretisch verständlich gemacht.

Aus den Blättern von *Solanum demissum* konnte I. Löw ein schön krystallisierendes Alkaloidglykosid isolieren, das vom Solanin der gewöhnlichen Kartoffeln verschieden ist (Tabelle 2):

	Demissin (Solanin d)	Solanin (Solanin t)
Zersetzungstemperatur .....	305–308°	~ 265°
Bruttoformel .....	C <sub>50</sub> H <sub>83</sub> O <sub>20</sub> N	C <sub>43</sub> H <sub>73</sub> O <sub>15</sub> N
Molekulargewicht .....	1018	867
Drehung in Pyridin .....	(α) <sub>D</sub> <sup>20</sup> : -20°	(α) <sub>D</sub> <sup>20</sup> : -60°
Katalytische Hydrierung .....	0	1
Glucose .....	2 Mol	1 Mol
Galaktose .....	1 Mol	1 Mol
Xylose .....	1 Mol	keine
Rhamnose .....	keine	1 Mol

Tabelle 2  
Vergleich von Demissin und Solanin

Das Demissin (I) wirkt im Gegensatz zum Solanin auf die Larven des Kartoffelkäfers als Vergällungsmittel bzw. als Fraßgift (Tab. 3 und 4). Man hat wohl anzunehmen, daß für den Einbau der Xylose, die Absättigung der Doppelbindung usw., (1 Xylose+1 Galaktose+2 Glucose) wodurch sich das Demissin vom Solanin unterscheidet, besondere in den Chromosomen von *Solanum demissum* vorkommende Gene verantwortlich sein werden.



Zusatz	22. 4.	25. 4.	26. 4.	28. 4.	29. 4. 1947
Keiner (Kontrolle) ...	10.0.0	2.8.0	0.7.2(1)	0.1.8(1)	Alle lebend
Ohne Blatt (Hunger) ...	10.0.0	4.5.0(1)	0.1.0(9)	0.0.0(10)	Alle tot
Dest. Wasser .....	10.0.0	0.10.0	0.6.4	0.0.10	Alle lebend
1.08% Demissin .....	10.0.0	3.2.0(5)	0.3.0(7)	0.0.0(10)	Alle tot
0.40% Demissin .....	10.0.0	4.3.0(3)	2.3.0(5)	0.3.0(7)	0.2.0(8)
0.30% Demissin .....	10.0.0	4.5.0(1)	0.6.0(4)	0.3.0(7)	0.1.0(9)

Tabelle 3. Infiltration gewöhnlicher Kartoffelblätter mit Demissin  
Die Zahlen geben an, wieviele Larven sich im L<sub>1</sub>-, L<sub>2</sub>-, L<sub>3</sub>-Stadium der Entwicklung befanden. In Klammern steht die Zahl der gestorbenen Larven.

Zusatz	3. 6.	4. 6.	5. 6.	7. 6.	9. 6. 1947
Keiner (Kontrolle) ..	8.0.0	0.8.0	0.0.8	0.0.4.4	0.0.0.8
Ohne Blatt (Hunger) ..	8.0.0	0.7.0	0.6.0(1)	0.0.0.0(7)	0.0.0.0(7)
1,3 % Solanin t ....	8.0.0	0.8.0	0.8.0	0.4.3.0(1)	0.0.6.1(1)
0,45% Solanin t ....	8.0.0	0.8.0	0.2.6	0.0.8.0	0.0.1.7
0,15% Solanin t ....	8.0.0	0.8.0	0.2.6	0.0.5.3	0.0.1.7

Tabelle 4. Infiltration mit Solanin

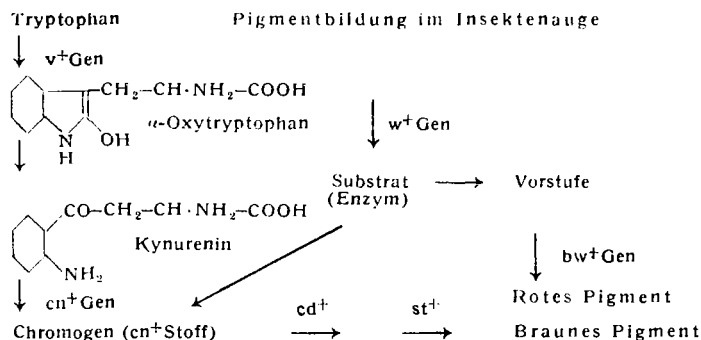
Ein dem Demissin verwandtes Alkaloidglykosid, das aus den Blättern von Wildtomaten isoliert wurde, scheint diese gegen den Befall durch gewisse *Fusarien* zu schützen.

## 6. Probleme der Pigmentbildung

Sehr zahlreich sind biochemisch-genetische Untersuchungen auf dem Gebiete der Pigmentierung bei Pflanzen, Tieren und Menschen, zumal in vielen Fällen die Bildung gewisser Pigmente ein charakteristisches Rassemersmal darstellt.

Hier verdient an erster Stelle hingewiesen zu werden auf die Untersuchungen von R. Robinson und zahlreichen Botanikern in England, die sich auf die große Mannigfaltigkeit der Anthocyane in ihrer Abhängigkeit von der Züchtung beziehen. Ferner auf den Stoffwechsel des Phenylalanins und Tyrosins, aus denen die melaninartigen Pigmente beim Menschen und bei den Säugtieren gebildet werden. Nicht zuletzt auf die Pigmentierungsvorgänge im Auge der Insekten, die von A. Butenandt in Gemeinschaft mit A. Kühn weitgehend geklärt wurden (s. Schema).

Hier spielen Tryptophan und das von H. Wieland entdeckte α-Oxytryptophan eine bedeutsame Rolle.



## 7. Gen und Carcinom

Von der genetischen Konstitution hängt es ab, wie ein Tier auf krebserregende Verbindungen anspricht. Auch für die bei gewissen Mäusestämmen spontan auftretenden Tumoren hat sich durch die Arbeiten von Little, Strong, Bittner u. a. in USA ergeben, daß die Anfälligkeit streng nach einem Mendel-Schema vererbt wird:

Vererbung von Spontan-Tumoren bei Mäusen

Eltern (1) .....	a a (resistent)
Eltern (2) .....	A A (anfällig)
F <sub>1</sub> -Generation .....	A a (anfällig)
Rück-Kreuzung von F <sub>1</sub> mit (1) .....	1 A a (anfällig)
F <sub>2</sub> -Generation .....	1 a a (resistent)
	1 A A (anfällig)
	2 A a (anfällig)
	1 a a (resistent)

Eine nucleoprotein-artige Substanz, die in der Milch der anfälligen Muttertiere vorkommt, scheint bei diesem Vererbungsvorgang eine bedeutsame Rolle zu spielen.

## 8. Probleme der Sexualität

Für das Studium der genabhängigen Synthese von Sexualstoffen hat sich eine einzellige Grünalge als besonders geeignet erwiesen. Die an *Chlamydomonas* von F. Moewus durchgeführten Arbeiten haben den Nachweis erbracht, daß es spezifische, hochwirksame Stoffe gibt, die der Ausprägung der primären Geschlechtsmerkmale dienen und die Reaktion zwischen männlichen und weiblichen Geschlechtszellen beim Vorgang der Kopulation steuern. Bisher sind über 60 verschiedene Gene bei *Chlamydomonas* nachgewiesen und in den Chromosomen lokalisiert worden.

Lange Jahre hindurch konnten wir nur sagen, daß gewisse dieser Wirkstoffe ersetzt werden konnten durch krystallisierte Verbindungen, die aus den Sexualorganen von höheren Pflanzen, insbesondere aus den Narben und den Pollen von *Crocus* gewonnen waren. In letzter Zeit ist es jedoch mit I. Löw gelungen, mehrere dieser Stoffe aus den Geschlechtszellen gewisser Mutanten von *Chlamydomonas* direkt in krystallisierter Form zu gewinnen. Dadurch ist es jetzt möglich, nicht nur die chemische Natur der in Frage stehenden Sexualstoffe mit Sicherheit anzugeben, sondern auch die entsprechenden chemischen Formelbilder den einzelnen durch Vererbungsversuche nachgewiesenen Genen eindeutig zuzuordnen.

Der heutige Stand unserer Untersuchungen geht aus Tab. 5 hervor:

Wirkstoff für:	Ersetzbar durch	Aus <i>Chlamydomonas</i> isoliert
1. Geißelwachstum .....	Crocin	Nach Umesterung als Transcrocin-dimethylester
2. Beweglichkeit der Geißeln ...	—	—
3. Anlockung der Gameten (Gamone) .....	Cis- und Transcrocin-Dimethylester	—
4. Geschlechtsbestimmung bei Zwittern (Termone) Gynotermon .....	Isorhamnetin	Isorhamnetin
Androtermon I .....	4-Oxy-β-cyclocitral	—
Androtermon II .....	Paeonin	(Anthocyan)
5. Verhinderung der Kopulation	Rutin	Rutin
6. Vorstufe von 5 .....	—	Quercetin

Tabelle 5. Wirkstoffe bei *Chlamydomonas eugametos*

Es ergibt sich, daß die bisher nachgewiesenen Wirkstoffe von *Chlamydomonas* zu zwei anderweitig bereits wohlbekannten Klassen von Naturstoffen gehören, zu den Carotinoiden und zu den Flavonolen.

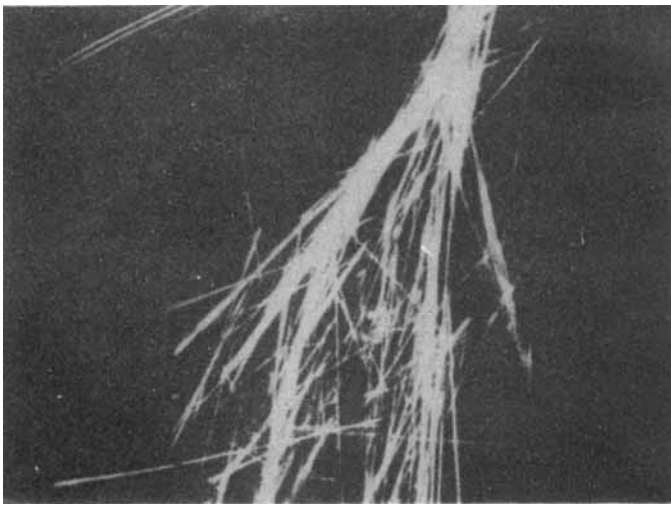


Bild 1

Krystallisiertes Rutin (kopulationsverhindernder Wirkstoff) aus weiblichen irha<sup>0</sup> mot<sup>0</sup> cro<sup>+</sup> gathe<sup>+</sup> ru<sup>+</sup> . . . Gameten (Mutante Nr. 1) von *Chlamydomonas*. Fp. 189–190°, Ausbeute: 7% vom Trockengewicht der Zellen.

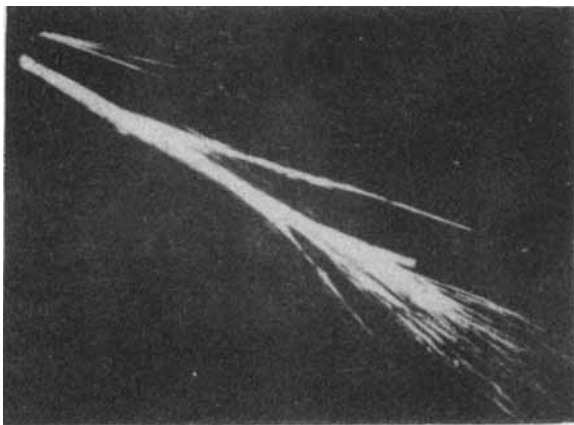
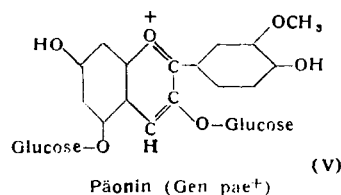
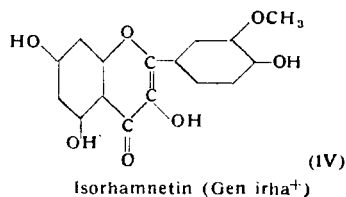
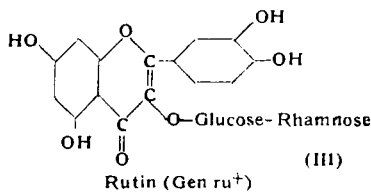
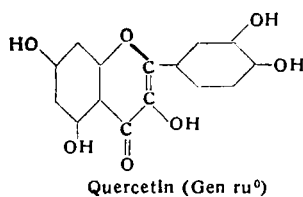


Bild 2

Krystallisiertes Isorhamnetin (Gynotermion) aus weiblichen irha<sup>+</sup> mot<sup>+</sup> cro<sup>0</sup> gathe<sup>+</sup> ru<sup>0</sup> . . . Gameten (Mutante Nr. 3). Ausbeute: 1,7% vom Trockengewicht der Zellen.



Wenn man das aus einer ru<sup>0</sup>-Mutante isolierte, physiologisch unwirksame Quercetin (II) als Stammsubstanz der Flavonol-Gruppe betrachtet, so erkennt man, daß das Gen ru<sup>+</sup>, welches die Synthese des kopulationsverhindernden Wirkstoffs Rutin (III) steuert, für die Verknüpfung des Quercetins mit einem Mol Glucose und einem Mol Rhamnose entscheidend ist. Daß das Gen irha<sup>+</sup> für die Methylierung des phenolischen Hydroxyls in 3-Stellung verantwortlich ist, wodurch das Quercetin in Isorhamnetin (IV) übergeht, das als Gynotermion die Eigenschaft besitzt phänotypisch geschlechtsbestimmend zu wirken und Zwitterzellen von *Chlamydomonas* die physiologische Reaktionsfähigkeit weiblicher Geschlechtszellen zu verleihen; daß das Gen pae<sup>+</sup>, das nur in männlichen Gameten nachweisbar ist,

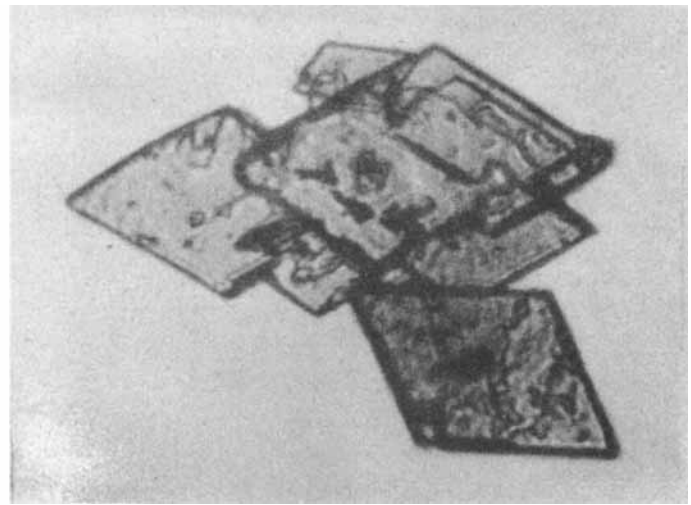
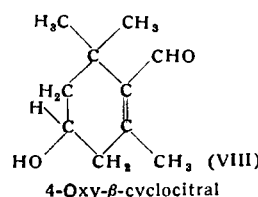
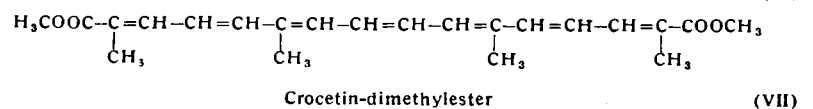
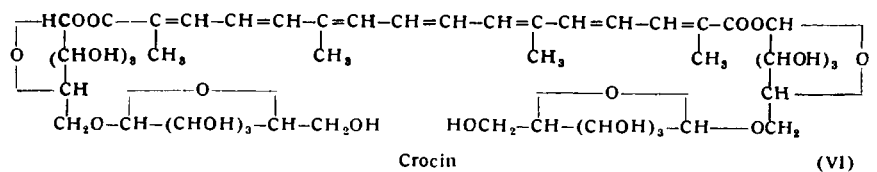


Bild 3

Krystallisierte trans-Crocetindimethylester (Gamon) aus weiblichen irha<sup>0</sup> mot<sup>+</sup> cro<sup>+</sup> gathe<sup>0</sup> ru<sup>0</sup> . . . Gameten (Mutante Nr. 5). Fp. 215°, Ausbeute: 0,5% vom Trockengewicht der Gameten.

einen intrazellulären Reduktionsvorgang steuert, der von einem Flavonol-Farbstoff zu einem Anthocyan (V) führt. Dieses Anthocyan findet sich ausschließlich in männlichen Gameten, nicht aber in weiblichen. Hier liegt ein leicht zu demonstrierender chemischer Unterschied zwischen den Geschlechtern vor, der deshalb besondere Beachtung verdient, weil die männlichen von den weiblichen Gameten bei *Chlamydomonas* morphologisch-mikroskopisch nicht unterscheidbar sind.

Bei den zur Gruppe der Carotinoide zählenden Wirkstoffen (VI, VII und VIII) lassen sich ähnliche Zuordnungen durchführen:



Die Schlußfolgerungen, die man bis auf weiteres aus derartigen Feststellungen zieht, beruhen auf der Annahme, daß die Gene (denen die Fähigkeit innewohnt, sich ähnlich wie ein Virus-Teilchen identisch zu reproduzieren) Erzeugungsstätten derjenigen Fermente sind, welche die Bildung eines Glykosids, eines Methyläthers, eines Hydrierungsprodukts usw. in der Zelle besorgen.

## 9. Entwicklungsgeschichte einer mutierten Zelle

Bei dem Phytoflagellaten *Chlamydomonas* ist es neuerdings *F. Moewus* möglich geworden, die Auswirkungen eines zu einer Mutation führenden Treffers an der betroffenen Zelle selbst zu verfolgen. Die beiden Voraussetzungen, auf die sich das folgende stützt, sind:

1. daß es sich um ein einzelliges Lebewesen handelt, das kopulationsfähig ist und auch ungeschlechtlich vermehrt werden kann;
2. daß bei *Chlamydomonas* eine einzige Zelle genügt, um festzustellen ob sie kopulationsfähig ist oder nicht.

Zum Versuch dienten ♀ ru<sup>+</sup>-Zellen, die das kopulationsverhindernde Flavonolglykosid Rutin erzeugen und kopulationsunfähig sind. Nach dem Erhitzen einer Suspension derartiger Zellen im Reagenzglas auf 45°, d. h. nach Temperaturschock, treten kopulationsfähige ru<sup>0</sup>-Mutanten auf. Die Mutationsrate beträgt unter den eingehaltenen Bedingungen 1,7%. Man hat also die Chance, unter 250 Zellen vier kopulationsfähige zu finden. *F. Moewus* hat 250 Zellen, die dem Temperaturunterschied ausgesetzt waren, einzeln isoliert und auf 250 Objektträgern jede dieser

Zellen ungeschlechtlich weiter gezüchtet, 12 h hell, 12 h dunkel usw. Dabei vervierfacht sich die Zahl der Zellen in jeder Teilungsfolge, die 24 h in Anspruch nimmt. Durch Entnahme einzelner Zellen wurde nach jedem Teilungsschritt geprüft, ob es nach Zusatz kopulationsfähiger ♂-Zellen zur Bildung von Kopulationspaaren kam oder nicht. In Kontrollversuchen sind auch die gesamten Klone geprüft worden. Das Ergebnis (Tab. 6) ist, daß auf vier von den 250 Objektträgern kopulationsfähige Klone aufgetreten sind, daß aber diese Erscheinung erst nach acht sukzessiven Teilungsfolgen feststellbar war. Die mutierten Zellen selbst und ihre ungeschlechtlichen Nachkommen zeigen zunächst noch gar nicht die physiologischen Eigenschaften der Mutante!

Nummer der Teilungsfolge (Vegetative Generation)	Zahl der Zellen aus 1 Zelle	246 nicht mutierte $ru^+$ -Zellen	4 mutierte $ru^+$ -Zellen ( $ru^0$ )
1	4	0	0
2	16	0	0
3	64	0	0
4	256	0	0
5	1024	0	0
6	4096	0	0
7	16384	0	0
8	65536	0	+
9	262144	0	+
10	1048576	0	+

Tabelle 6

Kopulationsverhalten mutierter ♀  $ru^+$ -Zellen in 10 sukzessiven Teilungsfolgen. (0 = keine Kopulation; + = Kopulation)

Kopulationsfähig wurden die Klone auf den Objektträgern Nr. 111, 129 211 und 236.

Diese Feststellung läßt sich experimentell mit den bereits angedeuteten Grundvorstellungen der biochemischen Genetik in Einklang bringen und kann als wesentliche Stütze derselben erachtet werden.

Es läßt sich zeigen, daß die geschilderte Erscheinung nicht etwa dadurch zustande kommt, daß die  $ru^+$ -Zellen, von denen man ausgeht, soviel kopulationsverhindernden Wirkstoff (Rutin) enthalten, daß dessen Menge ausreicht, um die Nachkommen jeder einzeln isolierten Zelle bis zur achten Teilungsfolge kopulationsunfähig zu erhalten. Wenn man nämlich  $ru^+$ -Zellen nicht dem normalen 12-stündigen Rhythmus von hell und dunkel aussetzt, sondern sie 72 h lang im Dunkeln hält, dann ist ihr Vorrat an Rutin erschöpft und sie sind eine Zeitlang kopulationsfähig, wenn man sie wieder ans Licht bringt. Als bald verlieren sie freilich ihr Kopulationsvermögen wieder, weil sie im Licht erneut Rutin synthetisieren. Kontrollversuche zum Experiment der Tab. 6 haben ergeben, daß die vier mutierten Zellen und deren Nachkommen bis zur siebten Teilungsfolge sich in dieser Hinsicht wie die 246 nicht mutierten Zellen verhalten; sie verfügen noch über den zur Synthese des Rutins erforderlichen Fermentapparat.

Diese Schlußfolgerung hat sich noch auf einem zweiten Wege sichern lassen. Wenn man während der 72-stündigen Dunkelperiode  $ru^+$ -Zellen mit Quercetin + Glucose + Rhamnose versetzt, dann findet auch im Dunkeln eine Synthese von Rutin statt, so daß nach Einsetzen der Belichtung das sonst vorübergehend feststellbare Kopulationsvermögen ausbleibt. Auch in dieser Hinsicht gleichen die mutierten Zellen und deren erste Nachkommen den normalen  $ru^+$ -Zellen. Nach der achten Teilungsfolge haben die  $ru^0$ -Zellen die Fähigkeit zur Synthese von Rutin verloren.

Einleitend habe ich die lebende Zelle mit einem großen Werke der chemischen Industrie verglichen. Diesen Vergleich können wir nunmehr etwas präziser formulieren. Die angeführten Versuche lassen wohl keinen anderen Schluß zu, als daß der genetisch wirksame Treffer die Neubildung eines an der Synthese des Rutins beteiligten Ferments lahmgelegt, daß aber der in der getroffenen Zelle vorhandene Fermentbestand erst durch viele anschließende Teilungsvorgänge so weit herabgesetzt wird, daß die Eigenschaften der Mutante, für die das völlige Fehlen dieses Fermentsystems charakteristisch ist, in Erscheinung treten. Es ist, wie wenn in einer chemischen Fabrik durch einen Treffer eine Stelle ausfällt, die zur Herstellung eines bestimmten Kontakts

dient. Die an anderen Stellen liegenden Betriebe, die mit diesem Kontakt arbeiten, werden (noch eine Zeitlang) weiterlaufen, bis ihr Kontakt verbraucht ist und nicht mehr erneuert werden kann. — Bemerkenswert ist es, wie scharf zentralisiert die lebenden Zellen ihre Katalysatoren herstellen; die hierfür maßgeblichen Gene liegen auf engstem Raum in den Chromosomen dicht beieinander. Beispiele für gen u n abhängige Zellreaktionen bieten die von C. Schöpf verwirklichten Synthesen von Alkaloiden unter physiologischen Bedingungen, bei denen es nur auf den  $pH$ -Wert des Zellsaftes anzukommen scheint.

## 10. Zusammenfassung

Wenn man die Probleme der biochemischen Genetik, von denen ich einige wenige besprochen habe, zusammenfassend betrachtet, so erkennt man:

1. daß die Synthese organischer Substanzen in den lebenden Zellen — ähnlich wie in unseren Fabriken — sich in einer großen Zahl aufeinanderfolgender Schritte abspielt, die scharf getrennt sind und von denen jeder einzelne von einem bestimmten Gen abhängig zu sein scheint;
2. daß die Wissenschaft auf diesem Gebiete erst in den Anfängen einer bedeutsamen Entwicklung steht;
3. daß schon heute praktische Ergebnisse (Heterosis bei Mais u. a.) erzielt werden, deren wirtschaftlicher Wert gewaltig ist;
4. daß die biochemische Genetik wegen ihrer Wechselbeziehungen zur Erzeugung an Düngemitteln, Schädlingsbekämpfungsmitteln, manchen Arzneimitteln usw. auch von Seiten der chemischen Industrie beachtet zu werden verdient.

Die Grenzen der Chemie haben sich in den letzten Jahrzehnten gewaltig geweitet. Einerseits durch Fortschritte der Physik, insbesondere der Kernphysik, andererseits durch die Entwicklung der Biologie, vor allem der Genetik.

In beiden Fällen hatten sich die Wege der Forschung von der Chemie und ihrer Methodik völlig gelöst. Die Physiker haben mit ihren Zählrohren und Nebelkammern einzelnen Partikeln und Strahlenbahnen nachgespürt. Aus dieser Arbeit sind Resultate hervorgegangen, die chemisch-präparative Wirklichkeit darstellen, wie die technische Gewinnung des Elements Nr. 94. Die Genetiker haben in ihren Mikroskopen nach den in den Chromosomen verankerten Erbanlagen gesucht und sind zu Resultaten gelangt, die eine Mehrproduktion von hunderttausenden von Tonnen/Jahr an organischer Substanz für unsere Ernährung und für unsere chemische Industrie bedeuten. So ist die Forschung auf beiden Wegen zunächst vom Wägbaren zum Unwägbaren, vom Sichtbaren zu dem mit feinsten Instrumenten eben noch Erkennbaren vorgedrungen; aus den dabei gewonnenen Erkenntnissen sind aber bald gewaltige Gewinne an Energie und an Materie hervorgegangen, welche für die Zukunft der Menschheit bestimmend sein können.

Die Isotopen wie die Gene haben die Probleme der Chemie in ungeahntem Maße bereichert. Wer immer als Chemiker das Glück hat, diese Entwicklung miterleben, wird einsehen, daß weitere Fortschritte auf beiden Flügelfronten der Chemie von der Verständigung mit den Nachbargebieten abhängen. Die Kenntnis oder mindestens das Verständnis ihrer Sprachen und ihrer Symbole spielt dabei eine besondere Rolle — mag es sich um die der Kernphysik oder um die der Genetik handeln. Wer vom Geiste der Wissenschaft beseelt ist, sollte sich nie zu alt fühlen, um die Sprache eines Nachbargebietes, wenn auch nicht vollkommen zu beherrschen, so doch verstehen zu wollen. Laßt uns vor allem die Jugend so erziehen, daß sie sich über Grenzen unserer Arbeitsgebiete hinweg — aber auch über andersartige Grenzen — zu verstehen und verständigen lernt. Es gibt keine größeren Schranken für den Fortschritt als Unkenntnis und Unverständnis.

In unseren Gedanken an die Zukunft glauben wir an das, was ein Mann gesagt hat, der — ein Kind Frankreichs und unsterblicher Genius — durch seine Arbeit allen Völkern der Erde eines der größten Geschenke gemacht hat. Wir glauben an das Wort von Louis Pasteur: „C'est ignorance qui sépare les hommes et la science qui les rapproche“.

Zusammenfassende Darstellung der biochemischen Genetik: G. W. Beadle, Chem. Reviews 37, 15-96 [1945]. — Genabhängigkeit biochemischer Reaktionen bei *Neurospora* (dtsh. Referat): H. Friedrich-Freska, Z. Naturforsch. 3b, 63 [1948] mit Zitaten der Originalabhandlungen. — Zum Problem der Heterosis bei Mais: H. Kuckuck, Pflanzenzüchtung, Sammlung Götschen Bd. 1134, dort weitere Literatur. — Resistenzfaktoren bei Kartoffeln und Tomaten: R. Kuhn u. J. Löw, Chem. Ber. 80, 406 [1947]; 81, 552 [1948]; R. Kuhn u. A. Gauhe, Z. Naturforsch. 2b, 407 [1947]; diese Ztschr. 60, 83 [1948]. — Bestimmung pflanzlicher Wuchs- und

Hemmstoffe nebeneinander: F. Moewus, Naturwiss. 35, 124 [1948]; diese Ztschr. 60, 336 [1948]. — Gene und Carcinom: G. W. Beadle, Chem. Reviews 37, 53 [1945]. — Pigmentbildung im Insektenauge: A. Butenandt, W. Weidle u. W. Derjugin, Naturwiss. 30, 51 [1942]; C. B. Bridges u. K. S. Brehme, Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 552 [1944]. — Genetik von *Chlamydomonas*: F. Moewus, Z. Vererbungslehre 78, 418 [1940]; Ergebn. der Biologie 18, 287 [1941]. Bericht Mosbacher Tagung, herausg. von B. Rajewsky, Frankfurt/M. [1948]. — Isolierung von Wirkstoffen aus *Chlamydomonas*: R. Kuhn u. J. Löw, Chem. Ber. 81, 363 [1948]; diese Ztschr. 60, 243 [1948]. Eingeg. am 5. I. 1949. [A 176]

## Zur Chemie des Streptomycins

Von Dipl.-Chem. H. B. KÖNIG

Aus der biochemischen Abteilung des Chem. Staatsinstitutes der Universität Hamburg

Durch systematisches Suchen nach einem gegen gramnegative Bakterien wirksamen Antibiotikum wurde 1944 das Streptomycin aus dem Pilz *Streptomyces griseus* durch Waksman, Bugie und Schatz in den USA gefunden und isoliert<sup>1)</sup>.

Unter Antibiotika verstehen wir allgemein chemische Substanzen, welche von einem oder mehreren lebenden Organismen gebildet werden und schon in relativ geringen Konzentrationen — mehr oder weniger selektive — antimikrobiische Eigenschaften besitzen, die entweder hemmender oder toxischer Art sind. Wenn auch einige Antibiotika lytische Eigenschaften zeigen, so wird doch in der Regel Lysis von ihnen nicht hervorgerufen. Man kann Antibiotika chemotherapeutisch benutzen, wenn sie genügend atoxisch und stabil sind. Sie zeichnen sich, soweit sie als Heilmittel in Frage kommen, im Gegensatz zu den klassischen Chemotherapeutika vor allem durch ihre meist große Wirkungsbreite, Wirkungstiefe und mitunter enorme Ungiftigkeit aus.

Das Streptomycin hat eine starke bakteriostatische Wirksamkeit gegenüber zahlreichen pathogenen gramnegativen aber auch grampositiven Bakterien. Seine Toxizität ist gering, weshalb klinische Versuche in großem Stil durchgeführt werden konnten. Die Hoffnung, ein umfassendes Mittel gegen die verschiedenen Erscheinungsformen und Entwicklungsstadien der Tuberkulose gefunden zu haben, hat sich leider nicht bestätigt. Immerhin stellt das Streptomycin bei der tuberkulösen Meningitis, bei gewissen tuberkulösen Geschwüren und zum Teil auch bei der ganz frischen Lungentuberkulose ein wirksames Heilmittel dar. Die gewöhnliche cavernöse, fibröse Phthise (Schwindsucht) bleibt durch Streptomycin unbeeinflusst. Diese Aussagen sind aber noch nicht als endgültig anzusehen, da die klinischen Versuche noch nicht abgeschlossen sind. Zur Resistenzentwicklung bei der Streptomycin-Therapie ist zu sagen, daß auch hier die Dinge, wie bei den klinischen Versuchen, ungünstiger liegen als beim Penicillin. Da oft sehr langwierige mehrmonatige Behandlungen mit dazu noch relativ sehr hohen Dosen erforderlich sind, ist verständlich, daß die ureigenste Eigenschaft der Mikroorganismen, die der Anpassungsfähigkeit, hier weit eher in Erscheinung treten kann.

Die technische Gewinnung des Streptomycins aus der Kulturflüssigkeit des Pilzes *Streptomyces griseus* wird hauptsächlich in den USA ausgeführt und hat inzwischen eine Monatsproduktion von 1300 kg überschritten<sup>2)</sup>.

Die Aufgaben des Chemikers bestehen darin, von möglichst vielen Antibiotika die Struktur sicherzustellen, um so später einmal Deutungen bezüglich des Zusammenhanges zwischen chemischer Konstitution und physiologischer Wirkung möglich zu machen, und die Grundlagen für Synthesen zu schaffen. Nachdem bereits zusammengefaßte Beiträge über die technische, chemotherapeutische und biologische Seite des Streptomycins vorliegen<sup>3, 4)</sup>, soll hier speziell die Konstitutionsermittlung dargestellt werden<sup>4)</sup>.

Die erfolgreiche Konstitutionsaufklärung des Streptomycins fußt hauptsächlich auf den zahlreichen Arbeiten von Folkers, Kuehl, Wintersteiner, Wolfrom, Fried, Moore, Rebslock und Mitarbeitern, die 1945/47 erschienen sind. Auf Grund dieser Arbeiten kann die Struktur des Streptomycins mit Ausnahme einiger noch ungeklärter sterischer Fragen heute im Sinne folgender Formel als gesichert angesehen werden<sup>5)</sup>.

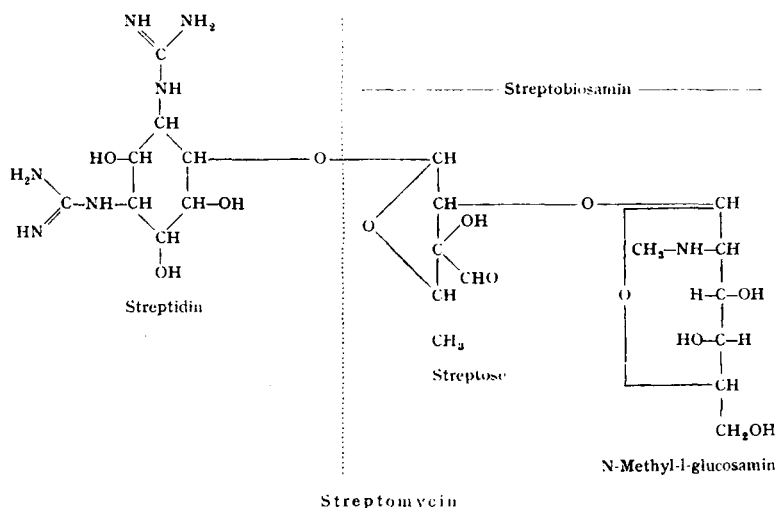
<sup>1)</sup> Waksman, Bugie, Schatz, Proc. Mayo Clin. 19, 537 [1944]

<sup>2)</sup> Saenger, Pharmazie 2, 193 [1947]; vgl. auch diese Ztschr. B 20, 87 [1947].

<sup>3)</sup> Wagner-Jauregg, Pharmazie 2, 481 [1947].

<sup>4)</sup> Von der ausreichend, wenn auch nicht ganz lückenlos zur Verfügung stehenden amerikanischen Literatur wurde dasjenige, welches für eine übersichtliche Darstellung der Konstitutionsaufklärung von Belang ist, nach sachlichen Gesichtspunkten unter Hintanstellung der zeitlichen Reihenfolge zusammengestellt.

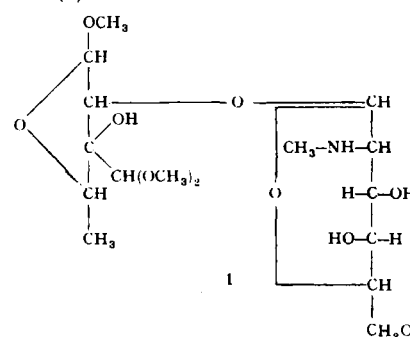
<sup>5)</sup> Kuehl, Peck, Hoffhine, Peel, Folkers, J. Amer. Chem. Soc. 69, 1234 [1947].



Das Streptomycin stellt also einen ungewöhnlichen Typ eines Trisaccharides, bestehend aus den drei Monosacchariden: Streptidins, Streptose (bzw. Streptonose) und N-Methyl-l-glucosamin dar, welche glykosidisch miteinander verbunden sind. Es gelang K. Folkers und Mitarbeitern zuerst den Glucosamin-Teil wie folgt zu identifizieren<sup>6)</sup>.

### N-Methyl-l-glucosamin

Bei Einwirkung methanolischer Salzsäure auf Streptomycin<sup>7, 8, 9)</sup>, das man auch als Streptidyl-streptobiosaminid formulieren kann, entsteht unter Abspaltung des Streptidins (Methanolyse) Methyl-streptobiosaminid-dimethyl-acetal (I):



Durch Behandlung mit starker Säure (Kochen mit konz. HCl) wird dieses unter Hydrolyse der glykosidischen Bindung zwischen den beiden Zuckern weiter abgebaut und liefert nach Acetylierung der amorphen Reaktionsprodukte als kristallines Spaltprodukt ein Pentaacetyl-

hexosamin (II): C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>10</sub>/Fp. = 160,5-161,5°/α<sub>D</sub><sup>25</sup> = -100° (in HClO<sub>4</sub>)<sup>10)</sup>

Dieses Hexosamin-pentaacetat geht bei Einwirkung von Salzsäure unter Verlust seiner Acetyl-Gruppen in das entsprechende Hexosamin-hydrochlorid (III): C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>O<sub>5</sub>N · HCl/ Fp = 160-163° / α<sub>D</sub><sup>25</sup> = -103° bis -88° (Wasser) über. Mittels Silberoxyd läßt sich daraus die freie Base (IV) gewinnen, eine farblose zähe Masse: α<sub>D</sub><sup>25</sup> = -65° (Methanol), welche durch Quecksilberoxyd zu der entsprechenden Hexosaminsäure (V): Fp = 230 bis 232°, oxydiert wird. Im Schmelzpunkt und dem Betrag der optischen Drehung ist diese Säure identisch mit der N-Methyl-d-

<sup>6)</sup> Kuehl, Flynn, Holly, Mozingo, Folkers, ebenda 68, 536 [1946].

<sup>7)</sup> Fried, Wintersteiner, J. biol. Chemistry 162, 393 [1946].

<sup>8)</sup> Carter, Clark, Dickman, Loo, Skell, Strong, Science [New York] 103, 540 [1946].

<sup>9)</sup> Peck, Hoffhine, Peel, Graber, Holly, Mozingo, Folkers, J. Amer. Chem. Soc. 68, 776 [1946].

<sup>10)</sup> Auf Grund welcher Ergebnisse die amerikanischen Autoren hier auf das Vorliegen eines Hexosamins schlossen kann wegen Fehlens der entsprechenden Literatur nicht wiedergegeben werden.