

# Wie vermehrt sich ein Bakteriophage?

Von Prof. Dr. M. DELBRÜCK, Pasadena<sup>1)</sup>

California Institute of Technology Pasadena, U.S.A.

z. Zt. Max-Planck-Institut für physikalische Chemie, Göttingen

Bakteriophagen, kleinste Gebilde, die doch die wesentlichen Züge eines lebenden Organismus tragen, spielen bei den Bakterien die gleiche Rolle, wie die Viren bei Tier und Pflanze. Sie dringen in Bakterienzellen ein, vermehren sich dort und lösen bei ihrem Austritt die Bakterienstruktur auf. Seit einigen Jahren benutzt man sie zum Studium des Vermehrungsproblems. Es wird besonders die Frage behandelt, wie Desoxyribonucleinsäure als das eigentliche Fortpflanzungsmaterial die biologische und genetische Spezifität der Phagen vermitteln kann (Informationstheorie). Ferner wird das Problem der Phagenregeneration nach Strahleneinwirkung diskutiert.

Am eindrucksvollsten ist bei Bakteriophagen<sup>2)</sup> die Schnelligkeit ihrer Vermehrung. Ein mit einem Phagenpartikelchen infiziertes Bakterium kann 20 min später mehrere hundert Tochterphagen freigeben. Diese Vermehrung muß, wie alle biologischen Vermehrungserscheinungen, bis in die kleinsten Feinheiten des Molekelaufbaus exakt sein. Ein Phagenpartikelchen mag zwar im Vergleich mit anderen Organismen recht klein scheinen, vom Standpunkt des Chemikers aus betrachtet ist es aber doch noch immer riesig und zwar rund eine Milliarde mal so schwer wie ein Wasserstoffatom. Die Fähigkeit, komplexe Molekelstrukturen immer wieder genau nachzubilden, ist das grundlegendste und allgemeinste Charakteristikum eines lebenden Organismus und gleichzeitig vom chemischen Standpunkt aus das geheimnisvollste. Aus manchen Gründen sind die Phagen ein zweckmäßiges Material zur Klärung dieses Problems.

## Die zentrale Bedeutung der Desoxyribonucleinsäure

Ohne Zweifel war die interessanteste Entdeckung auf diesem Gebiet die Feststellung durch *Hershey* und *Chase*<sup>3)</sup>, daß für die Vermehrung eines Phagen die Desoxyribonucleinsäure (DNS) und nicht das Eiweiß von Wichtigkeit ist, und daß die DNS das eigentliche genetische Material darstellt. Das Eiweiß bildet für den Phagen eine Hülle und vielleicht noch einige weitere Organellen, solange dieses im extrazellulären Zustand zu finden ist. Diese Organellen (Organellen sind Differenzierungen des Protoplasmaleibes von z. B. Protozoen; sie dienen zur Fortbewegung, Verdauung usw.) mögen zum Schutz für die Nucleinsäure wichtig sein und auch dafür, daß diese in das Bakterium hinein gelangen kann, aber sie scheinen keine weitere Aufgabe zu haben und selbst nicht in das Bakterium einzudringen. Die Auffassung, daß die DNS Träger einer biologischen Spezifität sei, ist natürlich nicht neu und wurde bereits mehrere Jahre vor der Arbeit von *Hershey* und *Chase* durch eingehende experimentelle Ergebnisse gestützt, wobei gezeigt wurde, daß das typenverändernde Prinzip in Pneumokokken die DNS ist. Die Entdeckung von *Hershey* und *Chase* jedoch geht weit über diese Tatsache hinaus. Die Versuche mit Pneumokokken zeigten, daß gewisse Erbanlagen eines Pneumokokkentyps unter dem Einfluß von DNS, die aus einem anderen

Typ extrahiert worden war, verändert werden können. Der Versuch von *Hershey* und *Chase* zeigt, daß die gesamte genetische „Information“<sup>4)</sup> über einen Organismus in seiner DNS enthalten ist. Dies bedeutet natürlich nicht, daß die Gesamtinformation oder ein Teil derselben nicht auch als Übersetzung in andere Verschlüsselungssysteme vorkommen kann, wie z. B. in das Codesystem von Protein, das von Ribonucleinsäure (RNS) oder einer Kombination von Protein und Ribonucleinsäure. Sehr wahrscheinlich kommen sogar derartige Übersetzungen vor und spielen z. B. bei den Pflanzenviren eine wichtige Rolle, aber das ist alles, was wir heute darüber sagen können.

Die Wichtigkeit der Entdeckung von *Hershey* und *Chase* liegt darin, daß wir damit ein Stadium im Lebenszyklus der Phagen erfassen können, in dem sie aus nichts anderem als nur noch aus DNS bestehen.

## Die Struktur der Desoxyribonucleinsäure-Ketten

Es ist ein Glücksfall, daß gleichzeitig mit der Entdeckung dieser Funktion der Desoxyribonucleinsäure, auch wichtige Einblicke in die physikalische und chemische Struktur dieser Stoffklasse erzielt wurden, die darin

<sup>4)</sup> In den folgenden Zellen werden wir einige Begriffe der Informationstheorie benutzen, ohne jedoch auf Einzelheiten dieser Theorie einzugehen. Vielleicht ist diese kleine Abschweifung für die mit diesen Begriffen nicht vertrauten Leser angezeigt. Wenn wir sagen, daß die Gene „Informationen“ tragen, meinen wir nichts Neues. Wir konzentrieren unsere Aufmerksamkeit nur auf einen Aspekt dieser Determinanten der organischen Entwicklung. Dieser ist die Anzahl der möglichen organischen Entwicklungen aus der der spezielle Gen-Satz eine spezielle Entwicklung aussondert, die sich aus der in ihm enthaltenen spezifischen „Information“ ergibt. Üblicherweise wird der Logarithmus zur Basis 2 der Zahl der Möglichkeiten, aus der heraus die Wahl getroffen wird, als ein Maß für die Informationsmenge verwendet. Dieses Maß ist von der Sprache, der Schreibweise oder dem Verschlüsselungssystem, in denen die Mitteilung gegeben wird, unabhängig. Um ein Beispiel zu geben: wenn der Vorsitzende einer Versammlung bekanntlich genau drei Standardarten zur Verfügung hat, um einem bestimmten Sprecher den Dank der Zuhörerschaft zum Ausdruck zu bringen, dann kann er dies in irgendeiner ihm beliebigen Sprache tun, verblümt oder direkt, mündlich, schriftlich oder durch Telegramm. Die in seiner Mitteilung enthaltene Informationsmenge wird immer die gleiche sein, solange die informierte Person mit der Zahl der Möglichkeiten vertraut ist, die vor Übersendung der Mitteilung bestanden.

Das Haupttheorem der Informationstheorie ist an sich klar: wird eine Mitteilung übersetzt oder umgeschrieben, dann kann sie Verstärkungen oder Verdrehungen und damit eine Verringerung des ursprünglichen Informationsgehaltes erleiden. Aber der Informationsgehalt kann durch diese Behandlung nicht erhöht werden. Prinzipiell liegen die Schwierigkeiten der Theorie in der korrekten Aufzählung der Alternativmöglichkeiten. Mitteilungen können mit Hilfe vieler Systeme verschlüsselt werden, wobei Zeichen wie Punkte und Striche, Zahlen, Buchstaben, Kurven usw. in Betracht kommen. Allgemein gilt: je weniger Zeichen zur Verfügung stehen, um so länger wird die Mitteilung. Im Morsecode, der nur zwei Zeichen verwendet, braucht man Gruppen bis zu fünf Zeichen, um einen einzigen Buchstaben des Alphabets wiederzugeben.

Als zum ersten Mal daran gedacht wurde, daß die DNS Träger einer biologischen Spezifität sein könnte, war man sofort mit dem Argument zur Stelle, daß derartige Molekeln nicht genügend Spezifität in sich bergen könnten, da an ihrem Aufbau nur 4 verschiedene Basen beteiligt sind, während Proteine etliche 20 Bausteine haben. Dieser nie ganz überzeugende Einwurf war so lange gewichtig, wie nicht ein eleganter Weg zu seiner Überwindung aufgezeigt wurde. Das aber ist nunmehr erreicht.

<sup>1)</sup> Vortrag anläßlich der wissenschaftlichen Tagung zur 100. Wiederkehr der Geburtstage von *Paul Ehrlich* und *Emil v. Behring* am 16. 3. 1954 in Frankfurt/M.-Höchst.

<sup>2)</sup> „Viruses“ Cold Spring Harbour Sympos. quantit. Biol., Bd. 18 [1953] 302 u. XVIpp., Long Island Biol. Assoc., Cold Spring Harbour, Long Island/USA. Dieser Band enthält detaillierte Übersichten über hier berührte Fragen der Phagenforschung.

<sup>3)</sup> A. D. *Hershey* u. M. *Chase*, „Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage“, J. Gen. Physiol. 36, 39–56 [1952].

gipfelten, daß *Watson und Crick*<sup>5)</sup> eine höchst bemerkenswerte Struktur vorschlugen, die folgende Merkmale zeigt (s. Bild 1 u. 2):

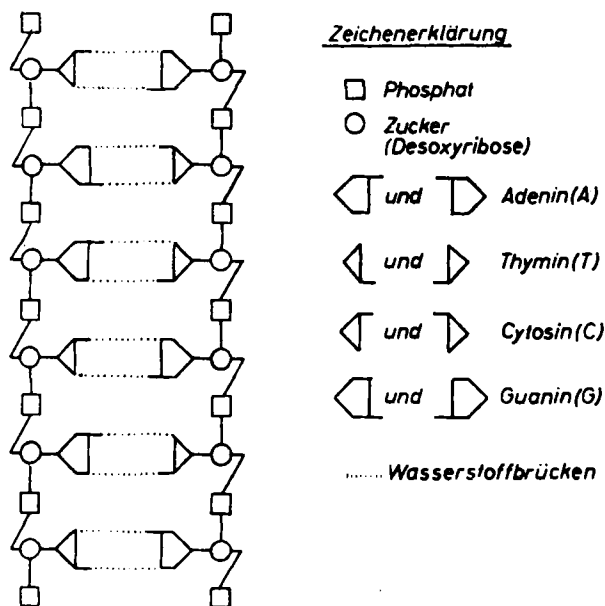


Bild 1

Schematische chemische Formel der DNS ohne Berücksichtigung der Spiralisierung. Die Basen sind so angeordnet, daß immer A gegenüber von T, und C gegenüber von G steht. In der Längsrichtung unterliegt die Reihenfolge der Basen keinem von der chemischen Struktur auferlegten Ordnungsprinzip. In dem Beispiel dieses Bildes enthält die linke Kette das „chiffrierte Telegramm“ C G A C A T, während die rechte Kette dieselbe Information in dem komplementären Code also das Telegramm G C T G T A, enthält.

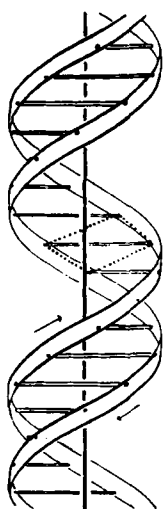


Bild 2

Die spirallige Windung der beiden Polynucleotidketten der DNS um eine gemeinsame Achse. Die horizontale Doppelstriche stellen die Wasserstoff-Brücken dar und jeder kleine Kreis ein Kettenglied. Eine Gamowsche Nische ist punktiert umrandet.

1. Die grobe topologische Struktur ist die eines sehr langen Fadens, der zu einem kleinen Volumen zusammengeknäult ist. Bei dem Phagen T2 z. B. ist die DNS in ein Volumen von 1/20000 mm Durchmesser zusammengerollt, während die Länge des Fadens selber das Tausendfache dieses Durchmessers beträgt.
2. Dieser lange Faden besteht in Wirklichkeit aus zwei Polynucleotidketten, von denen jede die Gesamtinformation enthält (Bild 1). Auf diesen beiden Ketten ist die Information in Komplementär-Codes eingedruckt, und zwar handelt es sich um Codes, die vier Symbole (Buchstaben) verwenden. Diese beiden Codes sind zueinander komplementär wie ein Morsecode einem anderen komplementär ist, bei dem die Punkte durch Striche und die Striche durch Punkte ersetzt sind.

Unter Zugrundelegung dieser beiden Tatsachen 1 und 2, nämlich daß die Phagenvermehrung mit der

nackten DNS beginnt und daß die DNS als Doppelform zweier Informationsketten vorliegt, auf denen die Information in komplementären viergliedrigen Codes eingedruckt ist, ergeben sich sofort zwei faszinierende Fragen, die

bisher nur vage und ungewiß beantwortet werden konnten:

1. Wie wird die auf den Ketten eingetragene Information abgelesen bzw. übertragen, damit auch die in ihr enthaltenen Befehle ausgeführt werden?
2. Wie wird diese Information vervielfältigt?

Zur Frage 1 möchten wir an eine Tatsache erinnern, die auf den ersten Blick peinlich scheint. Der Code, der auf dem DNS-Band verwendet wird, ist viergliedrig, d. h. die Information wird durch die Reihenfolge von vier verschiedenen organischen Basen gegeben, die die Seitenketten einer langen Hauptkette identischer Glieder bilden. Diese Information muß neben vielen anderen Dingen auch die Bestimmung der Aminosäure-Folge der Proteine des Phagen enthalten. Nun wissen wir aber, daß diese Proteine nicht 4, sondern über 20 Aminosäuren enthalten, und es könnte schwierig erscheinen innerhalb der Möglichkeiten der chemischen Kinetik einen viergliedrigen Code in einen Code zu übertragen, der etwa 20 Glieder aufweist. Wahrscheinlich gibt es viele Möglichkeiten, um aus dieser Schwierigkeit herauszukommen, aber *Gamow*<sup>6)</sup> hat einen besonders plausiblen Weg hierfür vorgeschlagen, demzufolge die Vorlage für die Übertragung nicht die einzelne DNS-Kette sondern das Doppelband der DNS ist. Er stellte fest, daß diese Struktur rhombische Nischen enthält, von denen jede durch vier Nucleinsäure-Glieder begrenzt ist, und zwar sind jeweils drei davon willkürlich (Bild 2). Somit ergeben sich 64 verschiedene Nischen, und es ist denkbar, daß jede ein Glied einer intermediären Übertragung des primären Codes bestimmt. In diesem Zusammenhang sei nebenbei festgestellt, daß das Problem der Unterteilbarkeit des genetischen Materials und der Natur der Gene nun in einem ganz neuen Licht erscheint. Schon seit geraumer Zeit gibt es einen beträchtlichen Streit über die Frage, ob das genetische Material in strukturell und funktionell gesonderte Gene geteilt ist oder nicht und ob, wenn dies der Fall ist, diese beiden Unterteilungen übereinstimmen. Aus dem, was wir gerade über die Übertragung des DNS-Codes in einen anderen Code einschließlich des Protein-Codes gesagt haben, ist es gut denkbar, daß ein strukturell vollkommen intaktes DNS-Band bei der Übertragung in kürzere oder längere „Wörter“ zerfallen kann. Damit das eintritt, braucht der DNS-Code nur gelegentlich eine Nische zu bilden, die dem Begriff „Zwischenraum“ entspricht, d. h. in die kein Glied des zweiten Codes hineinpaßt. Auf diese Weise ist ein strukturell kontinuierliches Band recht gut mit einem funktionell diskontinuierlichen zu vereinbaren.

### Vervielfältigung der Kettenstruktur

Zur weiteren Frage, nämlich der der Vervielfältigung, weist die von *Watson und Crick* vorgeschlagene Struktur sofort auf folgende faszinierende Möglichkeit hin: Die Vervielfältigung einer Doppelform zweier Komplementärketten ist durch einen Prozeß möglich, bei dem jede Kette die Synthese einer komplementären und nicht die einer identischen Struktur katalysiert. Wir können diesen Prozeß aber noch nicht im Detail beschreiben. Z. B. wissen wir nicht, ob die ursprünglichen Ketten sich erst über einen erheblichen Längenbereich trennen und dann ihre Komplemente bilden, oder ob die Trennung der primären Ketten und der Anbau neuer Komplementärglieder Hand in Hand verlaufen. Weiterhin ergeben sich unangenehme topologische Schwierigkeiten aus der Tatsache, daß in dem Modell von *Watson und Crick* die beiden primären Ketten

<sup>5)</sup> J. D. Watson u. F. H. C. Crick, „A structure for desoxyribose nucleic acid“, *Nature* [London] 171, 737 [1953] u. „Genetical implications of the structure of desoxyribonucleic acid“, ebenda 171, 964 [1953]. Vgl. auch diese Ztschr. 65, 220, 404 [1953].

<sup>6)</sup> G. Gamow u. C. G. H. Tompkins, „Protein synthesis by DNS molecules“, *Medd. Kong. Dansk Vidensk. Selskab*, im Druck.

schraubenartig umeinander gewunden sind (Bild 2)<sup>7)</sup>, sowie weitere Schwierigkeiten, die wir hier nicht zu erwähnen brauchen. Trotz dieser Schwierigkeiten hat der vorgeschlagene Mechanismus hohe Überzeugungskraft. Um dies zu verstehen, wollen wir die Natur des Problems, das die Zelle zu lösen hat, etwas genauer betrachten. Eine vier-gliedrige lange, in einem Alphabet mit vier Buchstaben geschriebene Mitteilung muß Glied für Glied nachgebildet werden, d.h. bei der Synthese eines langkettigen Polymers benötigen wir einen Mechanismus, der bei jedem Schritt in der Lage ist, mit Sicherheit drei von vier sich anbietenden Molekeln zu verwerfen. Bei jedem Schritt benötigen wir eine spezifische Enzym-Oberfläche, und zwar eine von vier verschiedenen, die jeweils durch die Reihenfolge der Glieder in der primären Kette bedingt ist. Dies ist aber genau das, was das Modell von *Watson* und *Crick* uns liefert. Jedes dem neu synthetisierten Komplement zugefügte Glied erzeugt zusammen mit dem nächsten Glied der primären Kette eine sterische Konfiguration, die mit Sicherheit in der Lage ist, die drei falschen Molekelarten zu verwerfen und die richtige zuzulassen. Es ist kaum glaublich, daß die Natur von dieser wunderbaren Erfindung der Herren *Watson* und *Crick* keinen Gebrauch gemacht haben sollte.

Schon mehrere Jahre, bevor alle diese neuen Entwicklungen begannen, haben Phagen-Forscher eifrig versucht, Ursprung und Schicksal der chemischen Komponenten der Phagen, nämlich Eiweiß, Phosphor, Stickstoff, Schwefel, Purin, Pyrimidin usw., aufzuklären. Das größte Interesse wendet sich jetzt natürlich den Untersuchungen über die Desoxyribonucleinsäure zu, von denen wir mehr über den engeren Mechanismus der Vervielfältigung zu erfahren hoffen. Wir wollen dabei besonders auf die Untersuchungen näher eingehen, bei denen der Phosphor des infizierenden Phagen mit dem radioaktiven Phosphor-Isotop <sup>32</sup>P markiert wurde. Es ergeben sich dabei zwei Fragen:

1. Welches Maß an Radioaktivität finden wir in den Tochterphagen?
2. Wo ist diese Radioaktivität lokalisiert, in einem einzelnen der Tochterphagen oder über viele von ihnen verteilt?

Wir wollen zunächst betrachten, was wir aus dem zuvor Gesagten erwarten können. Wenn der Mechanismus so einfach wäre, wie wir es angegeben haben, daß nämlich jede Kette der primär vorliegenden Doppelform die Synthese einer komplementären Kette bewirkt, dann könnten wir zwei Voraussetzungen machen:

1. 100% des Phosphor-Gehaltes des infizierenden Phagenpartikels wird auf die Tochterphagen übertragen.
2. Eine der Ketten des infizierenden Partikels ist in einem der Tochterphagen lokalisiert und die andere Kette in einem anderen; in allen übrigen würde dann kein <sup>32</sup>P vorgefunden werden.

Sorgfältige Versuche in verschiedenen Laboratorien stehen in glattem Widerspruch zu der ersten Voraussage und ergeben bezüglich der zweiten Voraussage keine klare Antwort. Statt einer 100proz. Übertragung des Phosphors des infizierenden Partikels auf die Nachkommenschaft ist nur eine solche von 30–50% feststellbar (*Kozloff*<sup>8)</sup>). Der übertragene Phosphor ist wahrscheinlich auf mehr als zwei der Tochterphagen verteilt. Erörtern wir zuerst das Defizit bei der übertragenen Menge. Gibt es vielleicht einen

Anteil überschüssiger DNS, die überhaupt nicht übertragen wird? Oder wird nur eine der Ketten als Muster verwendet und die andere Kette zerstört? Stellt in beiden Fällen der übertragene Anteil zum Teil oder ganz das ursprüngliche genetische Material dar oder handelt es sich hier um ein Material, das zuerst in Fragmente aufgeteilt und dann wieder zusammengefügt wurde?

Die Auffassung, daß nur ein kleiner Teil der DNS eines Phagenpartikelchens tatsächlich notwendiges genetisches Material darstellt, gewann vor einigen Jahren an Boden, als *Hershey* und Mitarbeiter<sup>8)</sup> folgende Feststellung machten: Wird eine Phagen-Suspension mit radioaktivem Phosphor markiert und daraus während des Abfalls der Radioaktivität von Zeit zu Zeit eine Probe entnommen, so stellt man fest, daß die Phagen absterben. Dieses Absterben erfolgt gemäß einem Ein-Treffer-Mechanismus und zwar so, daß pro zerfallendes Phosphor-Atom die Wahrscheinlichkeit 1:12 besteht, daß ein Phagenpartikelchen getötet wird. Man dachte, daß dieser Bruchteil von  $\frac{1}{12}$  darauf hinweisen könnte, daß nur ungefähr  $\frac{1}{12}$  der Nucleinsäure eines Phagenpartikelchens tatsächlich wesentlich ist. Neue Versuche von *Stent*<sup>9)</sup> haben jedoch gezeigt, daß dieser Bruchteil von  $\frac{1}{12}$  für verschiedene Phagenstämme der gleiche ist und daß er sich bei jedem Phagenstamm in Abhängigkeit von der Temperatur ändert. Deshalb ist es unwahrscheinlich, daß er eine Aufteilung in zwei verschiedene DNS-Typen andeutet, jedoch sehr wahrscheinlich, daß er eine geringe Wahrscheinlichkeit für die tödlichen Folgen eines jeden zerfallenden Phosphor-Atoms zum Ausdruck bringt. Aus der von *Watson* und *Crick* vorgeschlagenen Struktur ergeben sich mehrere Möglichkeiten, diese niedrige Wirksamkeit zu erklären.

Kehren wir zurück zu dem Problem, wie der Phosphor vom infizierenden Phagen auf die Tochterphagen übertragen wird, und verwerfen wir den Ausweg, daß das Fehlen einer 100proz. Übertragung durch eine Aufteilung der Nucleinsäure in einen genetischen und einen nichtgenetischen Teil bedingt ist; desgleichen, daß dies die Übertragung nur einer der beiden Ketten der Doppelform zum Ausdruck bringt, da dies eine Asymmetrie zwischen den beiden Ketten im infizierenden Partikel voraussetzen würde, was im Widerspruch zur angenommenen Struktur steht. Nach Ausschaltung dieser beiden Auswege müssen wir folgern, daß der Verlust von 50% oder mehr des ursprünglichen Phosphor-Gehaltes ein wesentliches Element im Mechanismus der Vermehrung ist. Es sei jedoch daran erinnert, daß der 50proz. Verlust nicht während einer Verdoppelung, sondern bei einer Vermehrung von 1 auf – sagen wir – 500 Partikelchen oder in 9 aufeinanderfolgenden Teilungen eintritt. Pro Teilung müssen wir deshalb mit einem Verlust von etwa 5% Phosphor und dessen Ersatz durch assimilierten Phosphor rechnen. Es ist denkbar, daß dieser Verlust mit Brüchen und Wiedervereinigungen im Zusammenhang steht, die erforderlich sind, um die schraubenförmig umeinander gewundenen Tochterdoppelformen zu entwirren. Bei solchen Brüchen und Wiedervereinigungen könnte wohl ein Austausch mit dem Wirtsmaterial stattfinden<sup>7)</sup>.

Nun wollen wir die zweite, zuvor erwähnte Voraussage betrachten, die die Übertragung von ursprünglichem <sup>32</sup>P betrifft, nämlich die Voraussage, daß jede Kette der ursprünglichen Doppelform intakt bleibt und daß das ursprüngliche <sup>32</sup>P daher nur in zwei der vielen Nachkommenpartikel gefunden werden sollte. Diese Voraussage muß

<sup>7)</sup> M. Delbrück, „On the replication of desoxyribonucleic acid (DNS)“, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1954 im Druck.

<sup>8)</sup> A. D. Hershey, M. D. Kamen, J. W. Kennedy u. M. Gest, „The mortality of bacteriophage containing assimilated radioactive phosphorus“, *J. Gen. Physiol.* 34, 305–319 [1951].

vor allem abgeändert werden, um den Substitutionen durch assimilierten Phosphor Rechnung zu tragen, von denen wir nach obigem annehmen, daß sie bei jeder Verdoppelung eintreten. Diese Substitutionen könnten die Ketten an sich noch intakt lassen. Setzt man jedoch einmal Brüche und Wiedervereinigungen voraus, um die Verhakung der Tochterketten zu lösen, so besteht die Möglichkeit, daß eine Wiedervereinigung nicht die Stücke der ursprünglichen Kette vereint, sondern manchmal oder vielleicht sogar immer eine ursprüngliche Kette mit einer durch Synthese neu gebildeten Kette des gleichen Codes. Tritt dies bei jeder halben Drehung der Schraube (bei jedem 5. Kettenglied) ein, dann werden die Tochterpartikelchen den ursprünglichen Phosphor nicht in einer ihrer Ketten, sondern in rasch wechselnder Folge in der einen oder anderen ihrer Ketten enthalten. In diesem Falle werden die Töchter jeweils einen gleichen Anteil am ursprünglichen  $^{32}\text{P}$  erhalten, und die Markierung der einzelnen Phagen mit  $^{32}\text{P}$  nimmt während der Vermehrung annähernd exponentiell ab.

Es besteht ein weiterer Grund, eine weitreichende Verteilung des ursprünglichen  $^{32}\text{P}$  zu erwarten. Phagen haben wie höhere Organismen einen Mechanismus für genetischen Faktorenaustausch, der zur Auswirkung kommt, wenn zwei oder mehr verwandte Phagen das gleiche Bakterium infizieren. Bei einer Gruppe von *Coli*-Phagen, die in den letzten Jahren am meisten untersucht wurde und die die Phagen T2, T4 und T6 enthält, wurde der Faktorenaustausch durch ein Schema<sup>9)</sup> interpretiert, bei dem jedes der mehreren hundert Partikel, die in einem Bakterium entstehen, mehrere Zusammentreffen mit anderen Partikeln haben, bei denen ein Austausch von genetischem Material stattfinden kann. Es scheint uns wahrscheinlich, daß der Mechanismus des Faktorenaustausches bei einem solchen Zusammentreffen zwischen zwei intrazellulären Phagenpartikeln dem „crossing over“ bei der Meiose in höheren Organismen ähnlich ist. Dies würde bedeuten, daß jedes Zusammentreffen mit einer Verdoppelung verbunden ist, so daß es vier meiotische Produkte gibt, von denen nur je zwei einen Faktorenaustausch an einer bestimmten Stelle aufweisen würden.

Es wurde gezeigt, daß dieser Faktorenaustausch auch bei anderen Phagenarten und selbst bei tierischen Viren eintritt. In einer Reihe schöner Experimente hat *Bresch*<sup>10)</sup> den Faktorenaustausch in dem Phagen T1 analysiert und gefolgert, daß alles so vor sich geht, wie es bei T2 und T4 beschrieben ist, außer, daß die Zusammentreffen, die zu einem Austausch führen, weniger häufig sind. Ähnlich passen sich die Feststellungen von *Fraser* und *Dulbecco*<sup>11)</sup> für T3, von *Murphy*<sup>12)</sup> für einen Megatherium-Phagen und von *Kaiser*<sup>13)</sup> für den Phagen, dessen Wirt *Coli* K12 ist, in das gleiche Schema ein, wobei jedoch eine noch geringere Häufigkeit von genetischen Austauschvorgängen anzunehmen ist.

Solche Austauschvorgänge von genetischem Material gehen sicherlich Hand in Hand mit dem Austausch wirklicher Atome, und aus diesem Grunde allein dürften die Phosphor-Atome des oder der infizierenden Phagen-Partikel auf viele Tochterphagen verteilt sein, zumindest in den Systemen, bei denen die genetischen Austauschvorgänge häufig sind.

## Strahlungswirkung auf Phagen und der Reaktivierungsmechanismus

An dieser Stelle möchte ich einige Bemerkungen über das komplizierte Gebiet der Strahlungswirkungen auf Phagen einschalten. Wir haben bereits erwähnt, daß Phagen durch radioaktiven Zerfall von eingebautem  $^{32}\text{P}$  inaktiviert werden können. Sie können auch, wie andere Organismen, durch ultraviolettes Licht und durch ionisierende Strahlen inaktiviert werden. Einige der durch diese Strahlen hervorgerufenen Schäden können durch nichts rückgängig gemacht werden, während für andere hochinteressante Reaktivierungsmechanismen entdeckt wurden. So scheint ein wesentlicher Teil der durch ultraviolette Strahlen in der Phagen-DNS verursachten photochemischen Wirkungen durch eine Reaktion, bei der das Wirtsbakterium hilft, rückgängig gemacht werden zu können. Man muß dazu den Wirt langwelligen ultravioletten Strahlen aussetzen. Bei dieser Art von Schäden muß es sich um eine hoch-spezifische photochemische Änderung handeln, und die Reaktivierung besteht wahrscheinlich aus einer echten Rückläufigkeit der chemischen Änderung (s. *Bowen*, zit. nach<sup>2)</sup>).

Die durch ionisierende Strahlen hervorgerufenen Schäden sind wahrscheinlich nicht spezifisch, sondern eine Mischung einer gewaltigen Vielzahl chemischer Reaktionen, darunter auch als kleiner Bruchteil die durch UV verursachte photo-reaktivarbare Reaktion. Es ist deshalb verständlich, daß Röntgenstrahlenschäden nicht, oder nur in geringem Maße photo-reaktivarbar sind. *Luria*<sup>14, 15)</sup> entdeckte jedoch vor sechs Jahren eine andere Methode der Reaktivierung von UV-geschädigten Phagen, die darin besteht, Bakterien gleichzeitig mit mehreren geschädigten Virenpartikeln zu infizieren. *Luria* nahm an, daß diese „Reaktivierung durch Mehrfachinfektion“ nicht durch direkte Reversion des primären Schadens bewirkt wird, sondern durch einen Prozeß, der dem genetischen Faktorenaustausch ähnlich ist. Er nahm an, daß die geschädigten Partikel ihre ungeschädigten Teile kombinieren und daraus komplette lebensfähige Partikel konstruieren. Die Einzelheiten des von *Luria* angenommenen Mechanismus gerieten später in Mißkredit, als eine eingehende Untersuchung der quantitativen Aspekte der Reaktivierung durch Mehrfachinfektion durch *Dulbecco*<sup>16)</sup> einige starke Abweichungen zwischen Theorie und Experiment aufzeigte. Die grundsätzliche Idee kann sich jedoch aus folgendem Grund als richtig erweisen: Bis in die jüngste Zeit glaubte man, daß die Reaktivierung durch Mehrfachinfektion auf UV-Schäden beschränkt sei. Obwohl die beteiligten Schäden sicher nicht mit den photo-reaktivarbaren Schäden identisch sind, hielt man es doch für wahrscheinlich, daß ein spezifischer Schaden vorliege, der einer echten Reversion zugänglich ist. In allerletzter Zeit machten jedoch *Bertani* und *Weigle*<sup>17)</sup> die überraschende Feststellung, daß unter geeigneten Bedingungen ein durch Röntgen-Strahlen inaktivierter Phage gleichfalls durch Mehrfachinfektion sehr wirksam reaktiviert werden kann. Unserer Meinung nach schließt diese Feststellung die Möglichkeit aus, daß eine Reaktivierung durch Mehrfachinfektion auf eine direkte Umkehr des Schadens zurückzuführen ist und läßt es als wahrscheinlich erscheinen, daß wir es hier

<sup>9)</sup> N. Visconti u. M. Delbrück, „The mechanism of genetic recombination in phage“, *Genetics* 38, 5–33 [1953]. Vgl. diese Ztschr. 63, 286 [1951].

<sup>10)</sup> C. Bresch, „Weitere Untersuchungen zur Genetik von T1-Bakteriophagen“, *Z. Naturforsch.* 1954 im Druck.

<sup>11)</sup> J. S. Murphy, „Recombinations of mutant phages of *Bacillus megatherium* 899a“, *J. Exper. Medicine* 98, 657–667 [1953].

<sup>12)</sup> Unpublizierte Ergebnisse.

<sup>13)</sup> S. E. Luria, „Reactivation of irradiated bacteriophage by transfer of self-reproducing units“, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 33, 253–264 [1947]. Vgl. auch *Naturwiss.* 34, 301 [1947] sowie diese Ztschr. 60, 341 [1948].

<sup>14)</sup> S. E. Luria u. R. Dulbecco, „Genetic Recombinations leading to production of active bacteriophage from ultraviolet inactivated bacteriophage particles“, *Genetics* 34, 93–125 [1949].

<sup>15)</sup> R. Dulbecco, „A critical test of the recombination theory of multiplicity reactivation“, *J. Bacteriol.* 63, 199–207 [1951].

mit einer Substitution für die geschädigten Teile zu tun haben. Da die Reaktivierung durch Mehrfachinfektion besonders stark bei Phagen mit sehr aktivem genetischen Austausch auftritt, erscheint es wahrscheinlich, daß die beiden Phänomene miteinander in Beziehung stehen.

Eine dritte Art der Reaktivierung, die vor 2 Jahren von *Weigle*<sup>14)</sup> entdeckt wurde, ist möglicherweise von noch größerem Interesse als die beiden bisher genannten. Hier besteht die Reaktivierungsbehandlung darin, daß das Wirtsbakterium einem von mehreren Reizmitteln ausgesetzt wird, ähnlich denen, die als mutagen oder carcinogen bekannt sind. Auch hier kann der durch Röntgenstrahlen geschädigte Phage reaktiviert werden, und auch diese Reaktivierung durch Wirtsreizung geschieht daher wahrscheinlich durch Substitution. Woher kommt der Stoff, der für den geschädigten Teil als Substituent dient? Um unsere Auffassung in dieser Frage klarzulegen, müssen wir einige neue Vorstellungen über die Natur der Beziehungen zwischen Virus und Wirt darlegen.

Bisher haben wir das infizierende Phagenpartikel einfach so behandelt, als ob es ein Parasit wäre, der das Wirtsbakterium als passendes Substrat für seine Vermehrung verwendet. Bei einigen Phagen, besonders denjenigen, mit denen die meisten bisher erörterten Untersuchungen durchgeführt wurden, liegen in der Tat keine Indizien vor, die auf das Gegenteil hindeuten. Es trifft zwar zu, daß diese Phagen den Stoffwechselapparat des Bakteriums ausnützen und ihn zur Deckung ihres speziellen Bedarfes etwas modifizieren; aber sie handeln sonst ohne viel Rücksicht auf ihren Wirt; dies sind die virulenten Phagen. Ganz anders ist es bei einer anderen Gruppe von Phagen, nämlich den avirulenten, die in eine viel engere Beziehung zu ihrem Wirt treten können. Sie gehen als Prophagen mit ihrem Wirt eine Verbindung ein, die für eine unbegrenzte Anzahl von Bakteriengenerationen anhalten kann. Die Art dieser Verbindung ist von größtem Interesse für unser Verständnis der phylogenetischen Abstammung der Phagen und der Viren im allgemeinen. Das vorliegende experimentelle Beweismaterial läßt die Deutung zu, daß im Prophagenstadium ein Phage innig mit dem genetischen Stoff seines Wirtes verbunden ist (s. *Appleyard, Bertani* zit. nach<sup>8)</sup>). Dies würde bedeuten, daß das genetische Material der Phagen dem ihrer Wirte weitgehend homolog ist. Trifft dies zu, dann kann an einer phylogenetischen Abstammung des Virus vom Wirt kaum gezweifelt werden. Dies ist aber nicht der Punkt, den ich hier besonders hervorheben möchte. Viel wichtiger für unsere vorliegende Erörterung ist die Unterstellung, daß das genetische Material des Wirtes in der Lage sein kann, als Ersatz für geschädigte Teile des infizierenden Phagen zu dienen. In diesem Zusammenhang ist es von größter Bedeutung, daß *Weigle*<sup>14)</sup> unter den Phagenpartikeln, die durch Wirtsreizung reaktiviert worden waren, eine große Anzahl von Mutanten fand.

Man muß nicht denken, daß Avirulenz und Virulenz bei Viren phylogenetisch weit voneinander entfernte Klassen unterscheidet. Im Gegenteil, einige avirulente Phagen mutieren häufig zu Virulenz, was darauf hinweist, daß die Grenzlinie leicht überschritten wird. Es scheint eher, daß diese Unterscheidung Extreme in der Wechselwirkung des Virus mit dem genetischen Material des Wirtes darstellt (*Jacob und Wollman*<sup>9)</sup>). Diese Wechselwirkung ist bei avirulenten Phagen sehr intensiv und bei virulenten Phagen praktisch überhaupt nicht vorhanden. Hier scheint die genetische Wechselwirkung zwischen Virus und Wirt durch einen lebhaften genetischen Austausch zwischen verwandten Viren innerhalb des Wirts ersetzt zu sein. Dementsprechend finden wir, daß die Reaktivierung durch Wirtsreizung auf die avirulenten Phagen und die Reaktivierung durch Mehrfachinfektion auf einige virulente Phagen beschränkt ist.

### Ausblick

Ich möchte diese Erwägungen nicht weiter verfolgen. Ihr Zweck ist es, eine Tendenz in der gegenwärtigen biologischen Forschung aufzuzeigen, nämlich die, zu einer Verbindung von Atomtheorie und Biologie vorzudringen. Dieses Ziel war während der letzten 50 Jahre, seitdem das Atom eine Wirklichkeit wurde, der Wunschtraum in den Erwägungen vieler Wissenschaftler. Es scheint mir, daß wir erst jetzt dieser Frage wirklich auf den Leib rücken und merkliche Fortschritte erzielen. Unser biologischer Forschungsstand kann mit dem Forschungsstand der Physik in den neunziger Jahren verglichen werden, als mit der Entdeckung der Radioaktivität, der Röntgenstrahlen und des Elektrons die Erklärung der makroskopischen Physik durch atomare Vorgänge eine wirkliche Möglichkeit wurde und vollkommen neue Ausblicke auf die Forschungstätigkeit eröffnete.

Vielleicht ist die wichtigste unter den jüngsten Entwicklungen die Erkenntnis, daß die genetische Spezifität durch einen linearen Code (unter Anwendung von nur vier Gliedern) und nicht durch eine zweidimensionale Oberfläche (unter Anwendung von viel mehr Gliedern) dargestellt wird. Die Idee der spezifischen Oberfläche geht auf die Auslegung der Spezifität von Antigen-Antikörperreaktionen durch *Ehrlich* zurück und hat auf diesem Gebiet bis heute ihre Stellung bewahrt. In späteren Jahren jedoch wurden große, spezifische Oberflächen als die Technik der Organismen angenommen, um Spezifität zum Ausdruck zu bringen und zu konservieren.

Es ist wohl bekannt, daß die Schwierigkeit eine Theorie der Verdoppelung zwei-dimensionaler spezifischer Strukturen zu formulieren, ein wesentliches Hindernis in der Entwicklung der molekularen Biologie darstellte. Nach Überwindung dieser Hürde können wir in der Biologie mit Zuversicht in eine ebenso gute Zukunft schauen, wie sie unsere Kollegen in der Physik in den letzten 50 Jahren gehabt haben.

Eingeg. am 14. Mai 1954 [A 569]

<sup>14)</sup> *J. Weigle*, „Induction of mutations in a bacterial virus“, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 39, 628–636 [1953] u. *J. J. Weigle u. R. Dulbecco*, „Induction of mutation in bacteriophage T3 by ultraviolet light“, *Experientia* 9, 372 [1953].