

ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

71. Jahrgang · Nr. 15/16 · Seite 473–536 · 21. August 1959

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Ergebnisse und Probleme der Genetik

Nobel-Vortrag am 29. Mai 1959*)

Von Prof. Dr. JOSHUA LEDERBERG

Stanford University, Stanford, California, USA

Der Fortschritt der Genetik bemäßt sich daran, wie weit es möglich ist, den Genotyp einer Zelle, d. h. die Reihenfolge der Nucleotide in der Desoxyribo-nucleinsäure (DNS) ihres Kernes, experimentell zu bestimmen. — Die spezifische Veränderung von Genen wird nur mit Stoffen gelingen, die selektiv mit jeweils nur einem Abschnitt der DNS-Kette reagieren. Voraussetzung dafür ist, daß ein solches Reagens durch eine periodische Struktur der Gensubstanz gleicht. Die besten Aussichten für die künstliche Erzeugung spezifischer Mutationen bieten sich beim Arbeiten mit Nucleinsäuren. Methoden für deren schrittweisen Auf- und Abbau sind daher ebenso notwendig wie die Isolierung homogener Nucleinsäure-Präparate aus biologischem Material. — Ein reizvolles Ziel für die präparative Chemie wäre die Darstellung eines Polymeren, mit dem sich die wesentlichen Funktionen genetischer Systeme imitieren lassen.

Die Nobel-Statuten verlangen, daß jeder Preisträger eine öffentliche Vorlesung halte. Es liegt nahe, bei dieser Gelegenheit in historischer Rückschau von „Untersuchungen über die genetische Rekombination und die Organisation des genetischen Materials in Bakterien“ zu berichten. Dieses Thema ist jedoch regelmäßig zusammenfassend behandelt worden^{1–10}), und ich möchte mich daher lieber einer mehr spekulativen Betrachtung widmen und zeigen, welche Bedeutung genetische Studien an Bakterien innerhalb der modernen Naturwissenschaften besitzen und welche Aussichten sich der experimentellen Genetik eröffnen.

Die Aufteilung eines Nobel-Preises auf mehrere Genetiker ist ein Symbol für die zusammenlaufenden Bemühungen einer weltweiten Gemeinschaft von Forschern. Zugleich ist die Zeit für eine solche Anerkennung günstig, denn in den letzten Jahren hat sich die Genetik zu einem Schlüssel für das Verständnis biologischer Ordnungen und Zusammenhänge entwickelt, und ihre Bedeutung für die theoretische und praktische Medizin nimmt ständig zu. Ihren vollen Wert erhält sie aber erst durch Zusammenarbeit mit der Biochemie: prinzipiell sollte es möglich sein, jeden Phänotyp durch eine bestimmte Sequenz von Aminosäuren in einem Protein zu beschreiben¹¹), jeden Genotyp durch eine entsprechende Nucleotid-Se-

quenz seiner Desoxyribo-nucleinsäure (DNS)¹²). Schon heute läßt sich keine Grenze zwischen Genetik und Biochemie mehr ziehen, und sobald es einmal gelungen ist, alle genetischen Erscheinungen auf Vorgänge in molekularen Dimensionen zurückzuführen, wird die Genetik für viele Wissenschaften eine ähnliche Bedeutung gewinnen wie sie die Thermodynamik für die Mechanik besitzt¹³).

Daß Bakterien und ihre Genetik heute für die gesamte Biologie eine so wichtige Rolle spielen, ist keineswegs selbstverständlich. Wenn man die Bakterien in der Vergangenheit überhaupt beachtete, so meist nur als eine Art obskuren und verwunderlichen Nebenweges der Evolution. Ihre Vielfalt und Beziehung zu anderen Organismen wurde gröblich unterschätzt. „Seit Pasteurs aufregender Entdeckung, daß Mikroben für den Menschen so sehr wichtig sind, hat die Mikrobiologie unter der praktischen Verwendbarkeit ihrer Ergebnisse gelitten. Bei weitem die Mehrzahl aller mikrobiologischen Untersuchungen hatte das Ziel, Antworten auf Fragen zu finden, die mit dem Wohlergehen der Menschheit zusammenhingen“¹⁴).

Vor 100 Jahren hat Darwin den Gedanken von der Gleichartigkeit aller Lebewesen zu neuem Leben gebracht, aber erst die vergleichende Biochemie hat diese Konzeption bestätigt: Aminosäuren, Coenzyme, Nucleinsäuren, Kohlenhydrate u. a. m. sind Struktureinheiten, die wir in der gesamten lebenden Welt finden und aus denen alle Organismen bestehen. Gleicher gilt für die fundamentalen Vorgänge der Biosynthese und des Energietstoffwechsels, und es sind vor allem die Ausnahmen von dieser Gleichmäßigkeit, die uns heute als Zeichen biologischer Individualität interessieren, so z. B. das Vorkommen von Hydroxymethyl-cytosin an Stelle von Cytosin in der DNS des T2-Phagen¹⁵).

*) Das liebenswürdige Entgegenkommen des Autors und des Nobel-Komitees, Stockholm, hat es uns ermöglicht, den Nobel-Vortrag, der erst später in den Veröffentlichungen des Nobel-Komitees erscheinen wird, schon jetzt zu bringen. — Die vorliegende Fassung wurde mit Einverständnis des Autors bei der Übersetzung geringfügig gekürzt.

1) J. Lederberg, *Heredity* 2, 145 [1948].

2) J. Lederberg, *Annu. Rev. Microbiol.* 1949, 1.

3) J. Lederberg in L. C. Dunn: *Genetics in the 20th Century*. MacMillan, New York 1951, S. 263.

4) J. Lederberg, *J. cellular comparat. Physiol.* 45, Suppl. 2, 75 [1955].

5) J. Lederberg, *Amer. Scientist* 44, 264 [1956].

6) J. Lederberg, *Bacteriol. Rev.* 27, 133 [1957].

7) J. Lederberg, *Harvey Lectures* 53, 69 [1959].

8) J. Lederberg, *Symposia Soc. Growth and Develop.* 14, 101 [1956].

9) J. Lederberg u. Mitarb., *Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol.* 16, 413 [1951].

10) J. Lederberg u. E. L. Tatum, *Science [Washington]* 118, 169 [1954].

11) F. Sanger: *Les Prix Nobel en 1958*. P. A. Norstedt & Söner, Stockholm 1959.

12) W. D. McElroy u. B. Glass: *The Chemical Basis of Heredity*. Johns Hopkins Press, Baltimore, Md. 1957.

13) E. Nagel in R. C. Stauder: *Science and Civilization*. University of Wisconsin Press, Madison 1949, S. 99.

14) A. J. Kluyver u. C. B. van Niel: *The Microbe's Contribution to Biology*. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 1956.

15) S. S. Cohen, *Science [Washington]* 123, 653 [1956].

Besonders ergiebig waren Untersuchungen über Stoffe, die den verschiedensten Organismen mit der Nahrung zugeführt werden müssen. Bakterien brauchen z. B. keine Vitamine, und man hatte daher ihren Stoffwechsel, verglichen mit dem des Menschen, für unkomplizierter gehalten. Heute weiß man^{16, 17)}, daß eine einfacher zusammengesetzte Nahrung im Gegenteil auf größere synthetische Fähigkeiten schließen läßt, denn anspruchsvollere Organismen benötigen eben die Stoffe in ihrer Nahrung, die sie mit dem ihnen zur Verfügung stehenden enzymatischen Apparat nicht selbst synthetisieren können.

Lebewesen unterscheiden sich in ihren Nahrungsbedürfnissen. Da sie sich auch nach Art und Zahl ihrer Gene unterscheiden, war der Schluß naheliegend, daß die Gene darüber bestimmen, welcher biosynthetischen Reaktionen ein Organismus fähig ist. *Tatum* hat berichtet, wie seine Erfahrungen mit der Ernährung von Bakterien die Grundlage für den Beginn der biochemischen Genetik bildeten. Er setzte sich über das allgemeine Vorurteil, daß Bakterien zu einfach wären, um Gene zu haben, hinweg und hatte den Mut, in den Genen die Ursache für die unterschiedlichen Nahrungsbedürfnisse verschiedener Bakterienstämme zu suchen.

Heute wird die genetische Forschung vor allem durch die Erkenntnis bestimmt, daß das genetische Material aus Desoxyribo-nucleinsäure (DNS) besteht, daß Enzyme die Werkzeuge der Zelle sind und daß Ribonucleinsäure (RNS) vermittelnd zwischen beiden steht¹⁸⁾. Die genetische Funktion der DNS ist dreifach bewiesen. Zwei dieser Beweise ergaben sich beim Arbeiten mit Bakterien, der dritte und allgemeinste besteht im Nachweis von DNS in den Chromosomen, d. h. in den Ketten vieler verschiedener Zellen. Aber Chromosome enthalten noch andere Stoffe neben der DNS, so daß eine Technik, mit der man ein Chromosom oder ein Chromosomenfragment isolieren, analysieren und wieder in die Zelle zurückverpflanzen kann, um so seine Funktion zu beweisen, dringend notwendig wäre. Die eindrucksvollen Ergebnisse, die man mit der Transplantation von Zellkernen erhalten hat¹⁹⁾, sollten zu ähnlich kühnen Experimenten ermutigen.

Der Bakteriologe *Griffith* entdeckte vor 30 Jahren in der Pneumococcus-Transformation einen Vorgang, der einer Chromosomen-Transplantation entspricht¹⁹⁾, doch wurde dessen genetische Bedeutung lange nicht erkannt, da sich nur die Fähigkeit der Bakterien, eine Kapsel zu bilden, veränderte. 1943 zeigten *Avery* und Mitarbeiter dann, daß auch reine DNS die Fähigkeit zur Kapselbildung von einem Pneumococcus-Stamm zum anderen übertragen kann²⁰⁾, und da gleiches für andere vererbbarer Eigenschaften gilt²¹⁾, muß man schließen, daß DNS die Gensubstanz ist. Man mag versucht sein zu schreiben: eine DNS-Molekel = ein Gen, doch erhält man aus Mutations- und Rekombinationsversuchen und auf Grund von Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Genen und enzymatischer

¹⁶⁾ B. C. J. G. Knight, Med. Res. Council spec. Rep. Ser. No. 210 [1936].

¹⁷⁾ A. Lwoff, Ann. Inst. Pasteur 61, 580 [1938].

¹⁸⁾ T. J. King u. R. Briggs, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 21, 271 [1956].

¹⁹⁾ F. Griffith, J. Hygiene 27, 113 [1928].

²⁰⁾ Anm. des Übers.: *Griffith* injizierte Mäusen lebende, ungekapselte Pneumococcus zusammen mit hitzegetöteten, gekapselten Pneumococcus, und konnte nach einiger Zeit aus den Tieren lebende, gekapselte Pneumococcus isolieren. Da die Eigenschaft der Bakterien, eine Kapsel zu bilden, genetisch bedingt ist, muß Gensubstanz aus den toten, gekapselten in die lebenden, ungekapselten Bakterien übergegangen sein, wodurch letztere die Fähigkeit zur Kapselbildung erhielten. Diese Änderung eines genetischen Merkmals durch Übertragung freier DNS bezeichnet man als Transformation. Davon verschiedenen sind die Übertragung von DNS durch Paarung zweier Bakterienzellen und die Transduktion, bei der ein Bakteriophage genetische Substanz von einer Zelle in die andere transportiert.

²¹⁾ R. D. Hotchkiss, Harvey Lectures 49, 124 [1955].

Funktion stets „Gen-Quanten“, die kleiner²²⁾ sind als eine DNS-Molekel vom Molgewicht 6·10⁶. Es gibt mehrere Anzeichen dafür, daß dieses Molgewicht einer natürlichen DNS-Einheit entspricht²³⁾.

Hershey und *Chase*²⁴⁾ wiesen nach, daß auch das genetische Element der Bakteriophagen (bakteriellen Viren) aus DNS besteht: damit eine Zelle infiziert wird, braucht nur die DNS des Virus hineinzugelangen. Diese bewirkt dann nicht nur ihre eigene Vermehrung, sondern sorgt auch für die Bildung der „richtigen“ Protein-Hüllen für die neue Phagengeneration. Bekanntlich bestimmt die Proteinhülle die serologischen Reaktionen und die Wirtsspezifität der Phagen.

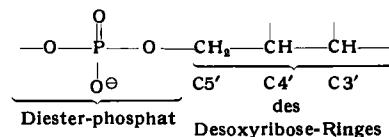
In einigen kleinen Viren übt auch RNS genetische Funktionen aus. Dagegen gilt es heute als sehr zweifelhaft, ob die unter dem Einfluß der Gene gebildete RNS des Cytoplasmas bei der Vererbung eine autonome Rolle spielt. Einige der früher angenommenen Plasma-Gene sind wohl eher als Systeme des Substrat-Transportes zu verstehen, deren Funktionen durch Rückkoppelung geregelt werden²⁵⁻²⁸⁾.

Die Arbeiten des vergangenen Jahrzehnts sprechen also stark für die einfache Vorstellung, daß die genetische Information in einer linearen Nucleotid-Sequenz kodifiziert ist. Natürlich könnten daneben noch andere Strukturen der Zelle als Träger von Informationen dienen, z. B. das Cytoplasma oder Stoffe, die neben den Polynucleotiden in den Chromosomen enthalten sind. Solche hat man kürzlich — ohne sie näher zu definieren — bei Spekulationen über Mechanismen der Zelldifferenzierung oder des serologischen Phasenwechsels bei Salmonellen²⁹⁻³¹⁾ angenommen. Doch haben die hierfür in Frage kommenden Strukturen eine gegenüber den Nucleinsäuren so viel geringere Informations-Kapazität, daß sie wohl eher mit der Funktion der Gene in Zusammenhang zu bringen sind als daß sie Genen entsprächen.

Desoxyribo-nucleinsäure (DNS)

Es bleibe dem Spezialisten überlassen, die Chemie der DNS ausführlich darzulegen³²⁻³⁴⁾. Ich möchte nur an ein paar Tatsachen erinnern, ehe ich die biologische Bedeutung der DNS beschreibe.

Abb. 1 zeigt ein Segment einer linear-polymeren DNS-Molekel, deren Rückgrat durch Wiederholung der Einheit



gebildet wird. Jede Molekel Desoxyribose ist N-glykosidisch mit einer der Basen Adenin, Guanin, Cytosin oder Thymin verbunden. Diese Basen symbolisiert man durch ihre Anfangsbuchstaben, so daß A, G, C, T das Alphabet ist, mit dessen Hilfe die Natur genetische Informationen

²²⁾ S. Benzer in W. D. McElroy u. B. Glass: The Chemical Basis of Heredity, Johns Hopkins Press, Baltimore, Md. 1957, S. 70.

²³⁾ M. Meselson u. F. W. Stahl, Proc. nat. Acad. Sci. USA 44, 671 [1958].

²⁴⁾ A. D. Hershey u. M. Chase, J. gen. Physiol. 36, 39 [1951].

²⁵⁾ J. Monod in O. H. Gaebler: Enzymes, Units of Biological Structure and Function, Academic Press, New York 1956, S. 7.

²⁶⁾ A. Novick u. A. McCoy: Physiological Adaption. Amer. Physiol. Soc., Washington, D. C. 1958, S. 140.

²⁷⁾ S. Spiegelman, C. C. Lindegren u. G. Lindegren, Proc. nat. Acad. Sci. USA 31, 95 [1945].

²⁸⁾ A. Novick: Brookhaven Symposia in Biology, 8 (Mutation). Office of Tech. Serv., U. S. Dept. Commerce, Washington, D. C. 1956, S. 201.

²⁹⁾ J. Lederberg, J. cellular comparat. Physiol. 52, Suppl. 1, 383 [1958].

³⁰⁾ J. Lederberg u. P. R. Edwards, J. Immunology 71, 232 [1953].

³¹⁾ J. Lederberg u. T. Hino, Genetics 47, 743 [1956].

³²⁾ F. H. C. Crick, Scientific American 151, 54 [1954].

³³⁾ A. Kornberg, Harvey Lectures 53, 83 [1959].

³⁴⁾ Sir Alexander Todd, diese Ztschr. 70, 527 [1958].

schreibt. Bei einer Kettenlänge von 10000 Nucleotiden enthält eine DNS-Moleköl 20000 binäre Informations-Einheiten, d. h. etwas weniger als die Buchstabenanzahl dieses Aufsatzes.

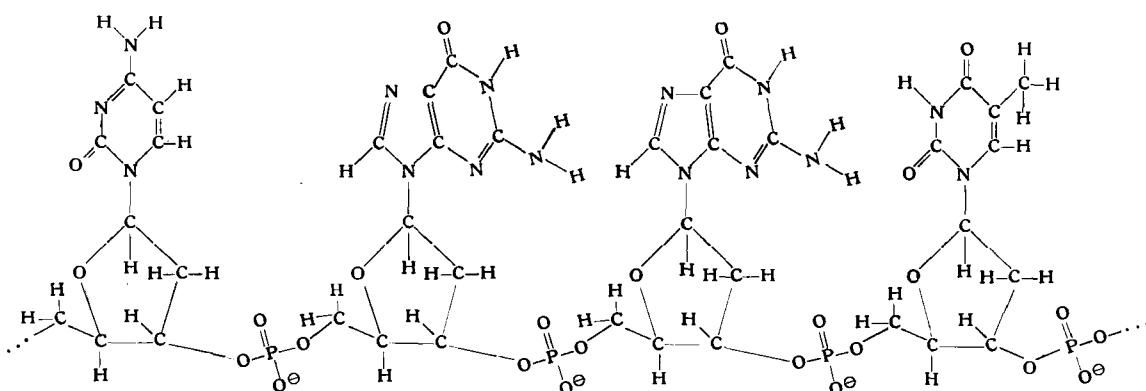


Abb. 1. Primärstruktur von DNS. Segment mit der Nucleosid-Sequenz Cytidin-Guanosin-Guanosin-Thymidin (CGGT). Nach³³

DNS-Reduplikation

Durch Pyrophosphat-Bildung aktivierte Monomere (z. B. Thymidin-triphosphat) sind Vorstufen bei der DNS-Biosynthese³³). Bei der Reduplikation der Gene müssen diese Monomeren in einer Reihenfolge miteinander verbunden werden, die der im ursprünglichen Gen genau gleicht. Watson und Crick³⁵) haben dafür einen plausiblen Mechanismus vorgeschlagen, der eine Ergänzung ihres DNS-Modells darstellt. Nach diesem Modell sind in einer DNS-Moleköl zwei DNS-Ketten so zu einer zweistrangigen Spirale (Helix) vereinigt, daß sich die Purin- und Pyrimidin-Basen der beiden Ketten im Inneren des von den Spiralwindungen umschlossenen Hohlraumes einander gegenüberstehen. Dabei können sich zwischen den NH- und CO-Gruppen der Basenpaare Adenin/Thymin und Guanin/Cytosin Wasserstoffbrücken bilden, welche die beiden Ketten längs der ganzen Helix zusammenhalten^{35a}). In Übereinstimmung mit diesem Modell findet man eine bemerkenswerte Entsprechung zwischen den Adenin- und Thymin- bzw. den Guanin- und Cytosin-Gehalten in Desoxyribo-nuclein-

säuren verschiedener Herkunft. Die beiden Stränge der DNS-Helix sind also einander komplementär, d. h. das A, T, G, C des einen Stranges wird durch T, A, C, G im anderen Strang wiedergegeben. Die in beiden Strängen ent-

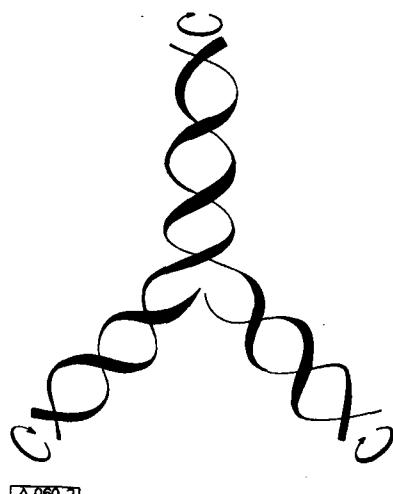
haltenen Informationen sind damit gleichfalls äquivalent.

Bei der Reduplikation eines Stranges muß der neugebildeten DNS-Kette die gleiche Information wieder „eingeprägt“ werden, was durch schrittweises Anfügen von Monomeren an die neue Kette geschieht. Bei jedem Schritt wird nur dasjenige Monomere zur Kettenverlängerung verwendet, dessen Base der als Matrize dienenden ursprünglichen DNS-Kette an der betreffenden Stelle komplementär ist. Dieser Vorstellung zufolge müssen sich die beiden in der Helix vereinigten ursprünglichen DNS-Stränge bei der Reduplikation voneinander lösen, so daß jeder von ihnen zur Matrize für eine neue DNS-Kette wird. Dieses Auseinanderdrehen der Helix könnte allmählich und in dem Maße, wie die Tochterketten sich verlängern, geschehen, was schematisch in Abb. 2 dargestellt ist. Die kürzliche Entdeckung einer einstrangigen DNS-Konfiguration³⁷) gibt jedoch auch der Vorstellung, daß sich die Helix sofort vollständig in ihre beiden Ketten trennt, einige Wahrscheinlichkeit.

Verglichen mit der Eigenschaft des DNS-Moleküls, Träger der Kontinuität des Lebens zu sein, erscheint seine chemische Struktur bemerkenswert eintönig. Seine Gestalt wird durch das Desoxyribose-phosphat-Rückgrat bestimmt, dessen Monotonie zu Röntgenbildern führt, wie sie für hochkristalline Stoffe typisch sind. Die Purin- und Pyrimidin-Basen sind verhältnismäßig wenig reaktionsfähig, unterscheiden sich kaum voneinander, haben obendrein eine „introvertierte“ Stellung in der DNS-Helix und sättigen sich gegenseitig durch Wasserstoffbrücken-Bindungen ab. Alle Hydroxyl-Gruppen der Desoxyribose-Reste sind substituiert. Doch entspricht diese Struktur gut der Vorstellung, daß die Desoxyribo-nucleinsäure nur eine einzige Funktion zu erfüllen hat: letztlich die Aminosäuren in Proteinen zu bestimmen.

Steuerung der Protein-Biosynthese

Da bei jedem Schritt der Protein-Biosynthese unter etwa zwanzig Aminosäure-Arten die richtige Auswahl getroffen werden muß, es andererseits aber nur vier verschiedene Nucleotide gibt, dürfte zwischen Nucleotid-Resten in der DNS und Aminosäuren wohl kaum ein 1:1-Verhältnis bestehen. Vielmehr sollten drei bis vier Nucleotid-Paare nötig sein, um eine Aminosäure zu „buchstabieren“³⁸), wobei be-



A 9692

Abb. 2. Das von Watson und Crick für die DNS-Reduplikation vorgeschlagene Modell. Auseinanderdrehen der Helix und Reduplikation geschehen pari passu. Die Pfeile geben an, in welcher Richtung die Spiralen rotieren. Nach³⁵

³³) J. D. Watson u. F. H. C. Crick, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 23, 123 [1953].

^{35a}) Vgl. M. Delbrück, diese Ztschr. 66, 391 [1954].

³⁵) M. Delbrück u. G. S. Stent in W. D. McElroy u. B. Glass: The Chemical Basis of Heredity, Johns Hopkins Press, Baltimore, Md. 1957, S. 699.

³⁷) I. Tessman, Virology 7, 263 [1959]; R. L. Sinsheimer, J. Molec. Biol. 1, 37 [1959]; vgl. diese Ztschr. 71, 535 [1959].

³⁸) S. W. Golomb, L. R. Welch u. M. Delbrück, Biol. Medd. Can. Vld. Selsk. 23, 1 [1958].

rücksichtigt ist, daß zwischen den „Worten“ ein „Zwischenraum“ bestehen muß, damit sie voneinander unterscheidbar werden.

Ein Protein ist genau wie eine DNS-Molekel durch die Sequenz der Monomeren definiert, doch fehlt ihm die aperiodische Kristallinität³⁹⁾ der DNS, da sich Kettenlänge, Ladung und (z. B. beim Prolin) auch die Valenzwinkel der Aminosäuren zu sehr unterscheiden. Man muß die besondere biologische Aktivität der Proteine daher der Gestalt zuschreiben, in welche die Polypeptid-Kette sich faltet⁴⁰⁾. Das bedeutet aber, daß die eindimensionale Information der DNS in die dreidimensionale Spezifität eines Enzyms oder eines Antikörpers übertragen werden muß. Die Beziehung zwischen beiden entspricht also etwa dem Verhältnis zwischen einem in Morse-Schrift (zwei Buchstaben, linear) und einem in chinesischer (Bilder)-Schrift geschriebenen Text. Wie kommt diese „Übersetzung“ zustande? Am einfachsten wäre es anzunehmen, daß die Sequenz der Aminosäuren die Faltung der Peptid-Kette bestimmt, daß es also nur darauf ankommt, die Aminosäuren in der richtigen Reihenfolge miteinander zu verbinden. Andernfalls braucht man einen zusätzlichen Mechanismus, der dem fertigen Protein die richtige Faltung gibt.

Diese Frage ist u. a. für die Theorie der Antikörper-Bildung von Bedeutung: wenn zwei γ -Globuline mit und ohne Antikörper-Eigenschaft, d. h. mit zwei verschiedenen Faltungen, die gleiche Aminosäure-Sequenz haben, so darf man annehmen, daß das Antigen direkt an der Bildung des Antikörpers beteiligt ist, indem es für die veränderte Faltung sorgt. Wird die Faltung jedoch durch die Aminosäure-Sequenz und damit durch eine in der DNS enthaltene Information bestimmt, so muß man vermuten, daß Antogene Protein-Synthesen, die durch zufällig vorhandene DNS-Mutanten anders als normal gelenkt werden, selektiv stimulieren können^{41, 42)}. Leider ist es bis heute nicht gelungen, die Aminosäure-Sequenzen von γ -Globulinen vollständig zu bestimmen.

Es ist nicht recht einzusehen, wie, d. h. mit Hilfe welcher chemischen oder physikalischen Eigenschaften eine Nucleotid-Sequenz direkt die Reihenfolge von Aminosäuren in einer Peptid-Kette bestimmen soll. Vielmehr muß man annehmen, daß es Substanzen gibt, die zwischen beiden vermitteln. Nun weiß man, daß Aminosäuren enzymatisch mit RNS-Fragmenten reagieren^{43, 44)}. Offenbar gibt es dabei für jede Aminosäure-Art einen besonderen RNS-Acceptor, und es ist die doppelte Spezifität des Enzyms, die für das Zusammentreffen des richtigen Polynucleotids mit der richtigen Aminosäure sorgt. Nimmt man an, daß die mit Aminosäure-Resten beladenen RNS-Fragmente sich ähnlich, wie es oben für die Reduplikation der DNS beschrieben wurde, kontrolliert zu einer Kette vereinigen und die Aminosäuren sich dann in der so vorgegebenen Reihenfolge miteinander verbinden, so ergeben sich für die Übertragung der Information von der DNS zum Protein folgende Schritte:

1. Weitergabe der Information von einer DNS-Molekel zur anderen: Aneinanderreihung monomerer Desoxyribonucleotide in einer zur vorhandenen DNS-Kette komplementären Anordnung.

³⁹⁾ E. Schrödinger: *What is Life?* Cambridge University Press 1944.
⁴⁰⁾ L. Pauling in K. Landsteiner: *The Specificity of Serological Reactions*. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 1945, S. 275.

⁴¹⁾ Sir MacFarlane Burnet: *The clonal selection theory of immunity*. Vanderbilt University Press, Nashville 1959.

⁴²⁾ J. Lederberg, *Science* [Washington], im Druck.

⁴³⁾ L. I. Hechtl, M. L. Stephenson u. P. C. Zamecnik, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 45, 871 [1959].

⁴⁴⁾ J. Preiss u. Mitarb., ebenda 45, 319 [1959].

2. Weitergabe der Information von der DNS an die RNS: Aneinanderreihung von Ribonucleotiden nach einem ähnlichen Mechanismus, der sich jedoch durch Unsicherheiten über die Struktur der RNS nur schwer erkennen läßt⁴⁵⁾.
3. Verwirklichung der Information bei der Protein-Synthese:
 - a) Aminoacylierung von RNS-Fragmenten.
 - b) Aneinanderreihung dieser aminoacylierten Polynucleotide an einer RNS-Matrize ähnlich wie unter 1. beschrieben.
 - c) Bildung des Proteins durch Verbindung der Aminosäure-Reste untereinander.

Einige Autoren nehmen an, daß gleichzeitig mit der Protein-Synthese auch eine Reduplikation der RNS stattfindet.

DNS und RNS unterscheiden sich vor allem darin, daß RNS am C-Atom 2' jedes Ribose-Restes noch eine freie Hydroxyl-Gruppe enthält, und es bleibt zu untersuchen, ob in den Aminoacyl-Polynucleotiden die Aminosäuren mit diesem Hydroxyl verestert sind oder mit der am C-Atom 3' befindlichen Hydroxyl-Gruppe, die jedoch nur im endständigen Nucleotid-Rest frei verfügbar ist.

DNS und die Erzeugung spezifischer Mutationen

Ein Ziel der Genetik ist es, spezifische Mutagene zu finden, d. h. Stoffe, die bis in den Kern einer Zelle vordringen können und dort ein einziges Gen in einer einzigen Weise verändern. Man braucht sich jedoch nur zu überlegen, daß der gesamte Genbestand einer Zelle jedem Reagens eine Fülle gleichartiger Angriffspunkte bietet, um die Schwierigkeiten zu erkennen, die hier bestehen. Man darf annehmen, daß der DNS-Abschnitt, dessen strukturelle Veränderung zu einer Mutation führt, mindestens etwa die Länge eines Hexanucleotids hat. Zwischen allen Konfigurationen, die bei der Aneinanderreihung von sechs Nucleotiden entstehen können, müßte ein spezifisches Mutagen also unterscheiden und nur mit einer von diesen dürfte es reagieren. Welches Molekül sollte dazu in der Lage sein, außer einem solchen, das ähnliche Länge und Periodizität besitzt, d. h. außer einem Polynucleotid?

Trotzdem schien es nach der Entdeckung der Arzneimittel-Resistenz bei Bakterien so, als habe man beispielsweise im Penicillin oder Streptomycin spezifische Mutagene gefunden. Abgesehen davon, daß nichts in der chemischen Struktur der beiden Antibiotika darauf schließen läßt, sie könnten die in der Nucleotid-Sequenz der DNS-Moleküle festgelegten Informationen direkt und spezifisch, d. h. nur an einer Stelle verändern, ließ sich bald zeigen, daß keine der beiden Verbindungen überhaupt eine Mutation induziert, daß vielmehr beide ausschließlich das Wachstum spontan entstandener resisternter Mutanten zulassen und dadurch einen Mutagencharakter vortäuschen^{46, 47)}. Es ist nämlich möglich, z. B. streptomycin-resistente Mutanten zu erhalten, ohne daß diese je in Kontakt mit dem Antibiotikum gekommen wären^{48, 49, 50a)}.

⁴⁵⁾ P. Doty u. Mitarb., ebenda 45, 482 [1959].

⁴⁶⁾ V. Bryson u. W. Szybalski, *Adv. Genetics* 7, 1 [1955].

⁴⁷⁾ L. L. Cavalli-Sforza u. J. Lederberg: *Symposium on Growth Inhibition and Chemotherapy*. Istituto Superiore di Sanità, Rom 1953, S. 108.

⁴⁸⁾ L. L. Cavalli-Sforza u. J. Lederberg, *Genetics* 41, 367 [1956].

⁴⁹⁾ J. Lederberg u. E. M. Lederberg, *J. Bacteriol.* 63, 399 [1952].

^{50a)} Anm. des Übers.: Bringt man eine abgemessene Menge einer *Escherichia-coli*-Kultur, die beispielsweise 10^9 Bakterien im ml enthält, auf eine Agar-Platte, der etwas Streptomycin zugesetzt wurde, so findet man nach etwa 24-stündiger Inkubation bei 37°C , daß ein Bakterium aus einer Million eine resistente Nachkommenschaft hat. Stellt man sich nun in einem zweiten Ver-

Man kann also sagen, daß alle uns heute bekannten Mutagene unspezifisch sind, d. h. stets mehrere verschiedenartige Mutanten nebeneinander erzeugen. Dariüber, wie sie dies tun, ist ebenso wie über die unmittelbaren Ursachen spontan oder durch Bestrahlung entstehender Mutationen nur wenig bekannt. Die meisten mutagen wirkenden Chemikalien sind starke Alkylierungsmittel, z. B. Formaldehyd oder Stickstoff-Lost-Verbindungen, die mit vielen Stoffen in der Zelle zugleich reagieren. Ähnliche Verbindungen mögen als Stoffwechselprodukte auftreten und für einen Teil der spontanen Mutationen verantwortlich sein, und wahrscheinlich lassen sich die durch Bestrahlung hervorgerufenen Mutationen ähnlich erklären. Vermutlich erzeugt jedes Reagens, das bis zu den Chromosomen gelangen und an diesen lokale chemische Veränderungen hervorrufen kann, statistisch über das Chromosom verteilte Änderungen an der genetischen Information, und es ist anzunehmen, daß die meisten giftigen Mutagene wären, wenn sie die Zelle nicht vorher töten. Über die Chemie der Gene läßt sich so also nur wenig in Erfahrung bringen.

Mehr versprechen dagegen Analoga der natürlichen Nuclein-Basen, die von der Zelle in die DNS eingebaut werden. Zum Beispiel ersetzt Brom-uracil das Thymin in der DNS von Bakteriophagen, wenn man einer Kultur von phageninfizierten Bakterien Brom-desoxyuridin zusetzt. Freese⁵⁰) hat gezeigt, daß so in T4-Phagen erzeugte Mutationen sich hinsichtlich ihrer Lokalisation auf der DNS von spontanen oder durch andere Chemikalien hervorgerufenen Mutationen unterscheiden. Mit Hilfe von Brom-uracil wird man also feststellen können, welches Gen Thymin enthält, doch muß man annehmen, daß sekundär noch Reaktionen zwischen den Nucleotiden stattfinden, um die verschiedene Mutationshäufigkeit verschiedener Genloci zu erklären. Diese Untersuchungen stellen die zur Zeit beste Annäherung an eine gezielte chemische Erzeugung von Mutationen dar. Aber jedes Gen bietet einem Nuclein-Basen-Analog mehrere Angriffspunkte, und irgend ein spezifischer Effekt wird nur in solchen Systemen erkennbar werden, in denen sich Gen-Loci bis in einzelne Nucleotide auflösen lassen⁵¹). Bis jetzt gelingt das nur bei Mikroorganismen.

Effekte größerer Spezifität könnten sich ergeben, wenn es gelänge, Oligo- oder Polynucleotide mit Chromosomen in Wechselwirkung zu bringen. Doch selbst wenn es möglich sein sollte, die erforderlichen Polymeren zu synthetisieren, bliebe die Schwierigkeit, sie ins Innere der Zellen zu bringen. Die Übertragung genetischer Qualitäten durch DNS, die aus bakteriellen Mutanten extrahiert wurde, bezeichnet man als Transformation²⁰) (s. S. 474).

RNS ist neben DNS das einzige Reagens, von dem man erwarten kann, daß es einzelne Gene zu „unterscheiden“ vermag. Bis jetzt gibt es keinen Beweis dafür, daß die Informations-Übertragung von DNS auf RNS reversibel ist. Die anti-mutagene Wirkung von Ribonucleosiden^{52, 53}) könnte jedoch auf eine Beteiligung der RNS bei Mutationen schließen lassen, und Stent⁵²) hat in seiner wohl-

such durch Verdünnen der ursprünglichen Kultur 10 Bakterien-Suspensionen her, die je 10^6 Zellen/ml enthalten, so läßt sich zeigen, daß sich in einer von diesen 10 Kulturen ein streptomycin-resistentes Bakterium befindet, d. h. die Gegenwart oder Abwesenheit des Antibiotikums hat keinen Einfluß auf die Mutationshäufigkeit.

⁵⁰) E. Freese, Proc. nat. Acad. Sci. USA 45, 622 [1959].

⁵¹) F. L. Haas u. C. O. Doudney, ebenda 43, 871 [1957].

⁵²) G. S. Stent, Adv. Virus Research 5, 95 [1958]. — Anm. des Übers.: Das von Stent vorgeschlagene Schema der DNS-Reduplikation besagt im wesentlichen, daß die genetische Information vom ursprünglichen DNS-Molekül zunächst auf Ribonucleinsäure (RNS) und von dort — möglicherweise unter Mitwirkung eines Proteins — auf das neu zu bildende DNS-Molekül übertragen wird.

durchdachten Theorie über die DNS-Reduplikation implizit eine Reversibilität der Informationsübertragung zwischen DNS und RNS angenommen. Es wäre notwendig zu prüfen, ob sich die in der DNS enthaltenen Informationen durch isolierte RNS von einer Zelle auf die andere übertragen lassen. Offenbar ist das bis jetzt noch nicht versucht worden, was vor allem daran liegen mag, daß die Isolierung homogener Nucleinsäuren aus biologischem Material so sehr schwierig ist. DNS besteht fast immer aus mehreren Molekül-Arten verschiedener Primärstruktur, und nur ein sehr kleiner Phage, der unimolekular zu sein scheint⁵⁴), könnte hier eine nützliche Ausnahme sein. Die Zusammensetzung der RNS hängt offenbar von den Stoffwechsel-Leistungen der Zellen ab. Wenn dies so ist, sollte man erwarten, daß sich in besonders spezialisierten Zellen RNS-Moleküle finden, deren Struktur so sehr vom Üblichen abweicht, daß sie sich leicht in chemisch einheitlicher Form isolieren lassen. Derart gereinigte RNS wäre äußerst wertvoll, u. a. auch zur Klärung der DNS-Struktur, von der aus nach unserer Theorie die Information zur RNS weitergegeben wird. — Gelingt es nicht, diese hier skizzierten Fortschritte zu erzielen, so dürfte es kaum jemals möglich sein, spezifische Mutationen künstlich zu erzeugen.

Adaptive Mutationen, unter denen die Antibiotica-Resistenz das bekannteste Beispiel ist, sind daher für die mikrobiologische Genetik im Augenblick von großer Bedeutung. Denn sobald es feststand, daß die Adaption auf eine Gen-Mutation zurückzuführen ist⁵⁵), konnte man das abweichende Verhalten der adaptierten Stämme ausnutzen, um bestimmte Genotypen innerhalb großer Bakterien-Populationen aufzufinden. Um die Zahl derjenigen Bakterien festzustellen, die innerhalb einer Population in gleicher Weise mutiert sind, braucht man nur gleiche Teile der Kultur auf Nährböden verschiedener Selektivität zu bringen und die überlebenden Kolonien zu zählen, die nach Bebrütung der Böden erscheinen. Noch eine Mutation auf 10^6 Zellteilungen läßt sich so bequem nachweisen.

Genetische Rekombination in Bakterien

Die Isolierung einzelner Genotypen durch Selektion stellt auch den besten Weg dar, um genetische Rekombinationen zu entdecken. Zum Beispiel wurde ein solcher, an die Befruchtung bei zweigeschlechtigen höheren Organismen erinnernder Vorgang beim Bakterium *Escherichia coli* dadurch gefunden, daß prototrophe (d. h. von der Zusammensetzung des Nährmediums weitgehend unabhängige) Stämme in einer Mischkultur aus zwei auxotrophen (d. h. der Zufuhr bestimmter Nährstoffe bedürftiger) Mutanten entstanden⁵⁶⁻⁵⁸). Zunächst fand man nur eine Rekombinante unter 10^6 Bakterien. Später entdeckte man „fruchtbarere“ Stämme, mit denen sich das Phänomen gründlicher untersuchen ließ^{5, 59}). Man fand, daß sich vielkernige, vegetative Zellen paarweise über eine Plasma-Brücke vereinigen können. Durch diese Brücke wandert ein Teil der Kerne aus einer (der „männlichen“) Zelle in die andere („weibliche“)⁵⁸). Nachdem die Zellen sich wieder voneinander getrennt haben, entwickelt sich aus der — mit Hilfe ihrer restlichen Kerne überlebenden — männlichen Zelle ein

⁵³) F. J. Ryan u. J. Lederberg, Proc. nat. Acad. Sci. USA 32, 163 [1946].

⁵⁴) J. Lederberg, Genetics 32, 505 [1947].

⁵⁵) J. Lederberg u. E. L. Tatum, Nature [London] 158, 558 [1946].

⁵⁶) E. L. Tatum u. J. Lederberg, J. Bacteriol. 53, 673 [1947].

⁵⁷) J. Lederberg, L. L. Cavalli u. E. M. Lederberg, Genetics 37, 720 [1952].

⁵⁸) J. Lederberg, J. Bacteriol. 71, 497 [1956].

unveränderter Klon⁵⁹), die weibliche Zelle dagegen hat eine gemischte Nachkommenschaft, in der die Rekombinanten enthalten sind^{60, 61}). *Wollman, Jacob und Hayes*⁶² haben neuerdings gezeigt, daß bei der „Befruchtung“ die Gene des männlichen Chromosoms nacheinander in die weibliche Zelle hinüberwandern. Unterbricht man die Befruchtung vorzeitig, so kann das Chromosom zerbrechen, und nur die in seinem vorderen Teil lokalisierten Merkmale erscheinen bei den Rekombinanten. Da die Gene in perlchnurartiger Aufreihung das Chromosom bilden, kann man ihre Reihenfolge entweder durch eine solche Unterbrechung des Befruchtungsvorganges zu verschiedenen Zeiten oder aus der Häufigkeit des assoziierten Auftretens neuer Eigenschaften bei den Rekombinanten bestimmen. Daß die Übertragung von genetischen Merkmalen einem Übergang von DNS zwischen den Zellen entspricht, ergibt sich daraus, daß die letale Wirkung des radioaktiven Zerfalles von ^{32}P , das in die DNS männlicher Zellen eingebaut ist, nach der Befruchtung auch in den weiblichen Zellen auftritt⁶³.

Die geschlechtliche Rekombination dient auch zur Analyse der Beziehungen zwischen Genen und Enzymen. Die bisherigen Untersuchungen sind zwar noch fragmentarisch, aber sie stützen doch die Vorstellung, daß ein Gen aus einer Kette von Nucleotiden besteht, die als Einheit zusammenwirken müssen, um ein aktives Enzym hervorzubringen^{22, 64-67}). Eine Blockierung des Stoffwechsels bedeutet allerdings nicht immer die Unfähigkeit, das entsprechende Enzym zu produzieren, sondern kann ebenso gut durch die Wirkung zusätzlicher Regulationsmechanismen der Zelle zustande kommen. Zum Beispiel sind bei vielen lactase-negativen Mutanten nur die Bedingungen für die Induktion des Enzyms verändert, oder das für den Substrat-Transport durch die Zellmembran verantwortliche Permease-System ist defekt^{9, 25}). Mehrere Laboratorien beschäftigen sich damit, Beziehungen zwischen der Sequenz genetischer Defekte und der Reihenfolge entsprechender Veränderungen in Enzym-Proteinen zu finden. Solange es nicht möglich ist, eine Relation zwischen der Struktur reiner DNS und der Struktur ihres Protein-Phänotyps herzustellen, dürfte darin die beste Möglichkeit bestehen, mehr über das Problem der Informations-Weitergabe zu erfahren.

Zunächst beschränkten sich die Rekombinations-Versuche auf den Stamm *E. coli* K-12, dessen hauptsächlicher Vorteil darin besteht, daß es viele Tausend Varianten mit den verschiedensten Eigenschaften gibt, wie man sie für genetische Untersuchungen benötigt. Leider ist der gleiche Stamm jedoch für serologische Studien unbrauchbar, da ihm die charakteristischen Oberflächen-Antigene fehlen, welche die Grundlage serologischer Typen-Bestimmungen bilden. Um zu erfahren, welche Arten aus der Familie der Enterobacteriaceen miteinander rekombinieren können, hat man systematische Untersuchungen über die Rekombinationsfähigkeit verschiedener Bakterien-Stämme mit einer Variante des Stammes *E. coli* K-12 durchgeführt^{68, 69}). Dabei ergab sich, daß etwa ein Viertel aller serologisch differenzierbaren *E. coli*-Stämme mit dem Stamm K-12 re-

⁵⁹) Anm. des Übers.: Als Klon bezeichnet man die durch vegetative Vermehrung entstandene erbgleiche Nachkommenschaft einer (Bakterien-)Zelle.
⁶⁰) T. F. Anderson, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 23, 47 [1958].
⁶¹) J. Lederberg, Proc. nat. Acad. Sci. USA 43, 1060 [1957].
⁶²) E. L. Wollman, F. Jacob u. W. Hayes, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 21, 141 [1956].
⁶³) F. Jacob u. E. L. Wollman, Symposia Soc. exp. Biol. 7, 75 [1958].
⁶⁴) M. Demerec u. Mitarb.: Carnegie Inst. Publ. 612, Washington, D. C. 1956.
⁶⁵) E. M. Lederberg, Genetics 37, 469 [1952].
⁶⁶) M. L. Morse, E. M. Lederberg u. J. Lederberg, ebenda 41, 758 [1956].
⁶⁷) C. Yanofsky u. I. P. Crawford, Proc. nat. Acad. Sci. USA 45, 1016 [1959].
⁶⁸) J. Lederberg, Science [Washington] 114, 68 [1951].
⁶⁹) F. Orskov u. I. Orskov, unveröffentl.

rekombinieren, und daß in einigen Fällen die Stämme sich auch gegenseitig befruchten können. Ob die restlichen drei Viertel vollkommen unfruchtbar sind oder geschlossene, genetisch voneinander verschiedene und daher nicht miteinander rekombinierbare Gruppen bilden, ist nicht systematisch untersucht worden.

E. coli K-12 rekombiniert auch mit einigen Stämmen von *Shigella spp.*⁷⁰), und obwohl Kreuzungen zwischen *E. coli* und vielen Salmonellen bzw. von Salmonellen untereinander gewöhnlich fehlschlugen, konnte *Baron*⁷¹) *E. coli* mit einem Stamm von *Salmonella typhimurium* kreuzen. Damit ergibt sich die Möglichkeit, Hybriden zu erzeugen, welche die Brücke zwischen den Rekombinationsversuchen mit *E. coli* und der Transduktion bei Salmonellen bilden könnten.

Gene und Viren

Bakterien bieten die einzigartige Gelegenheit, das genetische Wechselspiel zwischen Viren und ihren Wirtszellen zu untersuchen. Es war eine Zeit lang unbemerkt geblieben, daß der *E. coli*-Stamm K-12 auch noch die wertvolle Eigenschaft besitzt, mit einem Bakteriophagen λ lysogen⁷²) zu sein. Entsprechend den Voraussagen *Burnets* hatten wir erwartet, daß sich der Prophage für λ wie eine genetische Einheit verhalten würde. Trotzdem waren wir überrascht, als es sich bei den ersten Kreuzungsversuchen, die Dr. *Esther Lederberg* unternahm, herausstellte, daß der Prophage wie ein typisches, in den Chromosomen lokalisiertes Erbmerkmal segregierte⁷³). Genau das gleiche Bild ergab sich aus der Aufspaltung der Erbmerkmale Lysogenie und Infizierbarkeit bei den Nachkommen diploider, heterozygoter Zellen, ein Versuch, der die damals noch stark diskutierte geschlechtliche Rekombination umging⁷⁴). Daß solche heterozygoten Zellen lebensfähig sind, unterstützt die Hypothese, daß die Lysogenie durch eine Immunität zustandekommt, die sich im Cytoplasma gegen die pathogene Wirkung des in den Chromosomenbestand der Zelle eingedrungenen Phagen entwickelt. Zum gleichen Schluß führt die Befruchtung einer infizierbaren Zelle mit einem Chromosom, das mit einem Prophagen besetzt ist⁷⁵): Vermehrung und Reifung des Phagen mit anschließender Lyse der Zelle können die Folgen sein. Dagegen hat die Befruchtung eines lysogenen Bakteriums mit dem Chromosom einer infizierbaren Zelle keine derartigen Wirkungen. Über die Art, in welcher der Prophage an das Chromosom gebunden ist, weiß man ebenso wenig wie über die höhere Organisation der DNS überhaupt. Die Isolierung intakter Chromosomen aus Bakterien sollte auch diese Frage einer Lösung näher bringen.

⁷⁰) S. E. Luria u. J. W. Burrous, J. Bacteriol. 74, 461 [1957].

⁷¹) L. S. Baron, W. F. Carey u. W. M. Spilman: Abstr. 7th Int. Congr. Microbiol. Verlag Almqvist u. Wiksell, Stockholm 1958, S. 50.

⁷²) Anm. des Übers.: Es gibt Phagen-Arten (sog. temperierte Phagen), die eine Zelle infizieren, ohne ihre sofortige Lyse zu bewirken. Der Phage kann vielmehr als Prophage, d. h. als Bestandteil des bakteriellen Chromosoms auf viele Tochtergenerationen weitergegeben werden, bis schließlich spontan oder durch äußere Ursachen (z. B. UV-Bestrahlung) veranlaßt irgendwann Lyse der Zellen eintritt. Bakterien, die einen Prophagen enthalten, nennt man daher lysogen.

⁷³) E. M. Lederberg u. J. Lederberg, Genetics 38, 51 [1953]. — Anm. des Übers.: Kreuzt man lysogene mit lysogenen Zellen, so ist die gesamte Nachkommenschaft lysogen. Die Kreuzung infizierbar \times infizierbar ergibt in gleicher Weise nur infizierbare Nachkommen. Aus der Kreuzung infizierbar \times lysogen entstehen dagegen sowohl infizierbare als auch lysogene Tochterzellen, d. h. die beiden mittelnachgekroten Erbmerkmale „entmischen“ sich wieder (segregieren) bei den Nachkommen.

⁷⁴) Anm. des Übers.: Diploid ist eine Zelle mit doppeltem Genbestand. Sind homologe Gene in den beiden Chromosomen-Sätzen verschieden, so ist die Zelle außerdem heterozygot. Hier wurden Zellen verwendet, die auf einem Chromosom das Gen für Lysogenie, auf dem anderen Chromosom an entsprechender Stelle das Gen für Infizierbarkeit trugen. Bei der vegetativen Vermehrung solcher Zellen entstehen u. a. haploide Nachkommen, d. h. Tochterzellen, die nur noch einen Chromosomen-Satz enthalten. Diese sind dann entweder lysogen oder infizierbar, so daß auch hier wieder eine Entmischung der Erbanlagen eintritt.

⁷⁵) F. Jacob u. E. L. Wollman, Ann. Inst. Pasteur 91, 486 [1956].

Es gibt ein weiteres infektiöses Teilchen, das die Fähigkeit einer *E. coli*-Zelle, als männlicher Partner bei Rekombinationen zu wirken, bestimmt⁵⁷). Wir haben es als F-Teilchen bezeichnet, und es gibt zwei Arten männlicher Stämme, die sich darin unterscheiden, ob das F-Teilchen in den Chromosomen (Hfr-Stämme) oder im Cytoplasma ((F+)-Stämme) sitzt. (F+)-Stämme, z. B. der ursprüngliche *E. coli*-Stamm K-12, wirken gleichsam ansteckend, denn bringt man sie mit Populationen weiblicher (F-)-Zellen zusammen, so verwandeln sie diese sehr rasch in Zellen mit männlicher Eigenschaft.

Die unterschiedliche Lokalisation des F-Teilchens in männlichen Stämmen ergibt sich vor allem aus seinem Verhalten bei Kreuzungen. Außerdem fanden *Hirota* und *Iijima*⁵⁸), daß F-Teilchen aus (F+)-Stämmen durch Behandlung mit Acridin-Farbstoffen entfernt werden können. Hfr-Stämme sind gegen Acridin-Orange unempfindlich, doch wenn sie sich in (F+)-Stämme zurückverwandeln, was gelegentlich geschieht, werden sie sogleich auch durch den Farbstoff verwundbar. Die leichte Zugänglichkeit extrachromosomal F-Teilchen hat mehrere Parallelen⁵⁹), von denen die bemerkenswerteste vielleicht das Ausbleichen grüner Pflanzenzellen unter der Einwirkung von Streptomycin ist^{45, 78, 79}). Dagegen gibt es kein Reagens, das F-Teilchen oder den Prophagen für λ inaktiviert, so lange diese an Chromosomen gebunden sind.

Das Virus λ und das Plasmagen F ähneln einander in vieler Hinsicht^{80, 81}). Dagegen unterscheiden sie sich in folgenden Eigenschaften:

1. Cytopathogenität. Ein Bakterium kann nicht lange leben, wenn λ sich im Cytoplasma befindet. Entweder reduziert sich das vegetative λ zum chromosomalen Zustand oder es vermehrt sich und ruft die Lyse der Wirtszelle hervor. Ähnliche Wirkungen des F-Teilchens sind nicht bekannt.
2. Reifung. Vegetatives λ bewirkt die Bildung von Proteinhüllen. Diese umgeben die von der Zelle reproduzierten λ -Teilchen so, daß reife, infektiöse Phagen entstehen. F kennt man dagegen nur als intrazelluläres, vegetatives Element, doch könnte die Membran einer (F+)-Zelle der Proteinhülle eines Phagen entsprechen.
3. Übertragung. λ ist infektiös, d. h. es bildet freie Teilchen, die in infizierbare Zellen eindringen können. F kann nur durch Konjugation von Zelle zu Zelle übertragen werden.
4. Fixierung am Chromosom. Für λ gibt es eine vorbestimmte Stelle, an der es am bakteriellen Chromosom fixiert wird. F ließ sich dagegen an verschiedenen Stellen des Chromosoms nachweisen, doch mag es sein, daß dies kein echter Unterschied ist, denn unter besonderen Bedingungen wird auch F an einigen Stellen bevorzugt fixiert⁸²). Und außerdem ist ein Ortswechsel von F leichter festzustellen als ein solcher von λ .
5. Induktion. Bestrahlt man lysogene Zellen mit kleinen Dosen ultravioletten Lichtes, so startet der Prophage die lytische Reaktion, indem zuerst vegetative, danach reife Phagen entstehen und schließlich die Zelle zer-

platzt⁸³). Hfr-Stämme reagieren nicht so, doch ist die Kinetik der Rückverwandlung Hfr \rightarrow F+ noch nicht genau untersucht worden.

Genetische Transduktion

Die genetische Funktion von Bakteriophagen gibt sich auch durch die Transduktion zu erkennen. Darunter versteht man die Erscheinung, daß Gene einer Bakterienzelle durch Phagen in eine andere Zelle transportiert werden^{5, 84}). Nach unseren ersten Versuchen glaubten wir, daß die bakteriellen Gene zufällig von normalen Phagen mitgenommen worden seien⁸⁵⁻⁸⁷). Weitere Untersuchungen ergaben jedoch, daß das transduzierende Teilchen eine normale Phagen-Hülle und einen fehlerhaften Phagen-Kern besitzt. Dies läßt vermuten, daß prinzipiell jedes Gen transduzierbar ist, in dessen Nähe sich ein Prophage auf dem Chromosom befindet⁸⁸⁻⁹⁰.

Ein besonderes Problem bei der Transduktion ist das Zustandekommen einer spezifischen Aneinanderlagerung (Synapsis) homologer Chromosomen-Segmente in der Empfängerzelle. Wie auch immer das transduzierte Gen schließlich in deren Genom eingebaut wird, zunächst muß es das homologe Gen im Empfänger-Chromosom „ausfindig“ machen. Sowohl bei der Transduktion als auch bei der geschlechtlichen Rekombination wird die neue Information dem Genbestand der Zelle nicht einfach hinzugefügt, sondern sie muß die dort vorhandene alte Information ersetzen. Das schließt aber ein, daß die beiden homologen Gene einander gegenüberstehen, ehe die Zelle sich für eines von ihnen „entscheidet“. Daß die DNS der Chromosomen sich im Zustand der stabilen Doppelhelix befindet und außerdem geknäuelt ist, macht die Synapsis nur noch schwerer verständlich, und es ist wohl anzunehmen, daß eher irgendwelche von den Genen erzeugte Stoffe die synaptische Paarung vermitteln als daß sie an der DNS direkt stattfindet.

Wie das transduzierte Fragment schließlich in das Chromosom der Empfängerzelle eingebaut wird, ist eine weitere Frage⁴), die sich vorläufig nur durch zwei Hypothesen beantworten läßt: nach der einen soll das transduzierte Gen durch mechanischen Stückaustausch aufgenommen werden, nach der anderen bleibt es selbständig bis zur Reduplikation der DNS, bei der dann seine statt der alten Information befolgt wird. Die gleiche Frage ist beim crossing over⁹¹), das im Verlauf der Reduktionsteilung (Meiosis) bei höheren Organismen stattfinden kann, noch immer ungeklärt. Hier wie da wäre es notwendig, mehr über die Struktur der Chromosomen zu erfahren, um einer Lösung des Problems näher zu kommen.

Was unterscheidet Gene von Viren?

Die fundamentale Ähnlichkeit von Genen mit Viren läßt die offensichtlichen Unterschiede zwischen beiden nur umso ratselhafter erscheinen. Nach der oben entwickelten Theorie über die Reduplikation der DNS spielt diese dabei

⁵⁸) Y. Hirota u. T. Iijima, *Nature* [London] 180, 655 [1957].
⁵⁹) J. Lederberg, *Physiol. Rev.* 32, 403 [1952].

⁷⁸) H. v. Euler, *Kem. Arb.* 9, 1 [1947].
⁷⁹) L. Provost, S. H. Hultner u. I. J. Pintner, *Cold Spring Harbor Symp. quantitat. Biol.* 16, 113 [1951].
⁸⁰) F. Jacob u. E. L. Wollman, *C. R. hebdo. Séances Acad. Sci.* 247, 154 [1958].
⁸¹) J. Lederberg: *Abstr. 7th Intl. Cong. Microbiol.* Verlag Almqvist u. Wiksell, Stockholm 1958, S. 58.
⁸²) A. A. Richter, Ph. D.-Dissertation, University of Wisconsin, University Microfilms, Ann Arbor, Mich. 1959.

⁸³) A. Lwoff, L. Siminovitch u. N. Kjeldgaard, *Ann. Inst. Pasteur* 79, 815 [1950].
⁸⁴) N. D. Zinder, *J. cellular comparat. Physiol.* 45, Suppl. 2, 23 [1955].
⁸⁵) L. M. Morse, E. M. Lederberg u. J. Lederberg, *Genetics* 41, 142 [1956].

⁸⁶) B. A. D. S. Stocker, N. D. Zinder u. J. Lederberg, *J. gen. Microbiol.* 9, 410 [1953].
⁸⁷) N. D. Zinder u. J. Lederberg, *J. Bacteriol.* 64, 679 [1952].
⁸⁸) W. Arber, *Arch. des Sci.* 11, 259 [1958].

⁸⁹) A. Campbell, *Virology* 4, 366 [1957].
⁹⁰) S. E. Luria, D. K. Fraser, J. N. Adams u. J. W. Burrous, *Cold Spring Harbor Symp. quantitat. Biol.* 23, 71 [1958].

⁹¹) Anm. des Übers.: Als crossing over bezeichnet man den Austausch homologer Segmente zwischen zwei Chromosomen, der damit beginnt, daß die beiden Chromosomen punktförmig aneinander haften (wodurch der Eindruck einer Überkreuzung entsteht) und dann an diesen Haftpunkten zerbrechen.

keine andere Rolle, als daß sie das notwendige Muster liefert. Verschiedene Nucleotid-Sequenzen sollten also gleich gut reproduzierbar sein. Worin besteht dann die Besonderheit der DNS eines Virus, die dazu führt, daß ein Virus seine alleinige Reproduktion auf Kosten des gesamten Zellstoffwechsels bewirken kann? Für die geradzahligen T-Phagen gibt der Gehalt an 5-Glucosyl-hydroxymethylcytosin eine teilweise Erklärung¹⁵⁾. Andere Viren, wie λ , enthalten jedoch keine ungewöhnlichen Bestandteile. Als Prophagen können sie außerdem zusammen mit der bakteriellen DNS redupliziert werden, ohne dabei zu stören. Enthalten Viren ein besonderes chemisches oder physikalisches Strukturelement, das bisher nicht entdeckt wurde? Oder bewirken sie die Bevorzugung der eigenen Synthese, indem sie Informationen für die Bildung neuer, zusätzlicher Enzyme enthalten?

Die Entstehung des Lebens

Die gegenseitige Abhängigkeit zwischen DNS, RNS und Proteinen, wie sie hier aufgezeigt wurde, ist typisch für alle gegenwärtigen Formen des Lebens. Viren als infektiöse Teilchen sind zwar einfacher organisiert, aber zu ihrer Vermehrung müssen auch sie sich parasitär des Stoffwechselapparates der Wirtszelle bedienen.

Wie müßte nun — im Lichte der heute bekannten oder angenommenen Mechanismen — ein primitiver Organismus aussehen, der den Ausgangspunkt für die fortwährende Reduplikation der DNS bildete? Erforderlich wären mindestens:

1. DNS,
2. die vier Desoxyribonucleotid-pyrophosphate in ausreichender Menge,
3. ein Molekül des Enzym-Proteins DNS-Polymerase,
4. Ribonucleotid-phosphate als RNS-Vorstufen,
5. ein Molekül des Enzym-Proteins RNS-Polymerase,
6. die zwanzig Aminoacyl-nucleotide oder die zwanzig Enzyme, welche die Kondensation von Aminosäuren mit RNS-Fragmenten katalysieren, und die für diese Reaktionen nötigen Ausgangsstoffe,
7. ein Molekül des Enzym-Proteins Aminoacyl-RNS-Polymerase.

Diese reichlich lange Liste kann man im Prinzip auf ein Polynucleotid und ein Enzym, das dessen Bildung katalysiert, reduzieren. Aber auch damit verlangt man noch das gleichzeitige Auftreten einer Nucleinsäure und eines Enzyms, was so viel unwahrscheinlicher ist als z. B. die von vielen Autoren angenommene spontane Bildung eines DNS-Moleküls, daß wir nach anderen Vorstellungen über die Entstehung des Lebens suchen müssen. Zwei Lösungen bieten sich an: in einem primitiven Organismus könnte die Reduplikation von Nucleinsäure, wenngleich vielleicht mit geringerer Perfektion, auch ohne die Mitwirkung eines Proteins stattgefunden haben. Enzymatische Polymerisation und Weitergabe einer Information von der Nuclein-

säure zum Protein wären dann als Verfeinerungen zu betrachten, die später hinzukamen. Die andere Möglichkeit ist, daß sich die DNS aus einem einfacheren, durch spontane Kondensation entstehende Polymeren allmählich entwickelt hat, was angesichts der Vollendung, welche die DNS-Struktur aufweist, recht plausibel erscheint.

Der Nucleoprotein-Cyclus ist der Höhepunkt der biochemischen Evolution. Sein Alter zeigt sich darin, daß er in allen lebenden Gattungen verwirklicht ist. Nachdem es seit etwa 10⁹ Jahren Nucleoproteine gibt, dürften diese zu den dauerhaftesten Strukturen auf unserem Planeten gehören.

Bis heute kennt man keine andere, polymere, sich selbst reduplizierende Substanz. Die Nucleinsäuren zeigen jedoch, welchen Bedingungen ein solches Polymer genügen müßte: erforderlich wäre eine stabile, periodische Struktur, in der zwei oder mehr Einheiten gegeneinander austauschbar sind. Sie müßte die reversible Anlagerung der Monomeren in einer Sequenz ermöglichen, die der des fertigen Polymeren entspricht. Benachbarte, adsorbierte Monomere müssen sich dann miteinander zur Replika des Polymeren verbinden, die sich von der Matrize löst. Um ein möglichst einfaches Modell zu haben, sollten die Monomeren spontan miteinander reagieren, aber trotzdem eine zuverlässige Nachbildung der schon bestehenden Kette ergeben. In der DNS wird die Anlagerung der Monomeren durch Wasserstoffbrücken vermittelt, die von Nuclein-Basen ausgehen, die auf einem stabilen Rückgrat mit spiraliger Struktur sitzen. Dieses sehr spezifische aber zugleich auch sehr komplizierte Gebilde dürfte nur schwer zu imitieren sein. Es würde zunächst genügen, für die komplementäre Anlagerung einen größeren Mechanismus zu finden, wie er wohl auch am Anfang der biologischen Evolution stand. Am einfachsten erscheint hierfür die elektrische Anziehung zwischen entgegengesetzt geladenen Gruppen, z. B. $-\text{NH}_3^+$ und $-\text{COO}^-$, die in organischen Verbindungen häufig vorkommen. Könnte man die gleiche Erfindungsgabe und die gleiche handwerkliche Geschicklichkeit, die so erfolgreich zur Herstellung praktisch brauchbarer organischer Polymerer geführt haben, auf das Problem verwenden, eine sich selbst reduplizierende Substanz zu konstruieren, so glaube ich, daß es mit den uns heute zur Verfügung stehenden Kenntnissen und Mitteln der organischen Chemie gelingen müßte, ein künstliches Molekül zu schaffen, dessen Funktion der eines primitiven Lebewesens vergleichbar ist.

Die hier zusammenfassend mitgeteilten Arbeiten meines Laboratoriums sind vom National Institutes of Health, U.S. Public Health Service, von der National Science Foundation, von der Rockefeller Foundation, von der Wisconsin Alumni Research Foundation, von der University of Wisconsin und seit kurzem von der Stanford University großzügig gefördert worden. Dem Jane Coffin Childs Fund for Medical Research danke ich für ein Forschungsstipendium, das meine erste Zusammenarbeit mit Professor E. L. Tatum ermöglichte.

Übersetzt von Dr. H. Grünwald, Heidelberg
Eingegangen am 19. Mai 1959 [A 969]