

bei den tumorerzeugenden Viren im Falle des Paares 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 andern 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 altertümlichen 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 verblissen 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 Wachstums- kinetik 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

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

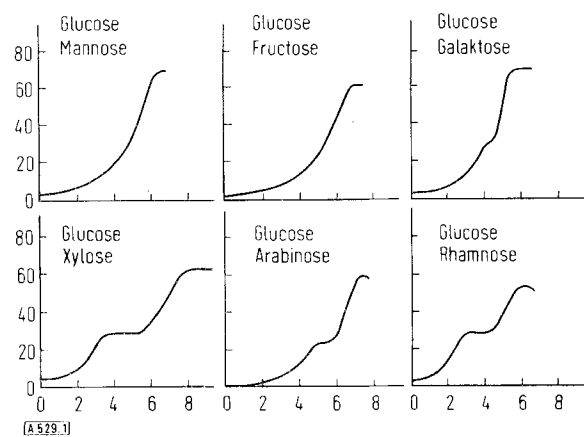


Abb. 1. Wachstumskurven von *Escherichia coli* in Gegenwart von Mischungen zweier Zucker als einziger Kohlenstoffquelle in einem synthetischen Medium [64].

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 ließ 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

sowie *Euler* und *Josephson* beschäftigten sich nach 1901 mit der enzymatischen Adaptation, bis dann *Karström* sie wiederentdeckte, ihr den Namen gab und die Aufmerksamkeit der wissenschaftlichen Welt weckte. *Margorie Stephenson* selbst und ihre Schüler *Yudkin* und *Gale* widmeten dieser Erscheinung vor 1940 mehrere Publikationen (Hinweise auf die vor 1940 erschienenen Arbeiten finden sich unter ^[1]).

Lwoffs Intuition war richtig. Das Phänomen der Di-auxie, das ich entdeckt hatte, war eng mit der enzymatischen Adaptation verknüpft, wie ich schnell durch geeignete Experimente feststellen konnte, die dann im zweiten Teil meiner Doktorarbeit erwähnt wurden. Es handelte sich hier um die Auswirkung des Glucose-Effektes, den *Dienert* schon 1900 entdeckt hatte und den man heute aufgrund der Arbeiten von *Magasanik* ^[2] besser unter dem Namen „katabolische Repression“ kennt.

Für mich waren die Würfel gefallen! Seit jenem Tag im Dezember 1940 widmete ich dieser Erscheinung meine ganze wissenschaftliche Aktivität. Während der Besetzung arbeitete ich zeitweise heimlich im Laboratorium von *Lwoff*, der mich großzügig bei sich aufnahm, und es gelang mir, einige bedeutsame Experimente durchzuführen. Ich konnte zum Beispiel bestätigen, daß Verbindungen, welche die oxidative Phosphorylierung entkoppeln, wie 2,4-Dinitrophenol, die Adaptation an Lactose oder andere Zucker vollkommen hemmen ^[3]. Das wies darauf hin, daß die Adaptation mit einem chemischen Potential zusammenhing und zweifellos die wirkliche Synthese eines Enzyms einschloß. Zusammen mit *Alice Audureau* versuchte ich, die zunächst noch unklaren Beziehungen zwischen diesem Phänomen und dem Auftreten und der Selektion spontaner Mutanten herauszufinden, einer Erscheinung, die *Mas-sini*, *Lewis* und andere entdeckt hatten (vgl. ^[1]). Unter Verwendung eines mutabilen *Escherichia coli*-Stammes (dem wir die Bezeichnung ML gaben, weil er aus dem Verdauungstrakt von *André Lwoff* isoliert worden war) zeigten wir, daß diese „lactose-negativen“ Bakterien durch eine anscheinend spontane Mutation „lactose-positiv“ wurden. Wir stellten dann fest, daß der Originalstamm (Lac⁻) sich vom mutierten Stamm (Lac⁺) nicht in der spezifischen Enzymausrüstung, sondern nur in der Fähigkeit unterscheidet, diese enzymatische Ausrüstung in Gegenwart von Lactose zu produzieren. Mit anderen Worten: die Mutation betraf eine genetische Eigenschaft, die sich nur in Gegenwart von Lactose manifestiert ^[4].

Diese Erklärung schien auf der Hand zu liegen, denn die Genetiker wissen seit langem, daß manche Genotypen sich nicht unter allen Umständen auswirken. Aber hier handelte es sich um einen Genotyp, der nur ein Enzym betraf, und die Bedingungen für seine Auswirkung schienen direkt vom Chemismus des Systems abzu-

hängen. Diese Beziehung faszinierte mich. Mein Freund *Louis Rapkine*, den ich oft und lange in seinem Laboratorium besuchte, weckte mein Interesse an den elementaren biochemischen Mechanismen, der Enzymologie, obgleich ich nicht viel davon wußte. Und *Boris Ephrussi*, den ich ebenfalls bewunderte, verschaffte mir einen Zugang zur Genetik. Dank ihm und der Rockefeller-Stiftung konnte ich einige Jahre vorher ein Jahr im Laboratorium von *Morgan* am California Institute of Technology arbeiten. Für mich bedeutete diese Zeit die Offenbarung der Genetik, die damals in Frankreich fast unbekannt war. Ich sah, was Wissenschaftler voller schöpferischer Tatkraft vermögen, wenn sie ihre Ideen, ihre kühnen Spekulationen miteinander diskutieren und mit scharfer Kritik nicht zurückhalten. *George Beadle*, *Sterling Emerson*, *Bridges*, *Sturtevant*, *Jack Schultz*, *Ephrussi*, sie alle arbeiteten damals in *Morgans* Abteilung. Nach meiner Rückkehr beschäftigte ich mich wieder mit dem Bakterienwachstum, blieb aber erfüllt von den Begriffen der Genetik und war überzeugt, daß sie sich eines Tages auch auf die Bakterien anwenden lassen würden.

Gegen Ende des Krieges – ich war noch bei der Armee – „entdeckte“ ich in einer ambulanten amerikanischen Bibliothek einige Einzelhefte der Zeitschrift „Genetics“ mit der wunderbaren Arbeit von *Luria* und *Delbrück* ^[5], in der zum erstenmal der spontane Charakter gewisser Bakterienmutationen zwingend bewiesen wurde. Ich glaube, ich habe noch nie einen wissenschaftlichen Artikel mit solch einer Begeisterung gelesen wie diesen: Für mich war damit die Bakteriengenetik begründet worden. Einige Monate später „entdeckte“ ich auch die Arbeit von *Avery*, *McLeod* und *McCarthy* ^[6], eine weitere, grundlegende Offenbarung. Von nun an verschlang ich die ersten Veröffentlichungen der Phagenschule, und, als ich 1945 im Institut Pasteur in die Dienste von *André Lwoff* trat, war ich versucht, die enzymatische Adaptation zu verlassen, um über den Bakteriophagen zu arbeiten. 1946 nahm ich am unvergeßlichen Cold-Spring-Harbor-Symposium teil, bei dem *Delbrück* und *Bailey* sowie *Hershey* über ihre Entdeckung der Rekombination bei Viren vortrugen, während *Lederberg* und *Tatum* die Entdeckung der Sexualität bei den Bakterien verkündeten ^[7]. 1947 wurde ich zum „Growth Symposium“ eingeladen, um einen Übersichtsbericht über die enzymatische Adaptation zu geben, der dann die Aufmerksamkeit sowohl der Embryologen als auch der Genetiker weckte. Die Abfassung dieses Berichtes ^[1] sollte für mich entscheidend werden. Bei der Durchsicht der gesamten Literatur, einschließlich meiner eigenen Veröffentlichungen, erkannte ich, daß über dieses Phänomen fast nichts bekannt war. Seine Regelmäßigkeit und seine Spezifität, seine Beziehung zwischen einem genetischen und einem chemischen Determinismus auf molekularer Ebene schienen aber so interessant und bedeutsam, daß es für mich gar nichts anderes gab als auf dem eingeschlagenen Weg fortzu-

[1] *J. Monod*, Growth Symposium 11, 223 (1947).

[2] *B. Magasanik* in: Mécanismes de régulation des activités cellulaires chez les micro-organismes. Colloque internat. C.N.R.S., Marseille 1963, S. 179.

[3] *J. Monod*, Ann. Inst. Pasteur 70, 381 (1944).

[4] *J. Monod* u. *A. Audureau*, Ann. Inst. Pasteur 72, 868 (1946).

[5] *S. E. Luria* u. *M. Delbrück*, Genetics 28, 491 (1943).

[6] *O. T. Avery*, *C. M. McLeod* u. *M. McCarthy*, J. exp. Medicine 79, 409 (1944).

[7] *J. Lederberg* u. *E. L. Tatum*, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 11, 113 (1946).

fahren. Aber ich sah auch, daß ich tabula rasa machen, noch einmal ganz von vorn anfangen mußte.

Das Hauptproblem war die Rolle des Induktor-Substrates und der spezifischen Gene für die Bildung und die Struktur des Enzyms. Um zu verstehen, was dieses Problem 1946 bedeutete, sollte man sich erinnern, daß damals die Struktur der DNS (Desoxyribonucleinsäure) unbekannt war, daß man wenig über die Struktur der Proteine wußte und nichts über ihre Biosynthese. Zuerst mußte die Frage beantwortet werden: Wird beim Induktionseffekt die Totalsynthese des neuen Proteins aus seinen Bausteinen ausgelöst, oder handelt es sich um eine Aktivierung, eine Umformung einer oder mehrerer Zwischenstufen?

Dieses Programm verlangte zunächst eine sorgfältige Auswahl und Definition der zu untersuchenden Systeme. Zusammen mit *Madeleine Jolit* und *Anne-Marie Torriani* isolierten wir die β -Galaktosidase und die Amylomaltase von *Escherichia coli* [8–10]. Unsere Gruppe wurde bald durch einen wertvollen neuen Mitarbeiter ergänzt: *Melvin Cohn*, der als ausgezeichnete Immunologe viel mehr als ich von der Chemie der Proteine verstand, außerdem konnte er mit einem wunderbaren Apparat umgehen, der mich einschüchterte, dem Tiselius-Elektrophorese-Gerät [11]. Mit *A.-M. Torriani* charakterisierte er die β -Galaktosidase als Antigen [12]. Nachdem wir jetzt das System kannten, konnten wir die Kinetik seiner Bildung genauer untersuchen. Die Ergebnisse, die wir zusammen mit *Alvin Pappenheimer* und *Germaine Cohen-Bazire* erhielten [13], ließen den Schluß zu, daß der Induktionseffekt des Substrates eine Total-

synthese des Proteins aus den Aminosäuren auslöst (Abb. 2). Diese Deutung überraschte damals; ich allerdings war sofort von ihr überzeugt. In der Wissenschaft liegt jedoch ein ziemlich langer Weg zwischen Überzeugung und Gewißheit. Hätte man aber ohne innere Überzeugung jemals die Geduld, auf die Bestätigung zu warten?

Die Gewißheit erhielten wir wenig später auf Grund der Isotopenmarkierungsexperimente, die *Hogness, Cohn* und ich durchführen [14, 15]. Die Ergebnisse dieser Experimente brachten im Hinblick auf die damaligen Vorstellungen über die Biosynthese der Proteine und ihren Zustand in der Zelle noch mehr Überraschungen. Die Arbeiten von *Schoenheimer* [16] hatten die meisten Biochemiker überzeugt, daß im Organismus die Proteine in einem „dynamischen Zustand“ vorliegen, daß sich jedes Molekül durch Austausch der Aminosäurereste in einem dauernden Ab- und Aufbauzustand befindet. Nun zeigte das Experiment, daß das Molekül der β -Galaktosidase in vivo vollkommen stabil ist, genau wie unter normalen Wachstumsbedingungen die anderen Proteine des Bakteriums auch. Unsere Experimente widersprachen wohlverstanden nicht den Ergebnissen von *Schoenheimer*, sondern nur deren Interpretation, dem Dogma des „dynamischen Zustandes“.

Diese Schlußfolgerungen waren für uns ausschlaggebend. Wir wußten nun, daß die enzymatische Adaptation in Wirklichkeit die Totalsynthese eines stabilen Moleküls bedeutet, und deshalb ist die Steigerung der enzymatischen Aktivität während der Induktion eine zuverlässige Meßgröße für die Synthese des spezifischen Proteins.

Die Steuerung dieser Synthese, die jetzt experimentell zugänglich wurde, begann uns immer mehr zu beschäftigen. Mit *Germaine Cohen-Bazire* und *Melvin Cohn* [17, 18] konnten wir nun die alte Frage nach den Zusammenhängen der Wirkungsspezifität eines induzierbaren Enzyms und der Spezifität seiner Induktion systematisch aufgreifen. Die eindrucksvollen Beobachtungen von *Pollock* über die Induktion der Penicillinase durch Penicillin zwangen übrigens ebenfalls zu einer neuen Untersuchung dieses Problems [19]. Die Experimente mit einer großen Zahl von Galaktosiden und deren Derivaten, der Vergleich ihrer Eigenschaften als Induktoren, Substrate oder Substrat-Antagonisten des Enzyms führten uns wieder zu einem unerwarteten Ergebnis: Die Eigenschaft der Induktion ist keineswegs ein Privileg der Substrate des Enzyms oder der Verbindungen, die mit ihm die stabilsten Komplexe bilden können. Gewisse Thiogalaktoside zum Beispiel, die weder vom Enzym hydrolysiert noch im Stoffwechsel verwendet werden, erwiesen sich als sehr starke Induk-

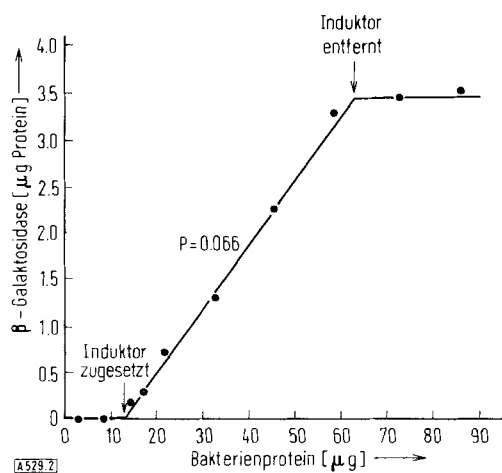


Abb. 2. Induzierte Biosynthese der β -Galaktosidase bei *Escherichia coli*. Die Zunahme der enzymatischen Aktivität ist nicht als Funktion der Zeit, sondern der gleichzeitigen Zunahme der Menge des Bakterienproteins angegeben. Der Anstieg (P) der Geraden definiert die Zunahme der Synthesegeschwindigkeit [13].

[8] J. Monod, A.-M. Torriani u. J. Gribetz, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 227, 315 (1948).

[9] J. Monod, 1. internat. Congress Biochem., Cambridge 1949, S. 303.

[10] J. Monod in: Unités biologiques douées de continuité génétique. C.N.R.S., Paris 1949, S. 181.

[11] J. Monod u. M. Cohn, Biochim. biophysica Acta 7, 153 (1951).

[12] M. Cohn u. A.-M. Torriani, J. Immunology 69, 471 (1952).

[13] J. Monod, A. M. Pappenheimer u. G. Cohen-Bazire, Biochim. biophysica Acta 9, 648 (1952).

[14] D. S. Hogness, M. Cohn u. J. Monod, Biochim. biophysica Acta 16, 99 (1955).

[15] J. Monod u. M. Cohn, 6. internat. Congress Microbiology Sympos. on Microbial Metabolism, Rom Verlag 1953, S. 42.

[16] R. Schoenheimer: The Dynamic State of Body Constituents. Harvard Univ. Press, Cambridge 1942.

[17] J. Monod, G. Cohen-Bazire u. M. Cohn, Biochim. biophysica Acta 7, 585 (1951).

[18] J. Monod u. M. Cohn, Advances in Enzymol. 13, 67 (1952).

[19] M. R. Pollock, Brit. J. exp. Pathol. 31, 739 (1950).

toren. Im Gegensatz dazu sind manche Substrate keine Induktoren. Wir mußten daraus folgern, daß der Induktor nicht, wie man immer geglaubt hatte, wie ein Substrat oder durch Verbindung mit einigen vorgeformten aktiven Enzymmolekülen reagiert, sondern auf der Ebene eines anderen spezifischen Zellbestandteiles, der eines Tages identifiziert werden muß (Abb. 3).

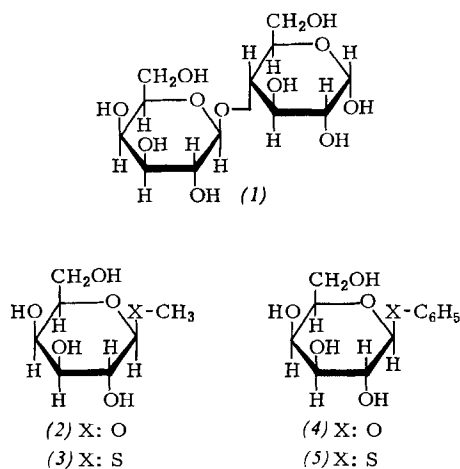


Abb. 3. Vergleich mehrerer β -Galaktoside als Substrate und Induktoren der β -Galaktosidase.

- (1) Lactose: Substrat des Enzyms, keine induzierende Aktivität.
 (2) Methyl- β -D-galaktosid: Substrat geringer Affinität, wirksamer Induktor.
 (3) Methyl- β -D-thiogalaktosid: Vom Enzym nicht hydrolysierbar, sehr guter Induktor.
 (4) Phenyl- β -D-galaktosid: Ausgezeichnetes Substrat des Enzyms, hohe Affinität, keine Aktivität als Induktor.
 (5) Phenyl- β -D-thiogalaktosid: Keine Aktivität als Substrat oder Induktor, doch wirksam als Antagonist der Induktoren.

Bei dieser Arbeit beobachteten wir, daß Phenyl- β -D-thiogalaktosid, das keine Induktoreigenschaften besitzt, die Wirkung eines guten Induktors wie des Methyl- β -D-thiogalaktosids aufheben kann. Dieses bedeutsame Ergebnis brachte uns auf die Idee, diese „Antiinduktion“ für die Bestätigung einer Theorie zu verwenden, die wir ziemlich ehrgeizig die „allgemeine Induktion“ nannten. Seit dem Beginn meiner wissenschaftlichen Arbeiten beschäftigte mich die Existenz von „konstitutiven“ Systemen, die es neben den induzierbaren Enzymen gibt, und die definitionsgemäß in Abwesenheit eines Substrates oder exogenen Induktors synthetisiert werden. Alle Enzyme des Stoffwechsels und der Biosynthesen gehören zu dieser Gruppe. Man konnte annehmen, daß die Synthese dieser Enzyme von ihrem endogenen Substrat gesteuert wird, was bedeutet hätte, daß der Mechanismus der Induktion tatsächlich universell wäre. In diesen Anschauungen wurden wir durch die Untersuchungen von Roger Stanier über die anscheinend sequentielle Induktion der Systeme bestärkt, die bei *Pseudomonas* Phenolverbindungen abbauen.

Ich versuchte daher zusammen mit Germaine Cohen-Bazire, die Biosynthese der Tryptophan-Synthetase als Vertreter eines typischen „konstitutiven“ Enzyms (nach den Begriffen der damaligen Jahre) durch ein Analoges des vermeintlichen Substrates zu hemmen. Als Sub-

stratanaloges wählten wir das Reaktionsprodukt, und bald konnten wir feststellen, daß Tryptophan und 5-Methyltryptophan sehr wirksame Hemmstoffe der Biosynthese des Enzyms sind. Das war das erste Beispiel eines reprimierbaren Systems, eine Entdeckung, die zur Bestätigung einer falschen Hypothese gedacht war [20, 21].

Ich hatte allerdings Vorbehalte gegenüber der „allgemeinen Induktion“, einer Theorie, die bald auf die verschiedensten Hindernisse stieß. Ich wurde in meiner Haltung durch eine interessante Beobachtung von Vogel und Davis [22] an einem anderen biosynthetischen Enzym, der Acetylornithinase, bestärkt, einem Enzym, das für die Biosynthese des Arginins gebraucht wird. Mit arginin- oder N-acetylornithin-abhängigen Mutanten hatten diese Autoren festgestellt, daß die Bakterien in Gegenwart von Arginin keine Acetylornithinase synthetisieren, dies aber in Gegenwart von N-Acetylornithin tun. Daraus folgerten sie, daß das Enzym durch sein Substrat, das N-Acetylornithin, induziert wird.

Als Henri Vogel dann in Paris war, sagte ich ihm, daß sich seine Ergebnisse auch als Hemmeffekt des Arginins erklären ließen und nicht nur als Induktionseffekt des Acetylornithins. Um diese Frage zu entscheiden, mußte die Biosynthese des Enzyms in einer Mischung der beiden Metaboliten untersucht werden. Das Experiment bewies, daß es sich eindeutig um eine Hemmung und nicht um eine Induktion handelt. Vogel gab diesem Effekt den Namen „Repression“. Jetzt konnte man sowohl von „reprimierbaren“ als auch von „induzierbaren“ Systemen sprechen. In den folgenden Jahren wurden besonders dank der Arbeiten von Maas, Gorini, Pardee, Magasanik, Cohen, Ames und vieler anderer (vgl. [23]) viele reprimierbare Systeme bekannt. Wir wissen heute, daß praktisch alle biosynthetischen Systeme in den Bakterien solchen Repressionsmechanismen gehorchen.

Ich jedoch blieb der β -Galaktosidase von *Escherichia coli* treu, denn ich wußte nur zu gut, daß wir noch längst nicht alle Möglichkeiten dieses Systems ausgeschöpft hatten. Während der Arbeit über die Biochemie der Induktion konnte ich nur zeitweise das Problem ihrer genetischen Steuerung angreifen. Allerdings erkannte ich schon daraus, daß diese Steuerung extrem spezifisch ist. Man konnte daher das Postulat von Beadle und Tatum „Ein Gen – ein Enzym“ auch auf die induzierbaren und abbauenden Enzyme anwenden, ebenso wie auf die biosynthetischen Enzyme, die hauptsächlich von der Stanford-Schule studiert worden waren. Diese Schlußfolgerungen veranlaßten mich, die alte Arbeitshypothese aufzugeben, nach der verschiedene induzierbare Enzyme durch Umwandlung einer einzigen Vorstufe entstehen, deren Synthese von einem einzigen Gen gesteuert wird. Dieser Hypothese widersprachen übrigens auch schon die Ergebnisse unserer Markierungsexperimente.

[20] J. Monod u. G. Cohen-Bazire, C. R. heb. Séances Acad. Sci. 236, 530 (1953).

[21] M. Cohn u. J. Monod in: Adaptation in Microorganisms. Cambridge Univ. Press, London 1953, S. 132.

[22] H. J. Vogel u. B. D. Davis, Federat. Proc. 11, 485 (1952).

[23] G. N. Cohen, Annu. Rev. Microbiol. 19, 105 (1965).

Aber die genetische Analyse stieß noch auf ernste Schwierigkeiten. Zunächst war die Rekombinationsfrequenz mit den damaligen Konjugationssystemen für eine genetische Feinstrukturanalyse viel zu niedrig. Außerdem gab es geheimnisvolle Phänotypen, gewisse „kryptische“ Mutanten, die keine Galaktoside abbauen können, jedoch fähig sind, β -Galaktosidase zu synthetisieren. Ein Zufall sollte uns die Lösung dieses Problems liefern, als wir etwas ganz anderes suchten. Als mir 1954 die Direktion der neuen Abteilung für zelluläre Biochemie übertragen wurde, kam *Georges Cohen* zu uns, und ich schlug ihm sowie *Howard Rickenberg* vor, mit ^{14}C -markierten Thiogalaktosiden das Schicksal dieser „Gratis“-Induktoren in induzierbaren Bakterien zu untersuchen. Vom ersten Experiment an konnten wir feststellen, daß die Radioaktivität des Galaktosids sich schnell in den induzierten Wildtypbakterien ansammelte, nicht aber in den kryptischen Mutanten. Die Radioaktivität drang aber auch nicht in die Wildtypbakterien ein, die vorher nicht induziert worden waren. Die Fähigkeit zur Aufnahme des Galaktosids hängt also von einem induzierbaren Faktor ab. Die Kinetik, die Wirkungs- und Induktionsspezifität dieses Systems sowie die Eigenschaften der verschiedenen Mutanten überzeugten uns, daß der verantwortliche Faktor für die Galaktosid-Aufnahme nur ein spezifisches Protein sein kann, dessen Synthese von einem Gen (*y*) gesteuert wird, das sich vom Gen für die Galaktosidase (*z*) unterscheidet. Dieses Protein, das gleichzeitig mit der Galaktosidase von Galaktosiden indu-

ziert wird, nannten wir „Galaktosid-Permease“ [24–26] (Abb. 4).

Die Existenz eines spezifischen Proteins, das für das Eindringen und die Ansammlung der Galaktoside verantwortlich ist, wurde manchmal angezweifelt, weil sich seine Definition nur auf Beobachtungen *in vivo* stützt. Es gab Fachkollegen, die zwar an die Existenz dieses Proteins glaubten, mir aber trotzdem vorwarfen, daß ich ihm einen Namen gab, bevor es isoliert war. Diese Haltung läßt mich immer an die Geschichte von den beiden Engländern denken, die sich wohl namentlich kannten, sich aber trotzdem nicht anreden wollten, da sie einander nicht formell vorgestellt worden waren. Ich selbst habe keinen Augenblick an der Existenz dieses Proteins gezweifelt; unsere Ergebnisse ließen sich gar nicht anders interpretieren. Trotzdem war ich glücklich, als es kürzlich *Kennedy* gelang, das spezifische induzierbare Protein der Galaktosid-Permease *in vitro* zu identifizieren und zu isolieren [27]. *Kennedy* war erfolgreicher als wir, denn auch wir hatten mehrere Male versucht, die Galaktosid-Permease *in vitro* zu isolieren. An ihrer Stelle fanden aber *Irving Zabin*, *Adam Kepes* und ich ein anderes Protein, die Galaktosid-Transacetylase, die wir auch isolieren konnten [28, 29]. Mehrere Wochen lang glaubten wir, daß dieses Enzym die Permease sei, doch leider erfüllte sich unsere Hoffnung nicht, und selbst heute noch ist uns die physiologische Bedeutung dieses Enzyms rätselhaft. Es wird aber von einem Gen des Lactoseoperons determiniert und ist daher für die Experimentatoren, wenn schon nicht für das Bakterium selbst, sehr nützlich.

Das Studium der Galaktosid-Permease sollte aber noch mehr ans Licht bringen. Wir hatten einige Jahre vorher nach *Lederbergs* Vorschrift „konstitutive“ β -Galaktosidase-Mutanten isoliert, d.h. Stämme, bei denen das Enzym in Abwesenheit von Galaktosiden synthetisiert wird. Wir stellten jetzt fest, daß die konstitutive Mutation einen pleiotropen Effekt hat, denn bei diesen Mutanten sind sowohl die Galaktosid-Permease als auch die Galaktosidase (und die Transacetylase) gleichzeitig konstitutiv geworden, obgleich wir aus anderen Ergebnissen wußten, daß jedes der drei Enzyme von seinem eigenen Gen determiniert wird. Demnach muß sich die konstitutive Mutation in einem Gen (*i*) auswirken, das den drei anderen Genen (*y*, *z*, *Ac*) für Galaktosid-Permease, Galaktosidase und Transacetylase benachbart, aber von ihnen verschieden ist, und dessen Beziehung zu den drei anderen Proteinen das Postulat von *Beadle* und *Tatum* durchbricht.

Wir wollen jetzt diese Untersuchungen und die Richtung, die wir ihnen geben wollten, aus der neuen Perspektive betrachten, die sich 1955 für die Biologie ergab.

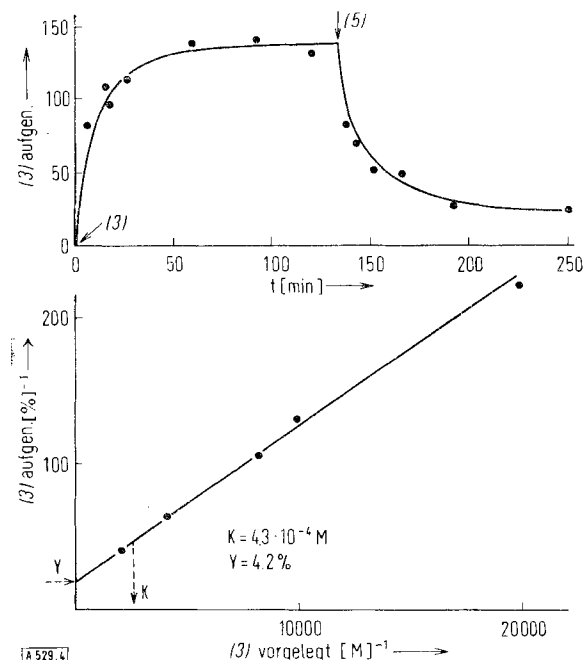


Abb. 4. Nachweis der Galaktosid-Permease.

Oben: Aufnahme von radioaktivem Methyl- β -D-thiogalaktosid (3) durch eine Suspension von zuvor induzierten Bakterien. Verdrängung des aufgenommenen Galaktosids durch ein anderes Galaktosid [Phenyl- β -D-thiogalaktosid, (5)].

Unten: Aufnahme des Galaktosids (3) (in % des Trockengewichts) in zuvor induzierte Bakterien als Funktion der vorgelegten Konzentration an (3). Reziproke Koordinaten: Die Konstanten *K* und *Y* definieren die scheinbare Dissoziationskonstante und die scheinbare Aktivität des Aufnahmesystems.

[24] *J. Monod* in: *Enzymes: Units of Biological Structure and Function*. Academic Press, New York 1956, S. 7.

[25] *H. V. Rickenberg*, *G. N. Cohen*, *G. Buttin* u. *J. Monod*, *Ann. Inst. Pasteur* 91, 829 (1956).

[26] *G. N. Cohen* u. *J. Monod*, *Bacteriol. Rev.* 21, 169 (1957).

[27] *C. F. Fox* u. *E. P. Kennedy*, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 54, 891 (1965).

[28] *I. Zabin*, *A. Kepes* u. *J. Monod*, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* 1, 289 (1959).

[29] *I. Zabin*, *A. Kepes* u. *J. Monod*, *J. biol. Chemistry* 237, 253 (1962).

Watson und Crick entwickelten 1953 unter Anlehnung an Arbeiten von *Chargaff* und *Wilkins* ihr Modell für die Struktur der DNS. Von vornherein konnte man aus der komplementären Doppelkette den Mechanismus für die identische Replikation des genetischen Materials herauslesen. Ein Jahr früher hatte *Sanger* die gesamte Primärstruktur des Insulins beschrieben, und man wußte bereits durch die Arbeiten von *Pauling* und *Itano*^[30], daß eine genetische Mutation eine begrenzte Modifikation der Struktur eines Proteins zur Folge haben kann. 1954 entwickelten *Crick* und *Watson*^[31] sowie *Gamow*^[32] die Theorie des genetischen Codes, wonach die Primärstruktur der Proteine von der linearen Sequenz der Nucleotide in der DNS determiniert wird. *Watson* und *Crick* hatten somit auf Grund logischer Intuition eine Struktur entdeckt, die sofort, wenigstens im Prinzip, den beiden wesentlichen Eigenschaften, welche die Genetiker dem Erbmaterial zuschreiben, Rechnung trug: Lenkung seiner eigenen Synthese und Ausführung der Synthese der nicht-genetischen Bestandteile. Die molekulare Biologie war geboren, und mir wurde klar, daß ich selbst schon lange, ohne es zu wissen, ganz nach Art von *Monsieur Jourdain*^[*], molekulare Biologie betrieb.

Seither sind mehr als zehn Jahre vergangen, und die neuen Ideen fanden keineswegs nur begeisterte Hörer. Ich selbst jedoch war, lange bevor die absolute Gewißheit feststand, von ihnen überzeugt. Heute haben wir diese Gewißheit dank einer Reihe zum Teil fast unerhoffter Entdeckungen. Unter solchen Aussichten, die mit jedem Jahr besser wurden, konnten sich die Forschungsarbeiten, auf die ich jetzt zu sprechen komme, ausrichten und entwickeln.

Nachdem man die physiologischen Beziehungen zwischen der Galaktosidase und der Galaktosid-Permease verstand und nachgewiesen wurde, daß sie von zwei unterscheidbaren genetischen Elementen abhängen, dabei aber dem gleichen Induktionsdeterminismus wie auch den gleichen konstitutiven Mutationen unterworfen sind, wurde es nun unbedingt notwendig, die entsprechenden genetischen Strukturen zu analysieren. Man mußte vor allem die Aktivität dieser Gene und die Dominanzbeziehungen zwischen ihren Allelen in Einzelheiten studieren.

Jacob und *Wollman*^[33] hatten damals gerade den Mechanismus der Bakterienkonjugation aufgeklärt. Man wußte nun, daß dabei ein Chromosom aus einem männlichen Bakterium in ein weibliches Bakterium injiziert wird, wobei keine cytoplasmatische Verschmelzung stattfindet. Man konnte sogar die Kinetik des Eintritts eines gegebenen Gens verfolgen. Zusammen mit *Arthur Pardee* und *François Jacob* beschloß ich, mit die-

ser neuen experimentellen Technik die Auswirkungen der injizierten Gene *z* und *i* zu studieren, die als mutierte Allele bereits in der weiblichen Zelle vorhanden waren.

Dieses schwierige Experiment, das *Arthur Pardee* durchführte, lieferte zwei bemerkenswerte und zum Teil unerwartete Resultate. Erstens synthetisiert das Gen *z*, das die Struktur determiniert, die β -Galaktosidase sofort nach dem Eintritt in die Zelle mit maximaler Geschwindigkeit. Ich übergehe hier die Entwicklung und die Folgen dieser Beobachtung, die zur Begründung der Messenger-Theorie beitrug. Zweitens ist das induzierbare Allel des *i*-Gens über das konstitutive Allel dominant, doch diese Dominanz wirkt sich ziemlich langsam aus. Alles sah so aus, als ob dieses Gen für die Synthese einer Substanz verantwortlich sei, welche die Biosynthese des Enzyms hemmt oder reprimiert. Daher der Name „Repressor“ für das Produkt dieses Gens und die Hypothese, daß der Induktor nicht die Synthese des Enzyms veranlaßt, sondern einen Hemmstoff dieser Synthese hemmt^[34–36].

Natürlich weiß ich aus der Schule, daß eine doppelte Verneinung eine Bejahung bedeutet. Wir haben diese Möglichkeit dann auch mit *Melvin Cohn* diskutiert, ohne sie sehr ernst zu nehmen, und ihr den Namen „Theorie des doppelten Bluffs“ gegeben, wobei wir an die scharfsinnige Analyse des Pokerspiels von *Edgar Poe* dachten.

Ich sehe heute jedoch ein, wie leichtsinnig es war, diese Hypothese nicht ernster zu nehmen, hatten wir doch mehrere Jahre zuvor die Hemmung der Synthese der Tryptophan-Synthetase durch Tryptophan entdeckt, und die weiteren Arbeiten von *Vogel*, *Gorini*, *Maas* und anderen (vgl.^[23]) hatten gezeigt, daß die Repression nicht, wie wir damals glaubten, auf einen Antiinduktionseffekt zurückzuführen ist. Ich hatte immer gehofft, daß die Regulation der konstitutiven und induzierbaren Systeme sich eines Tages durch den gleichen Mechanismus erklären lassen wird. Da die Existenz der reprimierbaren Systeme und ihre weite Verbreitung jetzt bewiesen war, sollte man da nicht annehmen dürfen, daß die Induktion auf einen Antirepressionseffekt zurückzuführen ist und nicht die Repression auf einen Antiinduktionseffekt? Das war die Erklärung, die uns *Leo Szilard* anläßlich eines Seminars in Paris vorschlug, als wir gerade die ersten Resultate des Injektionsexperimentes sichteten, uns aber noch nicht an deren Interpretation wagten. Unsere vorläufigen Beobachtungen bestätigten die Intuition *Szilards*, und von da an war ich von der „Theorie des doppelten Bluffs“ überzeugt, wieder einmal lange bevor ich eine Gewißheit hatte. Einige der wichtigsten Folgen dieser Arbeiten waren die Entdeckung der Operatormutanten und des Operons als koordinierte Wirkungseinheit des genetischen Materials sowie die Grundlage für die Messenger-Theorie, die *François Jacob* in seinem Vortrag behandeln wird.

[34] *A. B. Pardee, F. Jacob* u. *J. Monod*, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 246, 3125 (1958).

[35] *A. B. Pardee, F. Jacob* u. *J. Monod*, J. molecular Biol. 1, 165 (1959).

[36] *F. Jacob* u. *J. Monod*, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 249, 1282 (1959).

[30] *L. Pauling, H. A. Itano, S. J. Singer* u. *I. C. Wells*, Nature (London) 166, 677 (1950).

[31] *F. H. C. Crick* u. *J. Watson*: Les Prix Nobel en 1962; vgl. *F. H. Crick*, Angew. Chem. 75, 425 (1963); *J. D. Watson*, ibid. 75, 439 (1963).

[32] *G. Gamow*, Nature (London) 173, 318 (1954).

[*] Anm. d. Übersetzers: *Monsieur Jourdain* ist in *Molières* „Bourgeois gentilhomme“ ein neureicher Kaufmann, der Unrecht in guten Manieren nimmt und dabei naiv und erstaunt feststellt, daß er seit 40 Jahren Prosa spricht.

[33] *F. Jacob* u. *E. Wollman*: Les Prix Nobel en 1965.

Ich möchte darüber nicht sprechen, sondern auf den Repressor zurückkommen, dessen Existenz und Bedeutung mir so lange unklar geblieben waren. Um ehrlich zu sein, ich finde immer noch Ausreden. Es war nicht leicht, sich von der Vorstellung zu lösen, daß zwischen dem Induktor eines Enzyms und dem Enzym selbst keine strukturellen Beziehungen bestehen sollen, die doch den Mechanismus dieses Phänomens so viel einfacher erklären könnten. Bis 1957 habe ich versucht, diese Hypothese zu retten, selbst wenn ich auf die „didaktische“ Rolle des Induktors, wie *Lederberg* gesagt haben würde, vollkommen hätte verzichten müssen.

Nun mußte ich die Theorie ganz aufgeben, denn ein Experiment, zusammen mit *David Perrin* und *François Jacob* durchgeführt, zeigte u. a., daß die Induktion sogar sehr gut bei manchen Mutanten funktioniert, die eine modifizierte Galaktosidase produzieren, die keinerlei Affinität zu den Galaktosiden besitzt [37].

Wir mußten jetzt die Wechselwirkungen des Repressors sowohl mit dem Induktor als auch mit dem Operator analysieren und verstehen lernen. *Otto Warburg* meinte einmal von der Cytochrom-Oxidase, daß dieses Protein, falls es überhaupt eines ist, ebenso unzugänglich wäre wie die Materie der Sterne. Was soll man da von dem Repressor sagen, der nur auf Grund der Folgen seiner Reaktionen bekannt ist? Wir sind hier in der Lage eines Polizeiinspektors, der eine Leiche mit einem Dolch im Rücken findet, und daraufhin zu dem Ergebnis gekommen ist, daß es irgendwo einen Mörder geben muß. Nur, wer der Mörder ist, wie er heißt, ob er groß ist oder klein, braun oder blond, das ist eine andere Frage! Die Polizei kommt in solch einem Fall, scheint es, manchmal weiter, wenn sie auf Grund von Indizien ein Porträt des Schuldigen rekonstruiert. Gerade das möchte ich jetzt für den Repressor tun.

Zunächst müssen wir dem Mörder, ich meine, dem Repressor, zwei Eigenschaften zuschreiben: Er muß sowohl den Induktor als auch den Operator auf Grund sterischer Eigenschaften erkennen, die durch Mutationen verändert oder vollständig zerstört werden können. Der Verlust der Fähigkeit, den Operator zu erkennen, würde das System vollständig dereprimieren. Jede Mutation, welche die Struktur des Repressors veränderte oder seine Synthese verhinderte, müßte als „konstitutiv“ erscheinen, und dies erklärt zweifellos die Häufigkeit solcher Mutationstypen.

Falls unser rekonstruiertes Porträt zutrifft, müßten manche Mutationen nur die Erkennung des Induktors verhindern, nicht aber die des Operators. Solche Mutanten hätten einen sonderbaren Phänotyp. Sie wären nicht induzierbar, d. h., lactose-negativ, und außerdem wäre das betroffene Allel in Diploiden sowohl in cis als auch in trans-Stellung dominant. Zusammen mit *Clyde Willson*, *David Perrin* und *Melvin Cohn* [38] konnten wir zwei Mutanten mit genau diesen Eigenschaften isolieren, und etwa 20 andere hat kürzlich *Suzanne Bourgeois* [39] gefunden.

[37] *D. Perrin, F. Jacob u. J. Monod, C. R. hebd. Séances Acad. Sci.* 250, 155 (1960).

[38] *C. Willson, D. Perrin, M. Cohn, F. Jacob u. J. Monod, J. molecular Biol.* 8, 582 (1964).

[39] *S. Bourgeois, M. Cohn u. L. Orgel*, im Druck.

Beim Zeichnen des künstlichen Porträts habe ich stillschweigend angenommen, daß es nur einen einzigen Mörder und nicht etwa zwei gibt, d. h. daß die Eigenschaften des Systems sich durch das Eingreifen einer einzigen molekularen Spezies, dem Repressor, als Produkt des *i*-Genes erklären lassen. Diese Hypothese ist a priori nicht zwingend. Man könnte zum Beispiel annehmen, daß das Erkennen des Induktors einer Verbindung, das Erkennen des Operators aber einer anderen Verbindung zuzuschreiben ist. Dann muß man aber zusätzlich annehmen, daß sich die beiden Bestandteile gegenseitig erkennen. Diese Hypothese scheint heute durch die Experimente von *Bourgeois*, *Cohn* und *Orgel* [39] fast ausgeschlossen. Sie stellten fest, daß Mutationen des Typs *i*⁻ (Erkennung des Operators unmöglich) und Mutationen des Typs *i*^s (Erkennung des Induktors unmöglich) auf dem gleichen Cistron stattfinden und somit anscheinend das gleiche Molekül, das einzige Produkt des Regulatorgens *i*, betreffen.

Es bleibt die Frage nach der chemischen Natur des Repressors. Solange man annahm, daß der Repressor direkt auf der Ebene der DNS wirkt, konnte man ihn sich als Polyribonucleotid vorstellen, das sich spezifisch mit einer DNS-Sequenz zusammenlagert. Diese Hypothese kann zwar die Erkennung des Operators erklären, nicht aber die des Induktors, denn die Bildung eines stereospezifischen Komplexes mit einem kleinen Molekül ist anscheinend nur Proteinen vorbehalten. Deswegen schließen wir, daß der Repressor, d. h. das aktive Produkt des *i*-Genes, ein Protein sein muß. Diese Hypothese, die sich bisher ausschließlich auf rein logische Überlegungen stützte, erhielt kürzlich eine indirekte, aber trotzdem entscheidende Bestätigung.

Durch die Arbeiten von *Benzer* [40], *Brenner* [41] und *Garen* [42] sind besonders bemerkenswerte Mutationen bekannt geworden, die sogenannten „Nonsense“-Mutationen. Man weiß, daß diese Mutationen eine Unterbrechung der Übersetzung des Messengers in die Polypeptidkette bewirken. Doch andererseits können gewisse, heute gut identifizierte „Suppressor“-Mutationen das Ablesen der Nonsense-Triplets UAG und UAA wieder ermöglichen. Daß eine gegebene Mutation durch eine der sorgfältig katalogisierten Suppressor-Mutationen aufgehoben werden kann, gilt als Beweis, daß der Phänotyp der entsprechenden Mutanten auf die Unterbrechung der Synthese eines Proteins zurückzuführen ist. Auf Grund dieses Prinzips konnten *Bourgeois*, *Cohn* und *Orgel* [39] zeigen, daß gewisse konstitutive Mutationen des *i*-Genes Nonsense-Mutationen sind, und daß daher das aktive Produkt dieses Genes ein Protein sein muß.

Dieses wichtige Resultat illustriert die überraschenden Erkenntnismöglichkeiten der modernen biochemischen Genetik, und außerdem zeigt es, daß es sich um die Suppression einer konstitutiven Mutation (*i*⁻) handelt, daß das Erkennen des Operators und nicht nur des Induk-

[40] *S. Benzer u. S. P. Charupe, Proc. nat. Acad. Sci. USA* 48, 1114 (1962).

[41] *S. Brenner, A. O. W. Stretton u. S. Kaplan, Nature (London)* 206, 994 (1965).

[42] *M. G. Weigert u. A. Garen, Nature (London)* 206, 992 (1965).

tors von der Struktur des Proteins abhängt, das vom i-Gen produziert wird.

Vollständig ungeklärt bleibt der molekulare Mechanismus, der es diesem Protein erlaubt, als Verbindungsglied zwischen Induktor und Operator zu wirken. Dieses Problem ist einem direkten Experiment noch nicht zugänglich, weil der Repressor selbst noch nicht isoliert wurde und nicht in vitro untersucht werden kann. Aber ich möchte abschließend erklären, warum und wie dieser Nachteil uns zu neuen Untersuchungen anregte, von denen wir uns viel erhoffen.

Bereits mehrere Male, bevor die Existenz des Repressors nachgewiesen war, hatten wir versucht, etwas über die Wirkungsweise des Induktors zu erfahren. *Georges Cohen*, *François Gros* und *Agnès Ullmann* benutzten verschiedene Fraktionierungstechniken, um das Schicksal von radioaktiven Induktoren in vivo zu studieren. Einige dieser Versuche haben zu unerwarteten und wichtigen Entdeckungen geführt und uns z.B. die Galaktosid-Permease und die Galaktosid-Transacetylase erkennen lassen. Über die Wirkungsweise der Galaktoside als Induktoren sagten sie allerdings nichts aus. Nichts weist darauf hin, daß die Induktionswirkung eine auch noch so kurzzeitige chemische Veränderung oder irgendeine covalente Reaktion des Induktors mit sich bringt. Die Kinetik der Induktion, die in verfeinerter Form von *Kepes* untersucht wurde^[43-45], zeigt übrigens, daß die Induktionswirkung äußerst schnell und vollständig reversibel ist (Abb. 5).

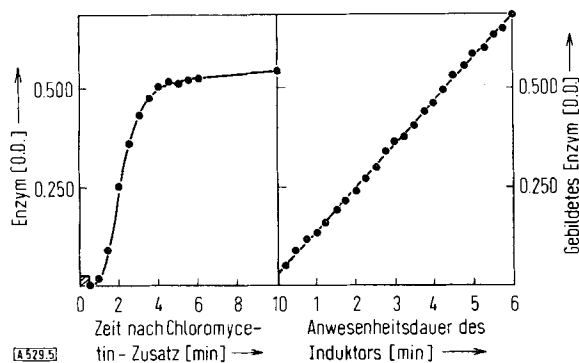


Abb. 5. Kinetik der Galaktosidase-Synthese nach kurzzeitiger Induktion. Linke Kurve: Zugabe des Induktors zur Zeit 0. Entfernung des Induktors nach einer Zeit, die der Breite des schraffierten Rechtecks entspricht. Ordinaten: Enzymaktivität.

Rechte Kurve: Gesamtmenge des gebildeten Enzyms (Asymptote der linken Kurve) als Funktion der Anwesenheitsdauer des Induktors. Die gefundene lineare Beziehung bedeutet, daß die induzierende Wirkung praktisch sofort eintritt und reversibel ist^[43].

Eigentlich ist dies ein bemerkenswertes Phänomen, denn die stereospezifische, nicht-covalente und reversible Wechselwirkung, die wahrscheinlich nur eine kleine Zahl von Molekülen betrifft und sehr wenig Energie verbraucht, löst den ganzen komplizierten Mechanismus der Transkription eines Operons, der Ablesung des Messengers und der Synthese der drei Proteine mit der Bildung von mehreren tausend Peptidbindungen aus.

[43] A. Kepes, *Biochim. biophysica Acta* 40, 70 (1960).

[44] A. Kepes, *Biochim. biophysica Acta* 76, 293 (1963).

[45] A. Kepes, *Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol.* 28, 325 (1963).

In diesem Prozeß ist der Induktor anscheinend nur ein chemisches Signal, das der Repressor erkennen kann. Der Induktor beteiligt sich überhaupt nicht direkt an den Reaktionen, die er auslöst.

Man könnte versucht sein, diese Interpretation der Induktion als unwahrscheinlich abzutun, wenn nicht heute zahlreiche Beispiele ähnlicher Mechanismen bekannt wären, die in die Regulation zwar nicht der Synthese, wohl aber der Aktivität mancher Enzyme eingreifen. *Jacob*, *Changeux* und ich sind gerade wegen eines möglichen Modellfalles für den Induktionsmechanismus seit einigen Jahren an den Regulationsenzymen interessiert^[46, 47]. Das erste Beispiel eines solchen Enzyms war die Phosphorylase b aus Kaninchenmuskel, welches nach Arbeiten von *Cori*^[48] und seiner Schule (vgl. ^[49]) spezifisch von 5'-AMP aktiviert wird, ohne daß das Nucleotid in irgendeiner Weise an der Reaktion teilnimmt. *Novick* und *Szillard*^[50], *Pardee*^[51] sowie *Umbarger*^[52] entdeckten die Endprodukt-Hemmung, die den Stoffwechsel der Biosynthesen regelt, und veranlaßten damit die Wiederaufnahme der Untersuchungen, die dann zum Nachweis der allgemeinen Bedeutung dieser Regulationsart führten.

Aus Anlaß eines Übersichtsartikels über die Regulationsenzyme^[53] haben wir beim systematischen Vergleich und der Analyse der Eigenschaften dieser Enzyme erkannt, daß die beobachteten Effekte meistens, wenn nicht sogar immer, auf indirekte Wechselwirkungen zwischen diskreten stereospezifischen Rezeptoren an der Oberfläche des Proteinmoleküls zurückzuführen sind. Diese Wechselwirkungen werden wahrscheinlich durch eine Konformationsänderung weitergeleitet, welche durch Komplexbildung zwischen Enzym und spezifischem Effektor induziert oder stabilisiert wird. Daher rührt der Name „allosterischer Effekt“, durch den wir diese besondere Art von Wechselwirkungen bezeichnen wollen; der Name „allosterische Umwandlung“ soll die Änderung bezeichnen, der das Protein unterworfen wird (Abb. 6).

Wegen der indirekten Art haben die allosterischen Wechselwirkungen im Grunde nichts mit der Struktur oder der besonderen chemischen Reaktivität der Liganden selbst zu tun, sondern nur mit der Struktur des Proteins, das als Zwischenglied oder Überträger wirkt. Dadurch erhält diese Erscheinung ihre große Bedeutung. Der Stoffwechsel, das Wachstum, die Teilung einer Zelle verlangen anscheinend nicht nur, daß die wichtigen Vorgänge des intermediären Stoffwechsels funktionieren (die den Bedarf des Organismus an Energie

[46] J. Monod u. F. Jacob, *Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol.* 26, 389 (1961).

[47] J. P. Changeux, *Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol.* 26, 313 (1961).

[48] C. F. Cori et al. zit. in: *Les Prix Nobel en 1947*.

[49] E. Helmreich u. C. F. Cori, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 51, 131 (1964).

[50] A. Novick u. L. Szillard in: *Dynamics of Growth Process*. Princeton Univ. Press 1954, S. 21.

[51] R. A. Yates u. A. B. Pardee, *J. biol. Chemistry* 221, 757 (1956).

[52] H. E. Umbarger, *Science (Washington)* 123, 848 (1956).

[53] J. Monod, J. P. Changeux u. F. Jacob, *J. molecular Biol.* 6, 306 (1963).

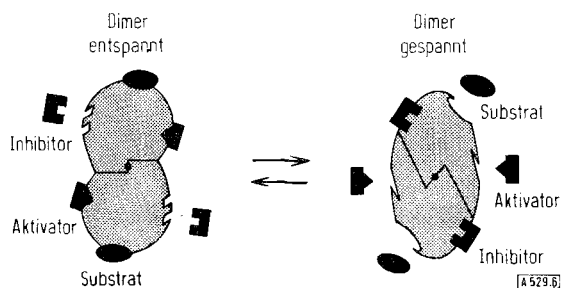


Abb. 6. Modell einer allosterischen Umlagerung in einem symmetrischen Dimer. In einer der beiden Konformationen kann sich das Protein sowohl mit dem Substrat als auch mit dem Aktivator verbinden. In der anderen Konformation verbindet es sich mit dem hemmenden Liganden.

und chemischem Material decken), sondern auch, daß ein Netz spezifischer Wechselwirkungen die Aktivität der Stoffwechselvorgänge eng und zuverlässig koordiniert. Die Entwicklung und die Vervollkommenung solcher Schaltkreise im Laufe der Evolution wären sicher unmöglich gewesen, wenn sich allein direkte Wirkungen an der Proteinoberfläche betätigt hätten. Solche Wirkungen wären von der chemischen Natur und der Reaktivität der Metaboliten abhängig, zwischen denen eine Wechselwirkung physiologisch sinnvoll ist. Die „Erfindung“ der indirekten, allosterischen Wechselwirkungen, die ausschließlich von der Konstruktion des Proteins und damit dem genetischen Programm bestimmt sind, befreite die molekulare Evolution von dieser Beschränkung [53].

Der Nachteil dieses Begriffes ist gerade seine große Erklärungskraft, die fast nichts ausschließt. Es gibt keine physiologische Erscheinung, so kompliziert und geheimnisvoll sie auch sei, die man nicht zumindest auf dem Papier mit einigen allosterischen Umlagerungen erklären könnte. Ich bin der gleichen Ansicht wie mein Freund *Boris Magasanik*, der mir vor einigen Jahren sagte, daß dies die dekadenteste Theorie der Biologie ist. Und weil die Theorie so dekadent ist, gibt es a priori keinen Grund anzunehmen, daß die allosterischen Umlagerungen immer gleichartig verlaufen und bei verschiedenen Proteinen den gleichen Regeln gehorchen. Vielmehr könnte jedes allosterische System eine besondere und einzigartige Lösung eines bestimmten Regulationsproblems darstellen. Die experimentellen Ergebnisse an verschiedenen allosterischen Enzymen brachten bemerkenswerte Analogien zwischen Systemen, die nichts gemein zu haben schienen, zutage. In diesem Zusammenhang beeindruckte vor allem der Vergleich der Beobachtungen, die unabhängig voneinander *Gerhart* und *Pardee* [54–57] an der Aspartat-Transcarbamylase sowie *Changeux* [58–60] an der Threonin-Desaminase von *Escherichia coli* gelangen.

[54] J. C. Gerhart u. A. B. Pardee, *Federat. Proc.* 20, 224 (1961).

[55] J. C. Gerhart u. A. B. Pardee, *J. biol. Chemistry* 237, 891 (1962).

[56] J. C. Gerhart u. A. B. Pardee, *Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol.* 28, 491 (1963).

[57] J. C. Gerhart u. A. B. Pardee, *Federat. Proc.* 23, 727 (1964).

[58] J. P. Changeux, *Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol.* 26, 313 (1961).

[59] J. P. Changeux, *J. molecular Biol.* 4, 220 (1962).

[60] J. P. Changeux, *Bull. Soc. Chim. biol.* 46, 927, 947, 1151 (1964); 47, 115, 267, 281 (1965).

Die komplizierten Wechselwirkungen in diesen beiden Systemen zeigen ungewöhnliche, fast paradoxe, aber trotzdem gleichartige kinetische Charakteristiken. Man konnte kaum mehr daran zweifeln, daß die Evolution die gleiche prinzipielle Lösung des Problems der allosterischen Wechselwirkungen für beide Systeme gefunden hatte. Es liegt am Forscher, sie nun aufzuspüren.

Bei den gemeinsamen Eigenschaften dieser beiden Systeme und denen der meisten anderen allosterischen Enzyme fiel besonders auf, daß die Sättigungskurven nicht linear wie bei den klassischen Enzymen verlaufen, sondern multimolekularen Gesetzen gehorchen. Man kennt seit langem ein Beispiel eines solchen Verhaltens: es ist die Sättigung von Hämoglobin durch Sauerstoff (Abb. 7). *Jeffries Wyman* hatte schon vor mehreren Jahren [61] festgestellt, daß die Symmetrie der Sättigungskurven für das System Hämoglobin-Sauerstoff eine symmetrische Struktur des Proteinmoleküls anzudeuten schien. Diese Hypothese konnte *Perutz* dann glänzend bestätigen [62].

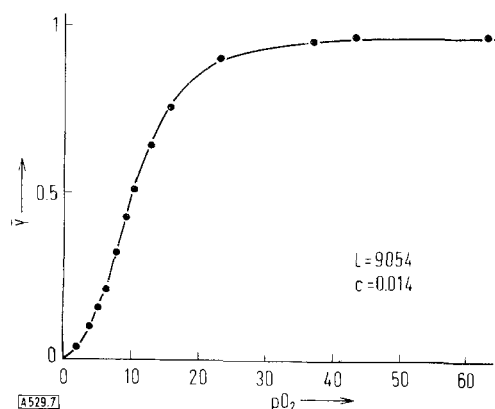


Abb. 7. Sättigung von Hämoglobin mit Sauerstoff.

Abszisse: Sauerstoffpartialdruck.

Ordinate: Sättigungszustand, vollständige Sättigung = 1.

Die Punkte sind experimentelle Werte (*Lyster*, unveröffentlicht). Die Kurve wurde auf Grund von Modellvorstellungen berechnet, die denen in Abb. 6 ähneln.

Diese Hinweise haben *Wyman*, *Changeux* und mich ermutigt, eine Interpretation der allosterischen Wechselwirkungen auf Grund der molekularen Struktur zu versuchen. Dieser Versuch führte uns zum Studium der Eigenschaften eines Modells, das im wesentlichen folgendermaßen definiert ist:

- Ein allosterisches Protein besteht aus mehreren identischen Untereinheiten (Protomeren).
- Die Protomeren sind so angeordnet, daß keines vom anderen unterschieden werden kann, das heißt, das Molekül hat eine oder mehrere Symmetrieachsen.
- Das Molekül kann zwei oder mehrere Konformationen annehmen.
- Bei den Konformationsänderungen bleibt die molekulare Symmetrie, oder allgemeiner, die Äquivalenz der Protomeren erhalten (*Scaramo*).

[61] D. W. Allen, K. F. Guthe u. J. Wyman, *J. biol. Chemistry* 187, 393 (1950).

[62] M. F. Perutz in: *Les Prix Nobel en 1962*; vgl. *Angew. Chem.* 75, 589 (1963).

Zu unserer Überraschung ließen sich mit diesem einfachen Modell die meisten der manchmal sehr komplexen Eigenschaften zahlreicher allosterischer Systeme voraussehen (Abb. 8).

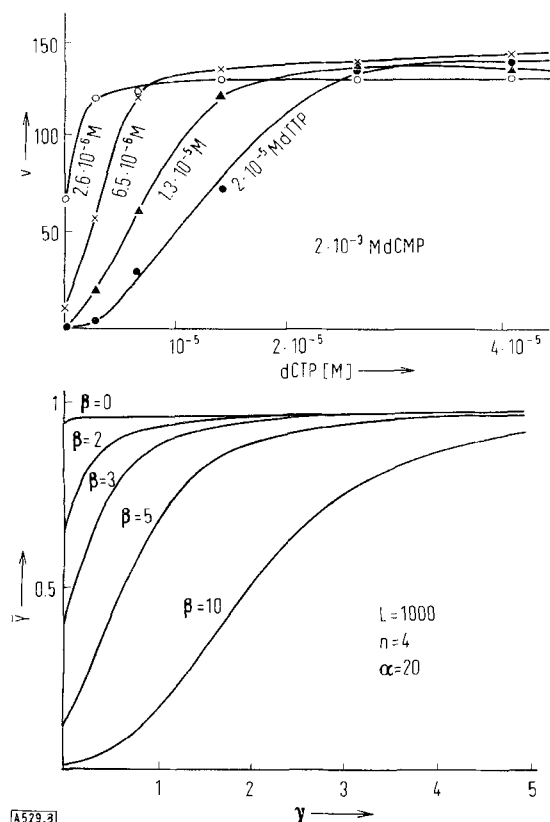


Abb. 8. Aktivität der Desoxycytidin-Desaminase als Funktion der Konzentration des Aktivators (dCTP) und des Inhibitors (dTTP). Substrat: dCMP.

Oben: Experimentelle Ergebnisse nach Scarano.

Unten: Für ein ähnliches Problem auf Grund des Modells von Monod, Wyman und Changeux [65] berechnete Kurven.

[63] C. A. Woolfolk u. E. R. Stadtman, Biochem. biophysic. Res. Commun. 17, 313 (1964).

[64] J. Monod: Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Hermann Edit., Paris 1941.

Dieses Modell kann natürlich nur eine erste Näherung für die Beschreibung der wirklichen Systeme sein. Es ist übrigens wahrscheinlich, daß die Evolution noch andere Lösungen für das Problem der Regulationswechselwirkungen gefunden hat. Gewisse Systeme scheinen nach ganz anderen Prinzipien zu funktionieren (vgl. [63]), die es noch aufzuklären gilt.

Das Ziel der molekularen Biologie ist die Interpretation der wesentlichen Eigenschaften der Organismen auf Grund ihrer molekularen Struktur. Dieses Ziel ist für die DNS bereits erreicht. Es ist für die RNS in Sicht. Es scheint für die Proteine noch weit entfernt zu sein. Interessant an unserem Modell ist vor allem, daß es funktionelle Beziehungen zwischen manchen molekularen Strukturelementen der Proteine und manchen ihrer physiologischen Eigenschaften voraussagt, und zwar gerade für diejenigen Proteine, die bei der Integration, der dynamischen Organisation und dem Stoffwechsel eine Rolle spielen. Daß die vorgeschlagene Beziehung durch das Experiment bestätigt wird, sehe ich als zusätzlichen Grund für das Vertrauen in die Entwicklung unseres Arbeitsfeldes über die Chemie der Vererbung hinaus zur Analyse der kompliziertesten biologischen Phänomene, der Entwicklung der höheren Organismen und der Funktion ihrer Koordinationsnetze.

Die von meinen Mitarbeitern und mir seit 1945 durchgeführten Arbeiten entstanden alle im Institut Pasteur. Sie wurden entscheidend von zahlreichen Institutionen unterstützt, von denen ich die folgenden besonders nennen möchte: Centre National de la Recherche Scientifique, Rockefeller Foundation, National Science Foundation, Jane Coffin Childs Memorial Fund, National Institutes of Health, Commissariat à l'Energie Atomique, Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique. Eine Zuwendung von Madame Edouard de Rothschild und Madame Bethsabée de Rothschild hat 1954 die Einrichtung des Service de Biochimie Cellulaire im Institut Pasteur zum großen Teil ermöglicht.

Übersetzt von Dr. G. Scheuerbrandt, München
Eingegangen am 22. März 1966 [A 529]

[65] J. Monod, J. Wyman u. J. P. Changeux, J. molecular Biol. 12, 88 (1965).