

ANGEWANDTE CHEMIE

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

HERAUSGEgeben von der GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

78. JAHRGANG

NR. 14 · SEITE 689–724

21. JULI 1966

Virus, Zelle, Organismus

VON PROF. DR. A. LWOFF

Nobelvortrag am 11. Dezember 1965 [*]

SERVICE DE PHYSIOLOGIE MICROBIENNE DE L'INSTITUT PASTEUR, PARIS (FRANKREICH)

Ein Organismus ist ein System von Strukturen und Funktionen, die voneinander abhängen. Er besteht aus Zellen, und die Zellen sind aus Molekülen gebildet, die reibungslos zusammenarbeiten müssen. Jedes Molekül muß wissen, was das andere tut. Es muß Botschaften empfangen und ihnen gehorchen können. — Die Gesetze der Regulation sind Ihnen bekannt, und ebenso unser Weg zu dem harmonischen und festgefügten Begriffsgebäude, das der Biologie die Einheit vermittelt.

Dem Philosophen bedeutet Ordnung die Gesamtheit an Wiederholbarkeiten wie sich diese in den Typen oder in den Gesetzmäßigkeiten der untersuchten Dinge darbieten. Ordnung ist eine rein gedankliche Beziehung. Für den Biologen ist sie ein Nacheinander in Raum und Zeit.

Nach *Platon* entstehen alle Dinge aus ihrem Gegenteil. Die Ordnung erwächst aus der Unordnung. Und die lange Evolution, die zur heutigen biologischen Ordnung führte, muß schließlich wieder Unordnung erzeugen.

Ein Organismus kann als Gesellschaft von Molekülen aufgefaßt werden, und deswegen ist die biologische Ordnung eine Art sozialer Ordnung, die sich der Revolution als gewaltssamer Änderung der Ordnung und der Anarchie als Abwesenheit jeglicher Ordnung entgegenstellt.

Ich repräsentiere heute hier die Revolution und die Anarchie, aber ich bin für beide nicht allein verantwortlich. Die Anarchie kann nur in einer geordneten Gesellschaft gedeihen, und die Revolution wird früher oder später zur neuen Ordnung. Auch die Viren halten sich an diese Regel. Sie sind richtige Parasiten, die, aus der Unordnung entstanden, eine bemerkenswerte neue Ordnung schufen, um den Fortbestand ihrer Art zu sichern.

Seit vielen Jahren befassen sich bedeutende Forscher mit den Viren. Meine Arbeit wurde nur Fortsetzung einer

langen Kette von Entdeckungen und Ideen. Ich möchte hier das Verhältnis von Virus und Zelle sowie von Virus und Organismus besprechen, vor allem aber die Beziehungen zwischen dem Stoffwechsel des Virus und dem Stoffwechsel der Zelle, und ich werde versuchen, Entwicklung und Wachstum, Ontogenese und Phylogenie der Vorstellungen darzulegen.

Max Delbrück hat bei dieser Entwicklung eine entscheidende Rolle gespielt. Die Logik seines Denkens, die Strenge seiner Methode und die Wahl seiner Schüler haben das Entstehen der heutigen Virologie und der molekularen Biologie stark beeinflußt. Sein Schüler *Hershey* machte 1952 eine grundlegende Entdeckung: Bakteriophagen benötigen zur Reproduktion nur ihr genetisches Material. Diese seltsame Eigenschaft, die zunächst eine Besonderheit der Bakteriophagen zu sein schien, wurde sehr bald als Charakteristikum der Viren angesehen: Jede organisierte Struktur, die nur ihr genetisches Material zur Vermehrung benötigt, muß ein Virus sein. Somit konnten, dank *Hershey*, die Viren von den Mikroben unterschieden und auf Grund dieses wichtigen Unterschiedes definiert werden. Diese Entdeckung hat dann auch die gesamte Virusbiologie richtunggebend beeinflußt.

Ein Molekül Nucleinsäure kann sich nur im Innern einer Zelle reproduzieren. Es findet dort alles, was ihm fehlt: Enzyme, Baumaterial, Energiequellen und Ribosomen. Ein Virus ist folglich ein intrazellulärer Parasit. Das genetische Material eines Virus dringt in die Zelle ein. Die Moleküle der Zelle und des Virus treffen zusammen, und das Schicksal der beiden Partner entscheidet sich. Zwei Extremfälle sind möglich. Entweder das Virus vermehrt sich auf Kosten der Zelle, oder die Zelle unterwirft das Virus. Da der „totale Krieg“ manchem interessanter erscheint als die „friedliche Koexistenz“, untersuchte man ihn zuerst.

Das in ein Bakterium eingedrungene genetische Material eines äußerst virulenten Bakteriophagen verursacht den Zerfall des Bakterienchromosoms. Das Bakterium kann

[*] © 1966 The Nobel Foundation. — Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieser Übersetzung.

keine Messenger-Moleküle und Bakterienproteine mehr synthetisieren. Die DNS (Desoxyribonucleinsäure) des Bakteriophagen benutzt die Ribonucleotide und Enzyme der Wirtszelle, um seine eigenen Messenger-Moleküle zu produzieren, die sich dann an die Bakterienribosomen anlagern. Aktivierte Transfer-RNS (Ribonucleinsäure) und Bakterienenzyme synthetisieren darauf die Proteine des Bakteriophagen, z. B. Enzyme für die Fabrikation besonderer Phagenbestandteile wie 5-Hydroxymethylcytosin oder für die Replikation der Bakteriophagen-DNS sowie Strukturproteine für die neuen Bakteriophagen. Eines der zuletzt gebildeten Enzyme ist das Endolysin, das die Bakterienwand zerstört, das Bakterium zum Platzen bringt und die Nachkommenschaft des Bakteriophagen freisetzt. Die Kinetik dieser Synthese zeigt, daß jedes Protein während einer festgelegten Zeit im Entwicklungszyklus gebildet wird, als ob eine Folge von Repressionen und Derepressionen das Geschehen diktierte.

Soviel wir wissen, reguliert der Bakteriophage seinen Lebenszyklus allein. Das von ihm infizierte Bakterium wird zu einer Virusfabrik, die sich schließlich selbst zerstört. Das Bakterium kann die Entwicklung eines virulenten Bakteriophagen nicht beeinflussen. Allerdings ist das ein Extremfall; die Beziehungen zwischen Virus und Bakterium haben nicht immer diesen dramatischen Charakter.

Es gibt nämlich Bakteriophagen, die nicht alle Bakterien umbringen; manche der infizierten Bakterien überleben und vererben die Fähigkeit zur Phagenproduktion. Dies sind die lysogenen Bakterien. Ihr Studium hat unsere Vorstellungen über die Beziehungen zwischen Zelle und Virus grundlegend verändert. Ich möchte zuerst die Theorie besprechen, denn wie so oft eilten die Hypothesen und theoretischen Überlegungen den Tatsachen voraus.

1923 hatten *Duggar* und *Armstrong* eine kühne Idee: Die Viren sollten keine kleinen Bakterien, sondern revoltierende Gene sein, die aus ihrer geordneten Umgebung ausgebrochen sind. 1925 und dann 1928 griff *Eugène Wollman* diese Idee auf und entwickelte sie weiter. Für ihn war die Übertragung von Eigenschaften von einem Bakterium auf ein anderes das Ergebnis einer Weitergabe relativ stabiler Gene durch das umgebende Medium, und die Viren verglich er mit letalen Genen. Man weiß heute, daß die Viren und die Chromosomen ihrer Wirtszellen gemeinsame Nucleotidsequenzen besitzen können, die nicht zufällig entstanden sein dürften. Viele Virologen meinen, daß die Viren durch Mutation aus zellulären Elementen, d. h. aus normalen Strukturen hervorgingen. Die Ordnung der Zelle brachte also das Element der Unordnung, das Virus, hervor und rechtfertigt *Platon*. Heute erscheinen uns die Ideen von *Duggar* und *Armstrong* sowie von *Eugène Wollman* wie prophetische Visionen.

Diese Ideen wurden lange angefochten. Aus den Veröffentlichungen zwischen 1925 und 1940 spricht oft eine erstaunlich heftige Leidenschaft. Jene wissenschaftlichen Diskussionen erinnern uns heute an die Schmähreden homerischer Helden. Ich glaube, daß man jetzt sehr viel eher bereit ist, neue Ideen zu akzeptieren, vielleicht weil

sie im allgemeinen besser von experimentellen Tatsachen untermauert sind.

Doch wir wollen zur Vergangenheit zurückkehren und sehen, wie unsere Vorstellungen über die Viren, die Lysogenie und die Beziehungen zwischen Zellen und Viren entstanden sind.

Schon 1915 hatte *Twort* angenommen, daß die Bakteriophagie durch ein Virus verursacht sein könnte. *d'Hérelle* dachte ebenso: Bakteriophagen sind Viren, die Bakterien töten. Nun begann die Lysogenie die Bakteriologen zu beunruhigen. Die Existenz der Lysogenie hatte *d'Hérelle* zuerst abgestritten; später glaubte er, sie entdeckt zu haben. Doch wichtiger als dieser Streit war das sonderbare Problem, das die Bakterien aufwarfen, welche Bakteriophagen produzieren.

Jules Bordet schrieb 1925: „Die Fähigkeit zur Bakteriophagenproduktion wird von den lysogenen Bakterien vererbt. Sie ist in der Physiologie des normalen Bakteriums niedergelegt.“ Der große Immunologe erkannte nicht, daß die Vererbung an eine Struktur gebunden sein könnte. Die Vererbung war für ihn nur die Weitergabe einer individuellen Physiologie und der Bakteriophage daher keine materialisierte vererbbarre Eigenschaft. *Bordet* stellte 1931 fest: „Das unsichtbare Virus von *d'Hérelle* gibt es nicht. Die lytische Aktivität ist eine pathologische Entgleisung einer normalen Funktion des Bakteriums“. Wir wundern uns heute, daß ein so hervorragender Forscher spezifische Funktionen postulieren konnte, die nicht strukturabhängig sein sollten.

1929 erlebte die Lysogenie einen neuen Aufschwung. *Sir MacFarlane Burnet* und *Margot Mac Kie* begannen, mit lysogenen Salmonellen zu arbeiten. Nach diesen australischen Autoren enthalten nur 0,1 % der Bakterien Bakteriophagen. Aber da sie alle Bakteriophagen erzeugen können, müssen sie eine spezifische Anlage haben, die mit der erblichen Konstitution des Bakteriums zusammenhängt. Der Bakteriophage wird erst „freigesetzt“, wenn man das Bakterium „aktiviert“. Für *Burnet* bedeutete diese Freisetzung wahrscheinlich eine Demaskierung, denn er schrieb 1934: „Man muß annehmen, daß jedes lysogene Bakterium ein oder mehrere Bakteriophagenpartikel enthält, die sich durch binäre Teilung zusammen mit dem Bakterium vermehren“.

Man meinte damals, daß die Viren kleine Mikroben seien, und eine kleine Mikrobe mußte sich notwendigerweise durch Teilung vermehren. Was bedeutete nun die nicht-infektiöse Phase? Wahrscheinlich nichts Besonderes, denn man kannte zahlreiche Organismen, vor allem Protozoen, die während ihres Entwicklungszyklus eine nicht-infektiöse Etappe durchlaufen. *Burnet* hatte demnach die nicht-infektiöse Phase des Bakteriophagen beim lysogenen Bakterium entdeckt. 1937 stellten *Eugène* und *Elisabeth Wollman* fest, daß die nicht-infektiöse Phase des Bakteriophagen sofort nach der Infektion beginnt. Das konnte 1948 ein Schüler von *Max Delbrück*, *Doermann*, bestätigen, der zum ersten Mal den gesamten Zyklus eines Bakteriophagen genauer untersuchte.

Wollman hatte erkannt, daß die neuen Bakteriophagen nicht die direkten Nachkommen des infizierenden Partikels sind. Infektiöse und nicht-infektiöse Phase wech-

seln also ab. In einem nicht-lysogenen Bakterium muß dieser Wechsel bei jedem Bakterienzyklus eintreten, und jedes lysogene Bakterium muß bei jeder Teilung einen einzigen Bakteriophagen erzeugen.

1938 gab *Northrop* die Meinung auf, daß die Bakteriophagen Proteine seien, und entschloß sich, die Kinetik der Synthese von Enzymen und von Bakteriophagen in einem lysogenen Bakterium zu untersuchen. Er folgerte aus seinen Experimenten, daß Bakteriophagen genau wie Enzyme während des normalen Wachstums des Bakteriums entstehen. Zu bemerken wäre hier allerdings, daß man die gleichen Meßwerte bekommt, ob nun in einer Bakterienpopulation eines von hundert Bakterien hundert Bakteriophagen bildet, oder ob jedes Bakterium nur einen Bakteriophagen erzeugt. 1949 sprach die neue amerikanische virologische Schule, der die Virologie so viel verdankt, ihr Verdammungsurteil über die Lysogenie aus. Für die Natur gibt es keine Probleme, sie kennt nur deren Lösungen. Die Lösung, das unterjochte lysogene Bakterium, wurde als Kriterium zur Einteilung der Bakterienstämme verwendet. Das Problem, wie leichte Wolken, die ein Windhauch zerteilt, war aus dem Tempel der Wissenschaft vertrieben. Die Annahme der Lysogenie wurde zur Ketzerei. Aber ein paar Ketzer überlebten – unter ihnen *Jacques Monod* –, und er bestärkte mich, die Frage der Lysogenie wieder aufzugreifen. Ich entschloß mich, einzelne Bakterien zu untersuchen.

Ich gestehe, daß ich diese Entscheidung nur traf, weil ich weder Mathematik noch Statistik liebe. Ich habe meine Laufbahn als Protozoologe begonnen; ich möchte Dinge sehen und nicht Wahrscheinlichkeiten berechnen. Ich nahm also ein lysogenes Bakterium und setzte es in einen Tropfen Nährmedium. Das Bakterium teilte sich, die Tochterbakterien trennten sich, und nach jeder Teilung brachte ich die Tochterbakterien in neue Tropfen. Ein Bakterium teilte sich neunzehnmal, ohne Bakteriophagen freizusetzen, und alle seine Nachkommen waren lysogen.

Lysiert man lysogene Bakterien, so stellt man fest, daß sie gar keine Bakteriophagen enthalten. Die Lysogenie wird daher in einer nicht-infektiösen Form weitergegeben. Wir schrieben 1950 – *Hershey* gelang seine Entdeckung erst 1952. Aber ich wollte es nicht wahrhaben, daß es nicht-infektiöse Viren geben könne. Die nicht-infektiöse Form mußte etwas vom Virus Verschiedenes sein. So wurde der Name Prophage vorgeschlagen. Es schien, als habe die Welt nur auf diesen Namen gewartet, denn das griechische Wort wurde trotz seines französischen Ursprungs schnell und einstimmig aufgegriffen.

Einem unbekannten Partikel einen Namen geben bedeutet, ihm die Würde eines Problems zuzuerkennen. Das Problem des Prophagen war aufgeworfen, und die Geschichte der Lysogenie begann von neuem.

Der Prophage und die Bakterien leben also im Gleichgewicht. In einer großen Population lysogener Bakterien findet man aber immer einige Bakteriophagen. Mußten wir nun das Problem als Statistiker betrachten? Mußten wir die Wahrscheinlichkeit berechnen, nach der ein

Bakterium zu einer bestimmten Zeit Bakteriophagen produziert? Mußten wir uns schließlich damit zufriedengeben, eine Formel zu finden, die den Gesundheitszustand einer Population mit griechischen Buchstaben beschreibt? Ich habe schon gesagt, daß ich kein Statistiker bin; ich denke konkret, und ich möchte beobachten, weil ich etwas sehen will. Also betrachtete ich von neuem die isolierten Bakterien. Einige von ihnen vermehrten sich normal. Andere jedoch vermehrten sich nur eine Zeitlang; dann lysierten alle ihre Nachkommen. Und jedes der lysierten Bakterien setzte Bakteriophagen frei. Es schien, als ob in manchen Tropfen des Nährmediums die Entwicklung des Bakteriophagen induziert worden sei. Das war meine Schlußfolgerung, und unglücklicherweise habe ich sie publiziert. Jetzt mußte ich beweisen, daß die Induktion eine Realität und nicht nur die Hypothese eines Phantasten war.

Mit *Louis Siminovitch* und *Niels Kjeldgaard* begannen wir die harte und entmutigende Arbeit, die erst nach einem Jahr belohnt wurde. Lysogene Bakterien wurden mit ultraviolettem Licht bestrahlt. Sie wuchsen noch 45 Minuten weiter, dann lysierten sie, und jedes Bakterium setzte bei der Lyse etwa hundert Bakteriophagen frei. Die Induktion war entdeckt. Und da sie 99,9 % der Population betraf, war eine statistische Analyse unnötig. Ich war gerettet.

Es schien also, daß die Entwicklung eines Prophagen zu einem Bakteriophagen eine tödliche Krankheit ist. Der Prophage ist ein potentieller letaler Faktor, und die Bestrahlung zwingt ihn, seine Fähigkeiten zu entfalten. Seit langem nimmt man an, daß letale Agentien wie ultraviolette oder Röntgenstrahlen die Zelle töten, weil sie eine lebenswichtige Struktur zerstören. Diese Ansicht schien selbstverständlich, denn sie vertrug sich mit den Vorstellungen, daß der Tod auf der Unterdrückung einer wesentlichen Funktion beruht.

Da aber jede Theorie verallgemeinert, wächst ihre Gefährlichkeit mit ihrem Wahrheitsgehalt. Die biologischen Theorien erklären die Lebenserscheinungen entweder negativ als Vergehen von Strukturen und Funktionen, oder positiv als Entwicklung neuer Strukturen und Funktionen. Wir sind daran gewöhnt, nach einer der beiden Arten zu denken, und es ist anscheinend schwierig einzusehen, daß diese beiden Arten nicht unvereinbar sein müssen. Strahlen töten zwar manchmal, indem sie Strukturen verändern oder zerstören, manchmal erlauben sie aber auch einem potentiell letalen Gen, sich auszuwirken, neue Synthesen von Bakterienproteinen oder Viren hervorzurufen und dadurch eine tödliche Krankheit zu erzeugen. Strahlen können letale Synthesen auslösen.

Die Induktion war indessen nur ein Teil des Weges zum Verständnis der lysogenen Bakterien. Die Induktion wie auch der Prophage warfen zahlreiche neue Probleme auf, deren Untersuchung bald über den besonderen Fall der Bakteriophagen und der Lysogenie hinausgriff und zur Lösung der Grundprobleme der molekularen Biologie beitrug.

Was ist der Prophage nun eigentlich? Versuche mit radioaktiven Verbindungen zeigten, daß der Prophage eine Desoxyribonucleinsäure, also das genetische Ma-

terial des Bakteriophagen ist, ein Ergebnis, das mit Hersheys Erkenntnissen in Einklang steht. Wo befindet sich der Prophage? Die Entdeckung der Sexualität bei *Escherichia coli* und das Studium des Bakteriophagen *lambda* ermöglichen eine allgemein gültige Antwort auf diese Frage: Der Prophage ist an das Bakterienchromosom angeheftet, und zwar an einem genau definierten und für jede Bakteriophagenart spezifischen Ort, dem Rezeptor.

Wenn ein temperenter Bakteriophage ein nicht-lysogenes Bakterium unter Bedingungen, die es überleben lassen, infiziert, dann dringt das genetische Material des Phagen zunächst in das Cytoplasma ein. Das genetische Material sucht das Bakterienchromosom, erkennt den Rezeptor und lagert sich an ihn an. Erkennen und Zusammenlagern können nur die Konsequenz einer Strukturhomologie sein, einer Gemeinsamkeit von Nucleotidsequenzen. Die DNS des temperenten Bakteriophagen hat eine ringförmige Struktur. Der Abschnitt des Bakteriophagen, der mit einem Abschnitt des Bakterienchromosoms homolog ist, öffnet sich. Ebenso öffnet sich das Bakterienchromosom. Und das genetische Material des Bakteriophagen befindet sich jetzt, wie ein Bakterien-Gen, in die Nucleotidkette des Bakterienchromosoms eingefügt. Das genetische Material des Bakteriophagen ist dadurch ein wesentlicher Teil des Chromosoms geworden und benimmt sich, als sei es ein Bakterien-Gen. Es wird von dem Enzymsystem reproduziert, das auch das Chromosom des Bakteriums reproduziert. Manchmal löst sich der Prophage ab und nimmt dabei einige Bakterien-Gene mit. Diese Bakterien-Gene werden dann von den Enzymen reproduziert, welche die autonome Vermehrung des Bakteriophagen bewirken.

1953 wurde mir klar, daß die Eigenschaften und die Aktivität eines Moleküls oder eines Partikels nicht allein von seiner Struktur abhängen, sondern auch von seinem Platz, und ich schrieb: „Die Position ist die vierte Dimension des Prophagen“. Diese Formulierung warfen mir meine Freunde mit der Begründung vor, sie sei nichtssagend, und sie hatten vielleicht damals recht. Ich glaube jedoch, daß sie trotz der unwissenschaftlichen Ausdrucksweise eine tiefere Bedeutung besitzt.

In einem Bakterium synthetisiert die DNS-RNS-Polymerase die RNS auf einer DNS-Matrize und nicht auf einer RNS-Matrize. In vitro ist das gleiche Enzym aber fähig, auch die RNS als Matrize zu verwenden. Es ist wahrscheinlich, daß sich die DNS-RNS-Polymerase in einem Bakterium dort befindet, wo sie gebraucht wird, denn in einer normalen Zelle hält sich jedes Molekül am richtigen Platz auf, und nicht sonstwo. Und deshalb tut jedes Molekül das, was es tun soll, und nicht etwas anderes. Vielleicht werden manche Krankheiten des zellulären Stoffwechsels durch das Eindringen von Molekülen in fremde Territorien hervorgerufen. Im Reich der Moleküle herrschen wahrscheinlich die gleichen Gesetze wie in komplizierteren Gesellschaften.

Doch kehren wir zu den lysogenen Bakterien zurück. Der Prophage wird von den Bakterienenzymen reproduziert. Warum synthetisiert nun das lysogene Bakterium keine Bakteriophagen? Man nimmt heute an, daß wenigstens eines der Gene des Prophagen aktiv ist

und einen Repressor produziert. Dieser bindet sich an ein Operator-Gen und blockiert die Aktivität der Strukturgene, welche die Bildung der Enzyme determinieren, die für die autonome Reproduktion des Bakteriophagen notwendig sind. Ein lysogenes Bakterium wird neue Bakteriophagen erst dann synthetisieren, wenn es dereprimiert ist, und damit wären wir wieder beim Problem der Induktion.

Außer den physikalischen Agentien wie ultravioletten und anderen Strahlen kennt man zahlreiche chemische Induktoren, z. B. organische Peroxide, Äthylenimine und Mitomycin. Alle Induktoren stören den Stoffwechsel der Nucleinsäuren. Nach Goldthwait und Jacob könnte bei diesem Eingriff schließlich ein Adeninderivat entstehen. Dieses würde sich an den aktiven Repressor anlagern und so eine allosterische Umwandlung hervorrufen. Der aktive Repressor würde damit zu einem inaktiven Aporepressor. Ein Operon wird dereprimiert, ein Struktur-Gen kann sich auswirken, ein neues Enzym wird produziert, das die autonome Vermehrung des genetischen Materials des Phagen ermöglicht, und alle Gene, welche die Viren-Struktur bestimmen, werden aktiviert. Die vegetative Phase läuft ab, neue Phagen werden gebildet, das Bakterium platzt und stirbt.

Die Induktoren inaktivieren also den Repressor, der auch für die Immunität verantwortlich ist. Deshalb wird die Immunität lysogener Bakterien gegenüber einer Überinfektion mit einem homologen Phagen in Gegenwart von Induktoren aufgehoben.

Wenn ein temperenter Phage ein nicht-lysogenes Bakterium infiziert, wird es entweder lysiert oder es wird lysogen. Die Milieubedingungen entscheiden über die Entwicklung des genetischen Materials des Bakteriophagen und damit über die Zukunft des Bakteriums. Diese Bedingungen müssen sich innerhalb sieben Minuten nach der Infektion auswirken können. Das Schicksal des Systems Bakterium-Virus hängt offenbar davon ab, ob zuerst der Repressor oder das Schlüsselenzym für die autonome Replikation synthetisiert wird.

Der Repressor wird von einem Regulator-Gen gebildet und wirkt auf einen Operator ein. Diese beiden Gene sind Mutationen unterworfen. Ein mutiertes Regulator-Gen wird einen Repressor liefern, der den Operator nicht mehr blockieren kann. Und ein Operator wird nach einer Mutation auf seinen Repressor nicht mehr ansprechen. So wird letzten Endes das Schicksal eines von einem Bakteriophagen infizierten Bakteriums abhängen von der genetischen Konstitution des Bakteriophagen, der genetischen Konstitution des Bakteriums und dem Stoffwechsel des Bakteriums, der wiederum durch das Milieu bedingt ist. Übrigens kann das genetische Material des Bakteriophagen dem Bakterium nicht nur die Fähigkeit verleihen, ohne Infektion Bakteriophagen zu produzieren, sondern auch ein Toxin, z. B. Diphtherietoxin, oder ein neues Antigen, das die Struktur der Bakterienwand modifiziert, zu synthetisieren.

Die Infektion wandelt das lysogene Bakterium in einen neuen Organismus um, in ein System Zelle-Virus, dessen Schicksal vom Bakterienstoffwechsel und damit vom Milieu abhängt.

Diese vielleicht seltsame Formulierung gibt nur einen Sonderfall eines allgemeinen Gesetzes wieder. Verallgemeinerung aber ist eine der fruchtbarsten heuristischen Methoden; deshalb möchte ich versuchen, die Beziehungen zwischen Bakteriophagen und Bakterien so allgemein wie möglich in Worte zu fassen: Der Lebenszyklus des Virus wird von allosterischen Proteinen gesteuert, deren Struktur und Aktivität vom Stoffwechsel der Wirtszelle bestimmt werden.

Diese weitgespannte Behauptung besitzt sowohl die Strenge eines Gesetzes als auch die Schwäche einer Hypothese.

Nach diesen theoretischen Überlegungen möchte ich zu einem Beispiel aus der medizinischen Praxis übergehen. Eine Herpesinfektion ist oft latent; der infizierte Patient zeigt kein Symptom der Krankheit. Die Krankheit wird aber durch die verschiedensten Faktoren ausgelöst. Die folgende Liste gibt ein eindrucksvolles Bild der Vielfalt der Effektoren:

Lokales übermäßig hohes Fieber (Hyperpyrexie)
Künstliches Fieber
Fieberhafte Krankheiten (häufig: Malaria, Lungenentzündung; weniger häufig: Bruzellose; sehr selten Typhus)
Lokale Bestrahlung mit ultravioletten Strahlen
Hormonbehandlungen
Menstruation
Einseitige Ernährung
Leukämie
Verabreichung von Fremdproteinen
Anaphylaktischer Schock
Beschädigung des Gasser-Ganglions
Unterbrechung des N. Trigeminus
Aufregung

Während der latenten Infektion fehlen nicht nur die Symptome, man kann das Virus auch nicht nachweisen. Wir wissen nicht, in welcher Form es vorliegt. Wir können sagen, daß das Virus maskiert ist, aber damit maskieren wir nur unser Unwissen. Wenn die Schädigung sich entwickelt, erscheint das Virus in Massen. Es ist die Virusvermehrung, die für die Krankheit überhaupt verantwortlich ist. Während der latenten Infektion ist der Viruszyklus blockiert. Die Faktoren, welche die Krankheit auslösen, induzieren die Entwicklung des Virus, und die Krankheit ist eine Folge davon. Wahrscheinlich rufen alle Agentien, trotz ihrer Vielfalt, auf verschiedene Art die gleiche Modifikation des Zellchemismus hervor, nämlich jene, die für die Auslösung der Virenvermehrung verantwortlich ist.

Und damit sind wir wieder bei einer neuen Hypothese, nach der die Entwicklung auch eines tierischen Virus in positiver oder negativer Weise von Milieufaktoren gesteuert wird, soweit diese den zellulären Stoffwechsel beeinflussen.

Einige experimentelle Tatsachen: Guanidin hemmt die Entwicklung gewisser Viren, im besonderen die des Poliovirus. In Konzentrationen, die das Virus hemmen, hat Guanidin keinen Einfluß auf den Stoffwechsel und das Wachstum der Zellen. Guanidin ist daher ein spezifischer Hemmstoff des Poliovirus. Wirkt dieser Hemmstoff, wie man glaubt, auf die Nucleinsäuren ein? Mu-

tationen können die Hemmwirkung des Guanidins aufheben. Ein Struktur-Gen ist eine Sequenz aus vielen Hunderten von Nucleotiden, und eine Punktmutation bedeutet den Ersatz eines Nucleotids durch ein anderes. Es ist schwer zu verstehen, wie ein Nucleotid, von dem ähnliche zahlreich in einer langen Nucleinsäurekette vorkommen, seine Eigenschaften so verändert kann, daß ein Temperaturunterschied von einem zehntel Grad, oder eine Guanidin-Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ M die Struktur und die Funktion des gesamten Moleküls erheblich beeinflußt.

Nehmen wir also an, daß das Guanidin nicht direkt auf die Nucleinsäure einwirkt. Vor einigen Jahren schlugen wir die Hypothese vor, daß das Guanidin wie auch eine Temperaturänderung die Tertiär- oder die Quartärstruktur eines Proteins verändert. Heute würden wir sagen, daß es eine allosterische Modifikation auslöst.

Um welches Protein handelt es sich? In Gegenwart von Guanidin wird keine Virus-RNS synthetisiert, und man schloß logischerweise, daß das Guanidin in irgendeiner Form die RNS-Replicase des Virus beeinflußt. Wir fanden dann, daß Methionin und Cholin die hemmende Wirkung des Guanidins aufheben. Zahlreiche Experimente haben gezeigt, daß Guanidin die Aktivität einer Transmethylase hemmt, die vom Virus determiniert wird. Die einfachste Hypothese wäre, daß dieses Enzym die Virus-RNS methyliert.

Die DNS des Polyoma-Virus und auch des Bakteriophagen *lambda* enthält 5-Methylcytosin, welches im Bakterium nicht vorkommt. Das Methionin beteiligt sich bei den Methylierungen, die das Wirtsbakterium durchführen muß. Die physiologische Bedeutung dieser Methylierung kennen wir allerdings nicht. Das Studium des Poliovirus läßt vermuten, daß die Methylierung in manchen Fällen den Viruszyklus auslösen kann. Diese Methylierung wird vielleicht von einem Enzym katalysiert, das unter viraler Kontrolle steht, und das gegenüber Guanidin oder guanylhaltigen zellulären Stoffwechselprodukten empfindlich ist. So hätte also die Evolution der Virusproteine wie auch die Evolution der Proteine im allgemeinen zur Entwicklung von Strukturen geführt, an die sich spezifische Effektoren – Hemmstoffe und Anti-Hemmstoffe – anlagern können, die Stoffwechselprodukte der Zelle sind.

Eine Zelle wird unter dem Einfluß eines Virus zu einer Krebszelle. Ein solches Virus führt sein genetisches Material in eine normale Zelle ein und damit neue Funktionen, die die Malignität verursachen. Man darf annehmen, daß ein Virusprotein die phänotypische Verantwortung für die maligne Veränderung trägt.

Wenn die Funktionen der tumorerzeugenden Viren wie die Funktionen der anderen Viren unter dem Einfluß spezifischer Effektoren stehen, können wir hoffen, eines Tages eine maligne Zelle phänotypisch zu normalisieren. Ich möchte zur Methodologie bemerken: Man bemüht sich, Substanzen zu finden, die spezifisch die maligne Zelle in einer Kultur töten oder an der Vermehrung hindern, ohne die normalen Zellen zu beeinflussen. Solche Versuche werden im allgemeinen mit Kulturen durchgeführt, die Antieffektoren enthalten, wie wir es

bei den tumorerzeugenden Viren im Falle des Paars Methionin-Guanidin sahen. Eine Änderung der Methode wäre vielleicht manchmal von Nutzen.

Es gibt noch eine andere Möglichkeit: Anstatt die Unterdrückung von viralen Funktionen anzustreben, könnte man auch versuchen, sie derart zu verstärken, daß das blockierte Virus sich entwickelt und die Wirtszelle tötet.

Die Untersuchung der Virusentwicklung und der spezifischen Effektoren viraler Funktionen kann im Augenblick nur nach empirischen Methoden durchgeführt werden, aber sie sollte ausgedehnt werden. Unser Unwissen über die Faktoren, welche die Beziehungen zwischen Virus, Krebserzeugung und Zellen beherrschen, sollte nicht zum Pessimismus verleiten, sondern im Gegenteil stimulierend wirken. Wir müssen die krebs-

[*] Referenzen über die Bakteriophagen finden sich in dem ausgezeichneten Buch von G. S. Stent: *Molecular Biology of Bacterial Viruses*. W. H. Freeman and Company, San Francisco 1963, sowie in der nicht weniger guten Abhandlung von W. Hayes:

erzeugenden Viren bekämpfen und werden sie eines Tages besiegen [**].

Die experimentellen Tatsachen und die Begriffe, die hier diskutiert wurden, überdecken ein weites Feld. Zahlreiche Forscher haben wichtige Ergebnisse beigesteuert. In einem Vortrag von 30 Minuten jedem gerecht zu werden, ist unmöglich. Ich habe einige Namen zitiert, und meine Wahl war natürlich subjektiv. Ich hätte gerne außer vielen anderen noch folgende Namen genannt: T. F. Anderson, L. Astrachan, E. Volkin, L. Barksdale, G. Bertani, A. Campbell, S. S. Cohen, V. J. Freeman, N. B. Groman, L. M. Kozloff, S. Lederberg, S. E. Luria, F. W. Putnam, G. Stent, Elie Wollman und N. D. Zinder.

Übersetzt von Dr. G. Scheuerbrandt, München
Eingegangen am 22. März 1966 [A 527]

The Genetics of Bacteria and their Viruses. Studies in Basic Genetics and Molecular Biology. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1964. Die Angaben über die Effektoren der Entwicklung der tierischen Viren wurden von André Lwoff diskutiert (Biochem. J. 96, 289 (1965)).

Von der enzymatischen Adaptation zur allosterischen Umlagerung

Nobelvortrag am 11. Dezember 1965 [*]

VON PROF. DR. J. MONOD

SERVICE DE BIOCHIMIE DE L'INSTITUT PASTEUR, PARIS (FRANKREICH)

Eines Tages, vor fast genau 25 Jahren – es war zu Beginn des düsteren Winters 1940 –, betrat ich das Zimmer von André Lwoff im Institut Pasteur. Ich wollte mit ihm einige ziemlich überraschende Beobachtungen diskutieren, die ich kurz zuvor gemacht hatte. Ich arbeitete damals in einem altägyptischen Laboratorium der alten Sorbonne, das auf einen Gang führte, der voller ausgestopfter Affen stand. Nach dem Zusammenbruch und der Entlassung im August 1940 in die unbesetzte Zone war es mir gelungen, meine Familie, die im Norden geblieben war, wiederzufinden. Danach begab ich mich verbissen an die Arbeit, die nur von Zeit zu Zeit durch die Weitergabe der ersten geheimen Flugblätter unterbrochen wurde. Ich wollte so schnell wie möglich meine Doktorarbeit fertigstellen, die ich unter dem Einfluß des Biometrikers Georges Teissier der Wachstumskinetik von Bakterienpopulationen widmete. Nach der Bestimmung der Wachstumskonstanten in Gegenwart jeweils eines anderen Zuckers wollte ich die gleichen Konstanten in Mischungen aus jeweils zwei Zuckern messen. Vom ersten Experiment an sah ich, daß in gewissen Mischungen das Wachstum kinetisch normal ist – es tritt nur eine einzige exponentielle Phase auf –, daß in anderen Zuckermischungen jedoch zwei vollständige Wachstumszyklen beobachtet werden können, die durch

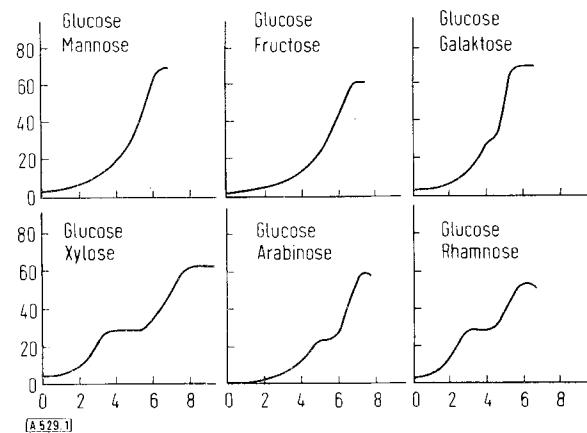


Abb. 1. Wachstumskurven von *Escherichia coli* in Gegenwart von Mischungen zweier Zucker als einziger Kohlenstoffquelle in einem synthetischen Medium [64].

einen Wachstumsstillstand getrennt sind (Abb. 1). Nach einem Augenblick der Überlegung sagte Lwoff beim Anblick dieses seltsamen Ergebnisses: „Das muß etwas mit enzymatischer Adaptation zu tun haben.“ „Enzymatische Adaptation? Kenne ich nicht!“ antwortete ich ihm. Daraufhin lieh mir Lwoff das Werk von Marjorie Stephenson, in dessen einem Kapitel die wenigen Arbeiten über dieses Phänomen kritisch zusammengefaßt waren, das Duclaux immerhin schon am Ende des vorigen Jahrhunderts entdeckt hatte. Dienert und Went

[*] © 1966 The Nobel Foundation. – Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieser Übersetzung.