

VON PROF. DR. F. JACOB

LABORATOIRE DE GÉNÉTIQUE CELLULAIRE DU COLLÈGE DE FRANCE ET SERVICE DE GÉNÉTIQUE MICROBIENNE DE L'INSTITUT PASTEUR, PARIS (FRANKREICH)

Die große Ehre, die mir heute zusammen mit *André Lwoff* und *Jacques Monod* zuteil wird, verdanke ich dem glücklichen Umstand, der mich 1950, zu Beginn meiner wissenschaftlichen Arbeiten, im richtigen Augenblick an den richtigen Ort führte. Es war der richtige Ort, weil im Dachgeschoß des Institut Pasteur ein neues Arbeitsgebiet in einer Atmosphäre der Begeisterung und freimütigen Kritik, des Nonkonformismus und der Freundschaft entstand. Und es war der richtige Augenblick, weil sich die Biologie im Umsturz befand, weil ihre Denkweise sich änderte, weil sie die Mikroorganismen als neues und einfaches Experimentiermaterial entdeckte und weil sie sich der Physik und der Chemie näherte. – Seltenes Moment, wo Unwissenheit Tugend werden kann!

Lysogenie und Konjugation der Bakterien

Durch das Laboratorium von *André Lwoff* lief ein langer Gang. An einem Ende gaben *Jacques Monod* und seine Gruppe β -Galaktoside zu Bakterienkulturen, um die Biosynthese der β -Galaktosidase anzuregen; am anderen Ende richteten *André Lwoff* und seine Mitarbeiter ultraviolette Strahlen auf Kulturen lysogener Bakterien, denn sie hatten darin eine Methode zur Auslösung der Biosynthese von Bakteriophagen gefunden. Jeder „induzierte“ auf seine Weise und war überzeugt, daß beide Phänomene nichts als dieses Wort gemeinsam hatten.

Im Verlauf meiner Doktorarbeit bei *André Lwoff* untersuchte ich die Lysogenie bei *Pseudomonas pyocyanea*. Und ich bestrahlte diesen Organismus sehr gewissenhaft; es zeigte sich allerdings sehr schnell, daß das Problem der Lysogenie ein Problem der Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Bakteriophagen, also im wesentlichen ein genetisches Problem war.

Etwa zehn Jahre früher hatten *Luria* und *Delbrück*^[1] die Genetik der Mikroorganismen begründet. Durch die Arbeiten von *Lederberg* und *Tatum*^[2], *Delbrück* und *Bailey*^[3] sowie *Hershey*^[4] gewann sie an Bedeutung, und bald konfrontierte die junge Wissenschaft die Biologen mit einer Fülle von Überraschungen, deren

wichtigste die Entdeckung von *Avery*, *McLeod* und *McCarthy*^[5] sowie später von *Hershey* und *Chase*^[6] war, daß Desoxyribonucleinsäure (DNS) der Träger der genetischen Spezifität ist, und daß damit ein Zugang zur Chemie der Gene geschaffen wurde. Jetzt war es zum ersten Mal möglich, den alten biologischen Begriffen der Vererbung, der Variation und der Evolution einen chemischen und physikalischen Gehalt zu geben. Eben diese molekulare Erklärung der genetischen Erscheinungen ist es, die zu der von *Watson* und *Crick* vorgeschlagenen Struktur geführt hat^[7].

Eine weitere Überraschung war die Erkenntnis, daß sich Bakterien und Viren durch ihr schnelles Wachstum, ihre Anpassungsfähigkeit an die verschiedensten Umgebungen und durch die Vielfalt der Übertragungsmöglichkeiten ihres genetischen Materials ganz besonders für das Studium der Zelle, ihrer Funktionen und ihrer Vermehrung eigneten. Seit den Arbeiten von *Beadle* und *Tatum*^[8] sowie von *Lederberg*^[9] und *Benzer*^[10] kann man mit ein wenig Phantasie in einer Bakterienpopulation Mutationen erzeugen und dann einzelne Organismen isolieren, bei denen eine ausgewählte Eigenschaft fast willkürlich verändert ist. Und eine der besten Methoden zur Aufklärung der Mechanismen in einer normalen Zelle ist das Studium der Anomalien bei diesen ausgewählten, von Menschenhand veränderten Lebewesen.

Die ersten genetischen Analysen der Lysogenie (1952, *E. u. J. Lederberg*^[11]; *Wollman*^[12]) hatten zum Ziel, die Position des Prophagen in der Bakterienzelle zu bestimmen. Von Anfang an ließen manche Kreuzungen zwischen lysogenen und nicht-lysogenen Bakterien auf eine Koppelung des vom Prophagen λ von *E. coli* determinierten lysogenen Charakters mit anderen, von Bakteriengen gesteuerten Eigenschaften schließen. Andere Kreuzungen hingegen wiesen Anomalien auf. Da der Mechanismus der Konjugation aber noch nicht bekannt war, ließen diese Ergebnisse keine klaren Entscheidungen zu.

[5] O.T. Avery, C. M. McLeod u. M. McCarthy, J. exp. Medicine 79, 137 (1944).

[6] A. D. Hershey u. M. Chase, J. gen. Physiol. 36, 39 (1952).

[7] J. D. Watson u. F. H. C. Crick, Nature (London) 171, 737 (1953).

[8] G. W. Beadle u. E. L. Tatum, Proc. nat. Acad. Sci. USA 27, 499 (1941).

[9] J. Lederberg in J. H. Comroe jr.: Methods in Medical Research. Year Book Publisher, Chicago 1950, Bd. 3, S. 5.

[10] S. Benzer in W. D. McElroy u. B. Glass: The Chemical Basis of Heredity. Johns Hopkins Press, Baltimore 1957, S. 70.

[11] E. M. Lederberg u. J. Lederberg, Genetics 38, 51 (1953).

[12] E. L. Wollman, Ann. Inst. Pasteur 84, 281 (1953).

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

[1] S. E. Luria u. M. Delbrück, Genetics 28, 499 (1943).

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

[3] M. Delbrück u. W. T. Bailey jr., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 11, 33 (1946).

[4] A. D. Hershey, Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol. 11, 67 (1946).

Um diese Untersuchungen etwas variiert weiterzuführen, begann ich eine enge freundschaftliche Zusammenarbeit mit *Elie Wollman*. Wir wollten zunächst die Anomalien bei den Kreuzungen von lysogenen mit nicht-lysogenen Bakterien verstehen lernen, besonders die Tatsache, daß die lysogene Eigenschaft nur dann auf die Rekombinanten übertragen wurde, wenn sie vorher im weiblichen Partner enthalten war. Wir wählten für die Untersuchung dieses Phänomens die männliche Mutante Hfr („high frequency“), die *William Hayes* kurz zuvor isoliert hatte. Mit einer Population von weiblichen Zellen gemischt, erzeugt sie zahlreiche Rekombinanten^[13]. Bei der Kreuzung solcher männlicher, lysogener Hfr-Zellen mit nicht lysogenen weiblichen Zellen bildet über die Hälfte der männlichen Zellen Zygoten, die unter Phagenproduktion lysieren^[14].

Diese „zygotische Induktion“ zeigte, daß das Gleichgewicht zwischen Prophage und Bakterium durch ein Regulationssystem aufrechterhalten wird, das im Cytoplasma eines lysogenen Bakteriums vorhanden ist, in einem nicht-lysogenen Bakterium aber fehlt. Sie bewies außerdem, daß eine genetische Eigenschaft, die vom männlichen Partner übertragen wird, sich in der Zygote auswirken kann, ohne daß eine Integration in das Chromosom der weiblichen Zelle durch genetische Rekombination nötig ist. Außerdem war es jetzt möglich, während der Konjugation experimentell zwischen der Übertragung des genetischen Materials und der Rekombination zu unterscheiden.

Um die Konjugation nicht nur bei großen Populationen, sondern auch bei einzelnen Bakterienpaaren untersuchen zu können, mußten wir die Bedingungen kennenlernen, unter denen das genetische Material vom männlichen in den weiblichen Partner übertragen wird. Man konnte dann versuchen, die Konjugation nach verschiedenen Zeiten zu unterbrechen und prüfen, in welchem Moment die Übertragung stattfindet. Dazu hatte *Elie Wollman* die zunächst erstaunliche Idee, die Konjugation von Paaren, die sich in einem Gemisch von männlichen und weiblichen Zellen gebildet hatten, durch Rühren in einem schnellaufenden Mix-Gerät zu unterbrechen. Die Reibungskräfte trennen die männlichen und weiblichen Zellen voneinander; das Chromosom des männlichen Partners wird während seiner Wanderung zerbrochen, und nur das Fragment, das bereits in die weibliche Zelle eingedrungen ist, kann seine Potenzen dort zum Ausdruck bringen und rekombinieren. Dadurch konnte gezeigt werden, daß sich bei der Konjugation die männliche Zelle mit der weiblichen Zelle paart und ihr langsam, nach einem bestimmten Programm, ein Chromosom injiziert, wobei immer an einer Stelle des Chromosoms begonnen wird, die für den verwendeten männlichen Bakterienstamm charakteristisch ist^[15]. Glückliche Wesen, bei denen die Vereinigung das dreifache der mittleren Lebensdauer des Individuums hält!

[13] *W. Hayes*, Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol. 18, 75 (1953).

[14] *F. Jacob* u. *E. L. Wollman*, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 239, 455 (1954).

[15] *E. L. Wollman* u. *F. Jacob*, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 240, 2449 (1955).

Mit einem solchen System ließ sich die genetische Konstitution von *E. coli* relativ leicht analysieren. Es gelang, die Gesamtheit der bakteriellen Eigenschaften auf einer einzigen Koppelungsgruppe, dem Bakterienchromosom, unterzubringen, und eine Genkarte zu konstruieren, nicht nur mit Hilfe der klassischen genetischen Methoden, sondern auch durch physikalische und chemische Messungen. Diese Untersuchungen führten zu zwei neuen Erkenntnissen: Das Bakterienchromosom verhält sich wie eine geschlossene oder ringförmige Struktur, und außerdem erweist es sich keineswegs als unangreifbare Einheit, wie man erwartet hatte. Andere genetische Elemente, die Episomen, z. B. das Chromosom eines Phagen oder der Geschlechtsfaktor, können eingebaut und auch wieder abgelöst werden^[16]. Gerade diese Eigenschaften sollten für das Studium der Bakterienzelle und ihrer Funktion besonders wertvoll werden.

Die Ausdrucksform des genetischen Materials: Der Messenger

Die Konjugation der Bakterien erlaubt nicht nur die Analyse der eigentlichen genetischen Erscheinungen, sondern vor allem die Untersuchung der Zellfunktionen, denn mit ihrer Hilfe ist es möglich, ein ausgewähltes Gen im gewünschten Moment auf eine ganze Zellpopulation zu übertragen. Die Veränderungen des Phänotyps beim plötzlichen Auftreten eines fremden Gens in der Empfängerzelle können sich ohne die Komplikationen manifestieren, welche Morphogenese und zelluläre Differenzierung in höheren Organismen verursachen.

Jacques Monod hatte inzwischen erkannt, daß das Studium der enzymatischen Induktion nur durch genetische Analysen fortgesetzt werden konnte. Man kannte damals zwei Mutationstypen, welche die normalerweise induzierbare Biosynthese der β -Galaktosidase verändern. Eine von ihnen zerstört die Fähigkeit zur Synthese von aktivem Protein, während die andere die induzierbare Synthese in eine konstitutive Synthese umwandelt; d. h. das Enzym kann selbst bei Abwesenheit von induzierenden β -Galaktosiden synthetisiert werden. Wie arbeiten die Gene? Welche Beziehung besteht zwischen den genetischen Determinanten, die durch diese Mutationen entdeckt worden waren? Was bedeuten die Eigenschaften „induzierbar“ und „konstitutiv“? Viele dieser Fragen konnten mit Hilfe der Bakterienkonjugation beantwortet werden. Mit männlichen und weiblichen Bakterien passender Genotypen ließ sich jetzt ein bestimmtes Allel eines Gens in ein Bakterium einbringen. Danach konnten dann die Bedingungen untersucht werden, unter denen sich in den neuen Zygoten die Enzymsynthese vollzieht.

Diese Experimente wurden zusammen mit *Arthur Pardee* durchgeführt, der für ein Jahr ins Institut Pasteur kam^[17]. Sie brachten zwei neue Erkenntnisse. Die erste betraf den Mechanismus der Induktion. Wenn

[16] *F. Jacob* u. *E. L. Wollman*: Sexuality and the Genetics of Bacteria. Academic Press, New York 1961.

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

man auf ein konstitutives Bakterium die Determinante überträgt, welche die Induzierbarkeit des Enzyms durch β -Galaktoside bewirkt, erhält man temporäre diploide Heterozygoten für die Eigenschaften „induzierbar-konstitutiv“. Offensichtlich müßte der Phänotyp solcher Zygoten eine Entscheidung unter den Induktions-Hypothesen erlauben. Einerseits wirkt sich das „induzierbare“ Allel unabhängig von dem Gen aus, das die Synthese des Enzyms steuert, und andererseits ist es dominant gegenüber dem „konstitutiven“ Allel. Dieses Ergebnis bewies die Existenz eines besonderen Genes, welches das induzierbare System steuert, indem es ein cytoplasmatisches Produkt bildet, das die Synthese des Enzyms in Abwesenheit des Induktors hemmt. Wie wir später sehen werden, änderte dies die Vorstellungen über den Mechanismus der Induktion und eröffnete einen Weg zur genetischen Analyse der Mechanismen, welche die Proteinsynthese steuern.

Die zweite Beobachtung betraf die Wirkungsweise des genetischen Materials. Bei der Übertragung des Genes, das die Struktur eines Proteins determiniert, auf ein Bakterium, das dieses Gen nicht besitzt, kann man die Bedingungen studieren, unter denen sich das Gen in der Zygote auswirkt. Auch hier waren mehrere Voraussagen möglich, je nachdem wie man sich die Informationsübertragung bei der Proteinsynthese vorstellte. Von kinetischen Untersuchungen der Synthese konnte man Auskünfte über das Primärprodukt des Gens erwarten sowie über den Zeitbedarf für seine Synthese und über seine Funktionsweise. Es sollte sich erweisen, daß sofort nach der Übertragung des Gens in das Bakterium, und noch bevor eine genetische Rekombination stattfinden kann, das Gen, das die Proteinstruktur determiniert, voll funktionsfähig ist und sich das Protein von Anfang an mit der Maximalgeschwindigkeit synthetisiert.

Das war eine überraschende Beobachtung, die sich schlecht mit den früheren Anschauungen vertrug. Es war allgemein angenommen worden, daß sich die Aktivität eines Gens durch die Anhäufung stabiler Strukturen, wahrscheinlich RNS der Ribosomen, im Cytoplasma manifestiert. Die stabilen Strukturen sollten als Matrizen für die Determinierung der Proteinstruktur wirken (vgl. [18]). Ein solches Schema, das man mit dem Schlagwort „Ein Gen – ein Ribosom – ein Enzym“ zusammenfaßte, vertrug sich schlecht mit der sofortigen und maximalen Enzymsynthese, d.h. einer Enzymsynthese ohne Anlaufzeit.

Zur weiteren Untersuchung dieses Problems mußte ein Gen aus einem Bakterium entfernt und die Konsequenz dieser Maßnahme auf die Synthese des entsprechenden Proteins beobachtet werden. Vorhandene stabile Matrizen mußten dann noch die Synthese für eine mehr oder weniger lange Zeit erlauben. So leicht es ist, mit Hilfe der Konjugation ein bestimmtes Gen zu injizieren, so ausgeschlossen schien es, ein Gen aus einer Bakterienpopulation zu entfernen. Möglich war aber die In-

jektion eines Chromosomenabschnittes mit radioaktivem Phosphor, der anschließend das zu studierende Gen zerstört. Dieses delicate Experiment gelang *Monica Riley* im Laboratorium von *Pardee*. Sie konnte eindeutig zeigen, daß die Fähigkeit zur Proteinsynthese die Zerstörung des Gens nicht überlebt [19].

Die Antwort war klar: Das Gen kann sich nicht durch die Bildung stabiler Matrizen manifestieren. Unsere Überzeugung wurde etwa gleichzeitig durch die genetischen und kinetischen Studien der Induktion bestärkt. Es zeigte sich nämlich, daß die Induktion fast augenblicklich eintrat und auf Strukturen wirkte, die manchmal mehrere und nicht nur ein einziges Protein determinierten. Auch dieses Ergebnis widersprach den gängigen Theorien, denn es war schlecht mit der homogenen Zusammensetzung der Ribosomen zu vereinbaren.

Damit erfüllten die beiden damals bekannten Arten der RNS weder durch ihre Stabilität noch durch ihre Homogenität und auch nicht durch ihre Basenzusammensetzung die Bedingungen für cytoplasmatische Matrizen. Da die Vorstellung, daß die Proteinsynthese direkt auf der DNS-Ebene vor sich gehen sollte, mit der Lokalisierung der Ribosomen im Cytoplasma und ihrer nachgewiesenen Rolle bei dieser Synthese unvereinbar war, blieb kein anderer Ausweg als die Postulierung einer dritten RNS-Art – genannt Bote (englisch „Messenger“) – eines Moleküls von kurzer Lebensdauer, das dem Cytoplasma die in den Genen enthaltene Information mitteilt [20]. Auf Grund dieser Hypothese spielen die Ribosomen als nicht-spezifische Strukturen die Rolle einer Maschine zur Übersetzung der vom Messenger gelieferten Nucleinsäurebotschaft in die Sprache der Peptide unter Zuhilfenahme der Transfer-RNS. Mit anderen Worten: Die Synthese eines Proteins müßte sich in zwei Stufen abspielen. Die Nucleotidsequenz der DNS müßte zuerst auf den Messenger als dem Primärprodukt des Gens übertragen werden; dieser würde sich dann zu den Ribosomen begeben und ihnen ein spezifisches Programm überbringen. Die Nucleotidsequenz des Messengers würde anschließend in die Peptidsequenz übersetzt werden. Trotz der Opposition, die sie weckte, besaß diese Hypothese für uns zwei Vorzüge: Einerseits erlaubte sie, eine Reihe bekannter Tatsachen erstmals auf einen Nenner zu bringen, und andererseits ermöglichte sie präzise experimentelle Voraussagen.

Tatsächlich erlebte die Messenger-Hypothese, bevor sie in gedruckter Form erschien, zwei experimentelle Bestätigungen. *Sydney Brenner* und ich faßten den Entschluß, im Juni 1960 zusammen mit *M. Meselson* im Laboratorium von *Max Delbrück* im California Institute of Technology den „Messenger“ zu suchen.

Der aussichtsreichste Kandidat für die Rolle des Messengers schien uns die RNS zu sein, die *Hershey* [21] und dann *Volkin* und *Astrachan* [22] bei Bakterien gefunden hatten, die mit dem Phagen T2 infiziert waren. In eini-

[18] *T. Caspersson*, *Chromosoma* 1, 562 (1940); *J. Brachet*, *Enzymologia* 10, 87 (1941); *F. H. C. Crick*, *Symposia Soc. exp. Biol.* 12, 138 (1958); *R. B. Roberts*: *Microsomal particles and protein synthesis*. Pergamon Press, New York 1958; *A. Tissières*, *J. D. Watson*, *D. Schlesinger* u. *B. R. Hollingworth*, *J. molecular Biol.* 1, 221 (1959); *C. I. Davern* u. *M. Meselson*, *ibid.* 2, 153 (1960).

[19] *M. Riley*, *A. B. Pardee*, *F. Jacob* u. *J. Monod*, *J. molecular Biol.* 2, 216 (1960).

[20] *F. Jacob* u. *J. Monod*, *J. molecular Biol.* 3, 318 (1961).

[21] *A. D. Hershey*, *J. Dixon* u. *M. Chase*, *J. gen. Physiol.* 36, 777 (1953).

[22] *E. Volkin* u. *L. Astrachan*, *Virology* 2, 149 (1956).

gen Wochen konnten wir dank *Brenners* außerordentlicher intellektueller und experimenteller Geschicklichkeit zeigen, daß die vom Phagen gebildete RNS sich an Ribosomen, die alle vor der Infektion entstanden waren, anlagert und dort Phagenprotein synthetisiert. Die gleichen Ribosomen können somit je nach Art des Messengers, der zu ihnen kommt, entweder Protein für den Phagen oder Protein für das Bakterium produzieren. Es ist also der Messenger, der den Ribosomen ein spezifisches Syntheseprogramm überbringt^[23].

Zur gleichen Zeit verließ ein anderes Mitglied unserer Gruppe, *François Gros*, das Institut Pasteur, um einige Monate im Laboratorium von *J. D. Watson* in Harvard zu arbeiten. Mit ihren Mitarbeitern gelang es beiden sehr schnell, die Existenz einer Messenger-Fraktion in der RNS wachsender Bakterien nachzuweisen und ihre wichtigsten Eigenschaften zu beschreiben^[24]. Die Umstände, die zur Präzisierung des Begriffs „Messenger“ führten, sind an dieser Stelle bereits von *J. D. Watson* besprochen worden^[25].

Die genetische Aktivität und ihre Regulierung: Das Operon

Die Experimente zur Genübertragung bei der Konjugation führten zu einer Revision der Vorstellungen über die Informationsübertragung während der Proteinsynthese. Sie haben ebenfalls eine Analyse der Regulation dieser Synthesen ermöglicht.

Was uns sowohl beim Studium des Phagen bei den lyso-genen Bakterien als auch bei der enzymatischen Induktion auffiel, war die überraschende Analogie der Resultate, die mit beiden Systemen erhalten wurden. So verschieden die beiden Erscheinungen – die Produktion eines Virus und eines Enzyms – auch sind, so wurde es doch deutlich, daß in beiden Fällen die Proteinsynthese einem doppelten genetischen Determinismus gehorchen muß: Strukturgene determinieren die Konfiguration der Peptidketten, und Regulatorgene bestimmen die Aktivität der Strukturgene. Hier wie dort zeigten die Eigenschaften von Mutationen, daß ein Regulatorgen mit seinem cytoplasmatischen Produkt, dem Repressor, die Aktivität der Strukturgene blockiert. Die Induktion der Synthese eines Phagen wie auch eines Enzyms schien ähnlich zu verlaufen: Ein Hemmstoff wird gehemmt. So führten zu unserem Erstaunen die Erscheinungen, die an den beiden Enden des Korridors untersucht wurden, auf einen gemeinsamen fundamentalen Mechanismus. Diese Analogie war uns außerordentlich wertvoll. In der Biologie hat jedes Material seine Eigengesetzlichkeit und eignet sich gerade für spezielle Formen des Experimentierens. Eine Kombination zweier Untersuchungsobjekte sollte unsere analytischen Möglichkeiten vervielfachen. Die Existenz eines spezifischen Inhibitors, des Repressors, machte sofort eine Zusatzannahme nötig: Im Syn-

thesensystem für das Protein muß es eine Stelle geben, auf die der Repressor einwirkt, wenn er die Synthese blockiert. Der Repressor läßt sich mit einem chemischen Signal vergleichen, das vom Regulatorgen ausgesandt wird. Ein Signal braucht aber einen Empfänger. Dieser muß spezifisch, d. h., genetisch determiniert und deshalb auch Mutationen unterworfen sein. Im biosynthetischen System eines induzierbaren Enzyms muß jede Mutation, die einen Bestandteil des hemmenden Sender-Empfänger-Systems zerstört, zu einer konstitutiven Synthese führen.

Es schien zunächst schwierig, die Mutationen zu unterscheiden, die einerseits den Sender oder andererseits den Empfänger betrafen, bis wir erkannten, daß diese Unterscheidung bei einem Diploiden relativ einfach sein sollte. Unsere Gedankengänge lassen sich durch eine einfache Analogie verdeutlichen: Ein Haus habe zwei Türen, die beide durch einen Radioempfänger geöffnet und geschlossen werden können. Wir nehmen an, es gäbe in der Nachbarschaft zwei Sendestationen, die das gleiche Signal aussenden, welches das Öffnen der Türen verhindert. Wenn einer der Sender defekt ist, wird der andere Sender weiterhin das Signal aussenden, und die Türen bleiben geschlossen: Der defekte Sender ist gegenüber dem Normalzustand rezessiv. Wenn aber einer der Empfänger ausfällt, dann wird er nicht mehr das hemmende Signal empfangen können, und die Tür, die er kontrolliert – aber nur diese – wird sich öffnen. Dieser funktionsunfähige Empfänger ist daher gegenüber dem Normalzustand dominant, aber der Defekt tritt nur an der Tür auf, die von ihm kontrolliert wird: Es handelt sich – in der Sprache der Genetiker – um einen cis- und nicht um einen trans-Effekt (vgl. ^[26]).

So mußte es im Prinzip möglich sein, bei den konstitutiven Mutanten der diploiden Bakterien diejenigen zu unterscheiden, bei denen das Regulatorgen oder aber das Empfängergen betroffen ist. Tatsächlich sind beim Phagen bereits seit langem Mutationen isoliert worden, die dem einen oder dem anderen Fall entsprechen, aber ihre Bedeutung wurde erst im Lichte dieser Erkenntnis klar. Die Existenz solcher Mutationen beim Phagen ermutigte uns, nach ähnlichen Mutationen zu suchen, bei denen die Enzyme des Lactosesystems angegriffen wurden. Aber dazu brauchten wir diploide Bakterien. Die Konjugation erlaubte zwar die Herstellung kurzlebigster diploider Strukturen, diese Methode war jedoch delikat und ihre Untersuchung schwierig. Gerade rechtzeitig wurden Beobachtungen von *Edward Adelberg* bekannt, die darauf hindeuteten, daß das Geschlechtsepisom F, das für die Konjugation bei *E. coli* verantwortlich ist, unter gewissen Bedingungen ein Stückchen des Bakterienchromosoms mitnehmen und sich mit ihm replizieren kann^[27]. Unter Verwendung einer Reihe von Stämmen, bei denen dieser Geschlechtsepisom an verschiedenen Stellen des Bakterienchromosoms eingebaut worden war, gelang es uns, Episomen zu isolieren, die auch das benachbarte Chromosomenfragment enthielten. Die Bakterien, die ein solches Episom besaßen, wurden für ein kleines genetisches Segment stabile

[23] *S. Brenner, F. Jacob u. M. Meselson*, Nature (London) 190, 576 (1961).

[24] *F. Gros, W. Gilbert, H. Hiatt, C. G. Kurland, R. W. Risenbrough u. J. D. Watson*, Nature (London) 190, 581 (1961).

[25] *J. D. Watson*, Les Prix Nobel en 1962; Angew. Chem. 75, 439 (1963).

[26] *G. Pontecorvo*, Advances in Enzymol. 13, 121 (1952).

[27] *E. A. Adelberg u. S. N. Burns*, J. Bacteriol. 79, 321 (1960).

gebnisse sowohl genetischer^[32,35] als auch biochemischer Natur^[36], die darauf hinweisen, daß ein Operon einen einzigen Messenger bildet, der dann gemeinsam mit den Ribosomen alle Peptidketten synthetisiert, die von den verschiedenen Strukturgenen des Operons determiniert werden.

Das *E. coli*-Genom übt seine Wirkung demnach auf folgende Weise aus: Das genetische Material ist der Ausgangspunkt eines kontinuierlichen Stroms instabiler Messenger-Moleküle, die den Proteinfabriken der Ribosomen die Spezifität der zu synthetisierenden Proteine vorschreiben. Das genetische Material setzt sich aus Operons zusammen, die ein Gen oder mehrere Gene enthalten. Jedes Operon bildet einen Messenger. Die Synthese des Messengers durch das Operon wird auf irgendeine Weise durch einen Regelkreis gehemmt, der aus drei Gliedern besteht: Dem Regulatorgen, dem Repressor und dem Operator. Auf diesen Regelkreis wirken die spezifischen Metaboliten ein, welche die Rolle der Signale spielen: in den induzierbaren Systemen, um den Repressor zu inaktivieren und damit die Produktion des Messengers und der Proteine zu ermöglichen; in den reprimierbaren Systemen, um den Repressor zu aktivieren und damit die Produktion von Messenger und Protein zu unterdrücken. Nach diesem Schema ist nur ein Teil der Gene einer Zelle zu einem gegebenen Zeitpunkt aktiv, der Rest bleibt reprimiert. Genetisch determinierte Schaltkreise wählen zu jedem Zeitpunkt die DNS-Segmente aus, die auf den Messenger übertragen und damit in Proteine übersetzt werden. Sie antworten damit auf die chemischen Signale, die aus dem Cytoplasma und dem Milieu kommen.

Die Vorstellung, daß das genetische Material aus aneinandergereihten Operons besteht, deren Aktivität von einer bestimmten Stelle, dem Operator, reguliert wird, erlaubte eine präzise experimentelle Voraussage: Wenn eine Chromosomenumgruppierung Strukturgene von ihrem Operator trennt und sie einem anderen Operon, das von einem anderen Operator kontrolliert wird, zuordnet, dann müßte die Aktivität dieser Strukturgene einer neuen Regulation unterworfen sein. Bei manchen Mutationen werden Gene von ihrem Operator getrennt; sie befinden sich dann in einer unbekannten Region des Chromosoms unter dem Einfluß eines Regulationssystems, auf das man nicht einwirken kann^[37,38].

Erst kürzlich war es durch die Verwendung von *E. coli*-Bakterien mit diploider Lactose-Region möglich, eine Verschmelzung des Lactose-Operons mit einem bekannten anderen Operon zu erreichen^[39]. Leider kennt man nur eine begrenzte Zahl von Genen auf dem Bakterien-

chromosom, und noch kleiner ist die Zahl der Gene, deren Aktivität sich durch externe Metaboliten beeinflussen läßt. Eine Deletion, die zwei solcher Regionen zusammenbringt, kann für ein haploides Bakterium letal sein, weil möglicherweise ein Gen fehlt, das für das Wachstum oder die Teilung unerlässlich ist. Bei diploiden Bakterien konnte eine Reihe von Chromosomen mit Deletionen isoliert werden, die 50 bis 80 Gene betreffen. Diese Deletionen enden auf der einen Seite im Gen, das die Struktur der β -Galaktosidase determiniert, und auf der anderen Seite in verschiedenen Regionen des Chromosoms. Dieses andere Ende liegt bei einigen Deletionen in einem der beiden Cistrons, die zu einem Purin-Operon gehören, wobei das zweite Cistron unversehrt bleibt (Abb. 2).

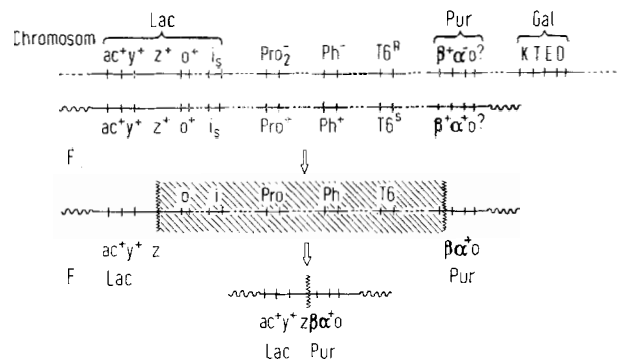


Abb. 2. Eine Deletion bei *E. coli*, die ein Fragment des Lactose-Operons mit einem Fragment eines Purin-Operons verschmilzt. Der obere Teil des Schemas repräsentiert die diploide Struktur des ursprünglichen Heterozygoten, eines Bakteriums, das ein Geschlechtssepisom beherbergt, welches durch Rekombination einen wichtigen Teil des Chromosoms inkorporiert hat. Die schraffierte Region darunter bedeutet den Abschnitt, der infolge einer Schädigung im Episom fehlt. Ganz unten folgt das Schema der Struktur, die durch die Deletion entstanden ist. Diese Deletion hat ein endständiges Fragment des z-Genes, das die Struktur der β -Galaktosidase determiniert, mit dem Anfangsfragment des Pur- β -Genes verbunden, das ein Enzym der Biosynthese der Purine determiniert. Damit ist ein neues Operon gebildet worden, welches aus den folgenden Genen besteht: 1. Dem Gen Pur-z, welches ein Protein für die Biosynthese der Purine determiniert; 2. einer Struktur aus einem Teil des Pur- β -Genes und einem Teil des Genes z, das wahrscheinlich eine hybride Peptidkette mit dem NH_2 -Ende der Pur- β -Sequenz und dem $COOH$ -Ende der z-Sequenz synthetisiert; 3. dem y-Gen, das die β -Galaktosid-Permease determiniert, und dem Ac-Gen, das die β -Galaktosid-Transacetylase determiniert. Die Aktivität dieses Operons wird durch Purine wahrscheinlich auf dem Niveau eines Purin-Operators reprimiert, der selbst auf einen Repressor anspricht, der spezifisch von Purinen aktiviert wird [39] (F = Geschlechtsfaktor; Ph = Phenylalanin; T 6 R und T 6 S = T₆-resistent bzw. T₆-sensitiv; K, T, E, O = Kinase, Transferase, Epimerase, Operator des Galaktose-Systems).

Bei diesen Mutanten ist, wie erwartet, die Synthese der beiden Proteine der Lactose-Region, deren Gene bei der Deletion intakt blieben, nicht mehr durch β -Galaktoside induzierbar, da die Deletion die beiden Einheiten zerstört hat, welche die spezifische Regulation des Lactose-systems determinieren: das Regulatorgen und den Operator. Doch die Synthese läßt sich jetzt durch Purine reprimieren. Das Fragment des Lactose-Operons muß sich daher mit dem Purin-Operon zu einem neuen Operon vereinigt haben, welches wahrscheinlich einen einzigen Messenger produziert, der die genetische Information für die Synthese der betreffenden Proteine enthält, sowohl derjenigen für die Biosynthese der Purine als auch der Enzyme für die Verwendung von Lactose. Das System, das die Synthese dieses Messengers reguliert, muß jedoch der Operator der Purinregion sein, der auf

[35] J. R. Beckwith in: Structure and Function of the Genetic Material. Akademie-Verlag, Berlin 1964, S. 119.

[36] G. Attardi, S. Naono, J. Rouvière, F. Jacob u. F. Gros, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 28, 363 (1963); B. Guttman u. A. Novick, ibid. 28, 373 (1963); R. G. Martin, ibid. 28, 357 (1963); S. Spiegelman u. M. Hayashi, ibid. 28, 161 (1963).

[37] B. N. Ames, P. Hartman u. F. Jacob, J. molecular Biol. 7, 23 (1963); A. Matsushiro, S. Kido, J. Ito, K. Sato u. F. Imamoto, Biochem. biophys. Res. Commun. 9, 204 (1962).

[38] F. Jacob, A. Ullmann u. J. Monod, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 258, 3125 (1964).

[39] F. Jacob, A. Ullmann u. J. Monod, J. molecular Biol. 13, 704 (1965).

einen Repressor anspricht, welcher von Purinen aktiviert wird.

Auf die gleiche Art wurden vor kurzem Chromosomen mit Deletionen isoliert, die das Lactose-Operon mit einem Operon verbinden, das die Biosynthese von Tryptophan bewirkt^[40]. Die Aktivität der noch intakten Gene des Lactose-Operons wird dann durch Tryptophan reprimierbar.

Die Art der Regulation, der die Gene unterworfen sind, die zu einem bestimmten Operon gehören, hängt daher ausschließlich vom Operator ab, d. h. von der Nucleotidsequenz am Anfang des Operons. So wird nicht nur die Natur des Regulationsmetaboliten, sondern auch die Art dieser Regulation – induzierbar oder reprimierbar – von der relativen Lage der Gene auf dem Chromosom bestimmt, nämlich von der Zugehörigkeit zu einem bestimmten Operator. Offenbar sind die für den Organismus günstigsten Zuordnungen durch Selektion entstanden.

Die polygenen Operons, die Einheiten der Funktion und Regulation, setzen die Existenz einer doppelten Interpunktion des Nucleotidtextes voraus. Eines dieser Satzzeichen muß die lange DNS-Kette des Chromosoms in Transkriptionsabschnitte zerlegen, die den Operons entsprechen: es muß der RNS-Polymerase nicht nur mitteilen, an einem bestimmten Ort mit der Übersetzung des Operons zu beginnen oder aufzuhören, sondern auch, welche der beiden DNS-Ketten kopiert werden soll. Unter gewissen Bedingungen kann man eine Transposition des ganzen Lactose-Operons in eine andere als die normale Stellung innerhalb des Chromosoms erreichen; dieser Einbau kann in beiden Richtungen erfolgen^[40]. Die 3'-5'-Polarität der DNS-Ketten fordert im Falle einer Inversion, daß die Sequenz, die der Messenger kopieren wird, nicht nur die Richtung, sondern auch die Kette wechselt (Abb. 3). Es scheint, als ob bei den

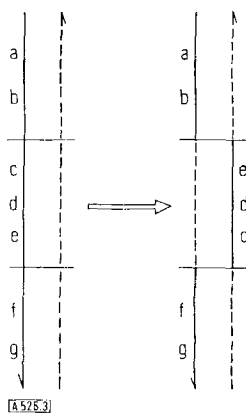


Abb. 3. Schema einer Inversion, bei der die Polarität und damit die Kette gewechselt wird.

geprüften Fällen die Funktion des Lactose-Operons von einer Inversion nicht beeinflußt wird. Man kann daher schließen, daß die genetische Information von *E. coli* nicht auf ein und dieselbe DNS-Kette beschränkt ist, daß ein genetisches Signal sowohl den Anfang des Operons als auch die Transkriptionsrichtung anzeigt, und daß ferner ein anderes Signal das Ende des Operons

[40] J. R. Beckwith u. E. Signer, unveröffentlicht.

markiert. Wenn zum Beispiel zwei Operons entgegengesetzter Polarität miteinander verbunden sind, könnte sich die Transkription des einen Operons in Abwesenheit eines Zeichens „Transkriptionsende“ eventuell am anderen Operon entlang auf der DNS-Kette fortsetzen, die normalerweise nicht kopiert sein soll.

Die zweite Interpunktionsart des Nucleotidtextes sollte es erlauben, während der Übersetzung den Messenger entsprechend den verschiedenen Genen des Operons in Abschnitte zu zerlegen, von denen jeder eine Peptidkette determiniert. Diese Interpunktion ist ein Signal für das Übersetzungssystem (Ribosomen, Transfer-RNS usw.) zur Festlegung des Amino-Anfangs und des Carboxyl-Endes jeder Peptidkette.

Im Lactosesystem von *E. coli* zeigt die Analyse einer Reihe von Deletionen, daß sich der Operator außerhalb des ersten Genes der bekannten Operonstruktur befindet^[41, 38], von dem es durch eine „Promotor“-Region getrennt ist, die für die Funktion des gesamten Operons unerlässlich ist^[37]. Wahrscheinlich ist der Promotor eines der Interpunktionszeichen der Transkription oder der Übersetzung. Der Operator selbst scheint nicht in eine Peptidkette übersetzt zu werden, aber man weiß noch nicht, ob der Messenger seine Sequenz kopiert, und ob der Repressor auf dem Niveau des Messengers oder der DNS wirkt (Abb. 4).

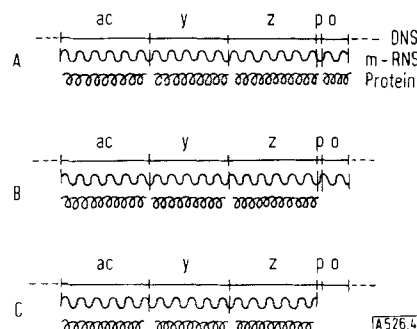


Abb. 4. Die drei möglichen Modelle für die Funktion eines Operators:

A: Der Operator (o) wird kopiert und in Protein übersetzt.

B: Der Operator wird kopiert, aber nicht übersetzt.

C: Der Operator wird weder kopiert noch übersetzt.

Selbstverständlich kann, je nachdem ob der Operator kopiert und übersetzt wird oder nicht, der Repressor auf dem Niveau des Proteins, des Messengers oder der DNS einwirken.

Es ist nicht möglich, hier im einzelnen auf die Experimente und auf die Hypothesen über den Wirkungsort des Repressors einzugehen^[20, 32, 42]. Die Ergebnisse^[43] deuten darauf hin, daß sowohl die Synthese des Messengers (5'-Phosphat-Ende) als auch die der ersten Peptidkette (NH₂-Ende) am Operator-Ende des Operons be-

[41] J. R. Beckwith, J. molecular Biol. 8, 427 (1964).

[42] L. Szilard, Proc. nat. Acad. Sci. USA 46, 277 (1960); G. S. Stent, Science (Washington) 144, 816 (1964); W. K. Maas u. E. McFall, Annu. Rev. Microbiol. 18, 95 (1964).

[43] R. L. Somerville u. C. Yanofsky, J. molecular Biol. 8, 616 (1964); G. Streisinger: Mendel Symposium on the Mutational Process, Prag 1965, im Druck; H. Bremer, M. W. Konrad, K. Gaines u. G. S. Stent, J. molecular Biol. 13, 540 (1965); F. Imamoto, N. Morikawa u. K. Sato, ibid. 13, 169 (1965); U. Maitra u. J. Hurwitz, Proc. nat. Acad. Sci. USA 54, 815 (1965); M. Salas, M. A. Smith, W. M. Stanley jr., A. J. Wahba u. S. Ochoa, J. biol. Chemistry, im Druck; R. E. Thach, M. A. Cecere, T. A. Sunarajan u. P. Doty, Proc. nat. Acad. Sci. USA 54, 1167 (1965).

ginnt. Die Hypothese, die sich am besten mit den Ergebnissen der genetischen Analyse und besonders mit den Untersuchungen der Deletionen verträgt, die verschiedene Segmente am Operator-Ende des Operons überbrücken, fordert, daß der Promotor das Interpunktionszeichen der Transkription ist, welches der RNS-Polymerase angibt, hier auf einer der Ketten mit der Synthese des Messengers für das Operon zu beginnen. Nach dieser Hypothese wird der Operator nicht auf den Messenger übertragen, und die Repression kann sich daher nur direkt auf dem Niveau der DNS abspielen. Das ist für den Genetiker die zur Zeit einleuchtendste Interpretation. Aber auch hier wird, wie üblich, der Chemiker das letzte Wort haben.

Die Organisation des genetischen Materials in der Bakterienzelle: Das Replicon

Die genetische Analyse hatte die Logik der Regelkreise offengelegt, die an der Regulation der Proteinsynthese beteiligt sind. Sie zeigte, daß diese Kreise aus Elementen bestehen, die in verschiedenster Weise zusammenwirken können, um den Erfordernissen der Zelle zu genügen. Analoge Regelkreise, die auf ähnlichen Prinzipien beruhen, waren auch bei anderen Regulationsvorgängen der Zelle zu erwarten, zum Beispiel bei der Replikation der DNS und der Koordination der Zellteilung mit der Replikation.

Auch bei der Replikation der DNS scheinen die beteiligten Systeme in der Zelle sehr viel genauer aufeinander eingestellt zu sein als in einem isolierten System im Reagensglas. Man kennt viele experimentelle Tatsachen zugunsten eines semikonservativen Replikationsmechanismus nach *Watsons* und *Cricks* Voraussagen auf Grund ihres Modells. Dank der Arbeiten von *Kornberg*^[44] und seinen Mitarbeitern kennt man ein Enzym, das Desoxyribonucleotide in einer Reihenfolge polymerisieren kann, die von der Sequenz einer Matrizen-DNS determiniert ist. Ein DNS-Fragment, das von einem Bakterium auf ein Rezeptorbakterium durch Transformation oder unvollständige Konjugation übertragen wird, ist aber im Gegensatz dazu unfähig, sich als solches zu replizieren. Es repliziert sich erst nach der Integration, d. h. nach der Rekombination mit einer der genetischen Strukturen, die im Wirtsbakterium bereits vorhanden sind.

In den Bakterien ist die DNS in sehr viel einfacheren Einheiten organisiert als in den Zellen höherer Organismen. Die grundlegende Information, die für das Wachstum und die Teilung einer Zelle notwendig ist, ist in einem einzigen Element aufgezeichnet, dem Bakterienchromosom. Andere, entbehrliche Elemente, wie die Episomen, können zusätzlich in die Bakterienzelle eingebracht werden^[16].

Man weiß jetzt, daß das am besten bekannte dieser genetischen Elemente, das Chromosom, in genetischer, struktureller und biochemischer Hinsicht als Einheit reagiert.

[44] A. Kornberg, Les Prix Nobel en 1959; Angew. Chem. 72, 231 (1960).

Diese Einheit scheint aus einer einzigen DNS-Doppelkette zu bestehen, die höchstwahrscheinlich geschlossen, d. h. ringförmig ist^[45]. Ihre Replikation beginnt anscheinend an einem bestimmten, strukturell festgelegten Punkt auf der Doppelkette, entlang der sie fortschreitet, bis sie am Ausgangspunkt endet^[45,46]. Unter normalen Wachstumsbedingungen kann ein neuer Replikationszyklus nicht beginnen, bevor der vorhergehende abgeschlossen ist^[47].

Die anderen, weniger gut bekannten genetischen Elemente der Bakterienzelle scheinen analoge Eigenschaften zu haben. Die genetische Ausrüstung eines Bakteriums setzt sich nach heutiger Ansicht aus diskreten Strukturelementen zusammen, die alle aus ringförmigen DNS-Molekülen verschiedener Länge bestehen.

Zusammen mit *Sydney Brenner* haben wir die Regulation der DNS-Synthese mit ähnlichen Regelkreisen zu erklären versucht, wie sie bei der Proteinbiosynthese gefunden wurden^[48]. Wir nahmen an, daß jedes genetische Element eine Replikationseinheit, ein „Replicon“, ist, welches einen Regelkreis determiniert, der seine eigene Replikation, koordiniert mit der Zellteilung, regelt. Diese Hypothese erlaubte drei Vorhersagen:

1. Wenn jedes Element genetische Determinanten enthält, die seine eigene Replikation regeln, dann müßte es möglich sein, Mutanten zu isolieren, bei denen dieser Regulationsmechanismus geschädigt ist. Tatsächlich lassen sich bei den drei untersuchten Elementen – Bakterienchromosom, Geschlechtsepisom und Phage – Mutationen erhalten, welche die Replikation des mutierten Elementes unterbinden, nicht aber diejenige der anderen Elemente^[49]. Die Art und die Eigenschaften dieser Mutationen lassen vermuten, daß dabei ein diffundierbares Produkt verändert wird, das auf ein Interpunktionszeichen des Replicons einwirkt, d. h. auf eine bestimmte Nucleotidsequenz, und damit den Beginn der Replikation auslöst. Ist die Reaktion einmal gestartet, dann wird die gesamte, an dieses Interpunktionszeichen anschließende Sequenz durch das System repliziert.

Hier jedoch scheint ein genetisch determinierter Regelkreis einzugreifen. Während bei der Proteinsynthese diese Regulation negativ, d. h. repressiv ist, scheint sich die Regulation bei der DNS-Synthese der Intervention eines positiven Elementes zu bedienen, d. h. eines Agens, das auf die DNS einwirkt, um die Replikation auszulösen.

2. Die Bakterienkonjugation kann nur dann verstanden werden, wenn das Geschlechtsepisom mit der Zellmembran des Bakteriums nahe der Durchtrittsstelle des männlichen Chromosoms während der Paarung ver-

[45] J. Cairns, J. molecular Biol. 6, 208 (1963).

[46] N. Sueoka u. H. Yoshikawa, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 28, 47 (1963); F. Bonhoeffer u. A. Gierer, molecular Biol. 7, 534 (1963).

[47] O. Maaløe, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 26, 45 (1961); R. H. Pritchard u. K. G. Lark, J. molecular Biol. 9, 288 (1964).

[48] F. Jacob, S. Brenner u. F. Cuzin, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. 28, 329 (1963).

[49] M. Kohiyama, H. Lanfrom, S. Brenner u. F. Jacob, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 257, 1979 (1963); F. Cuzin u. F. Jacob, 11th internat. Congress Genetics, La Hague, 1, 40 (1963); F. Jacob, C. Fuerst u. E. L. Wollman, Ann. Inst. Pasteur 93, 724 (1957).

bunden ist. Auf Grund einer Hypothese, welche die Segregation der DNS nach der Verdoppelung und die Verteilung der beiden Kopien auf die Tochterzellen am einfachsten erklärt, sind alle zellulären Replicons mit der Bakterienmembran verbunden. Die Synthese dieser Membran zwischen den Haftpunkten der beiden neu-gebildeten Kopien gewährleistet dann eine geregelte Segregation.

Das Studium der Kernkörper von *B. subtilis* mit dem Elektronenmikroskop durch A. Ryter schien diese Annahme zu bestätigen^[50]. Jeder dieser Kernkörper ist anscheinend mit einem Mesosom verknüpft, einer Struktur, die durch Einbuchtungen der Membran gebildet wird (Abb. 5 und 6). Man kann durch Markierung der Membran mit einem Tellursalz feststellen, daß

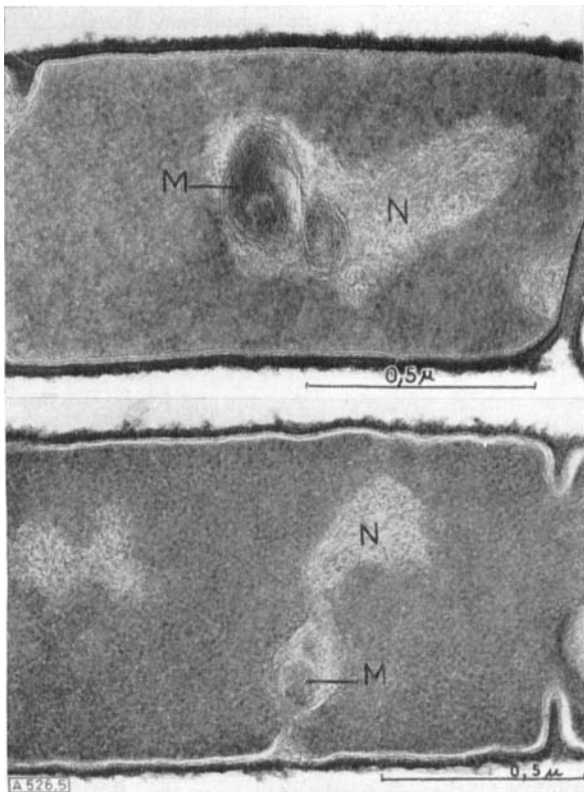


Abb. 5. Querschnitt einer *B. subtilis*-Zelle. Der Kernkörper (N) ist mit der Membran durch ein Mesosom (M) verbunden [50].

ihre Synthese nicht gleichmäßig an der gesamten Oberfläche des Bakteriums vor sich geht, sondern nur in ganz bestimmten Bereichen im Umkreis der Haftstellen der Kernkörper. Das Wachstum der Membran scheint also die Segregation der DNS-Elemente nach der Replikation zu verursachen. Schließlich konnte François Cuzin nachweisen, daß beim Wachstum zwei unabhängige Replicons, wie zum Beispiel das Chromosom und der Geschlechtsfaktor, nicht unabhängig segregieren, sondern während der Bakterienvermehrung zusammenbleiben^[51]. Wahrscheinlich ist jede dieser Strukturen an das gleiche Element, vermutlich an ein Membranfragment, gebunden. Dieses Fragment bliebe während des Wachstums und der Bakterienvermehrung intakt und

[50] A. Ryter u. F. Jacob, Ann. Inst. Pasteur 107, 384 (1964).

[51] F. Cuzin u. F. Jacob, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 260, 5411 (1965).

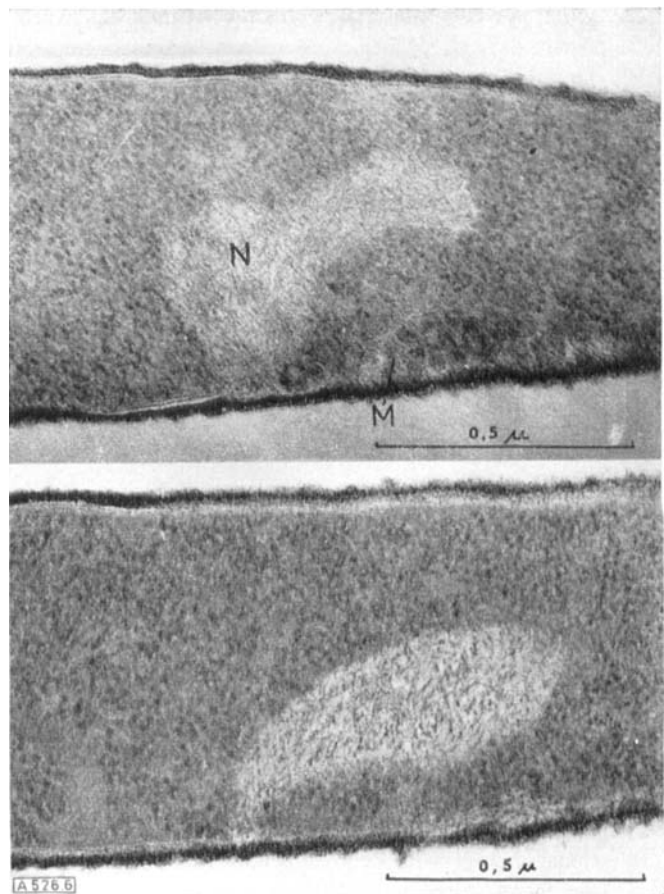


Abb. 6. Querschnitt einer *B. subtilis*-Zelle, die 30 min in eine 0,5 M Saccharoselösung gelegt wurde. Die Mesosomen sind aus dem Cytoplasma herausgetrieben worden. Sie nahmen dabei die Kernkörper (N) mit, die jetzt direkt mit der Membran verbunden erscheinen [50].

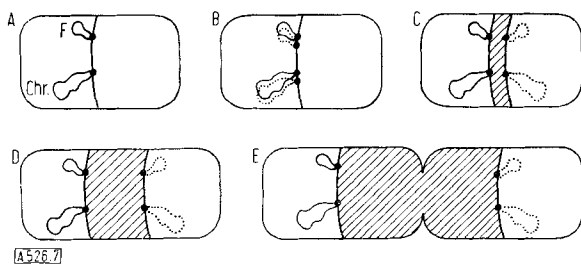
stellte damit die wahre Einheit der Segregation dar, d. h. es wäre das Äquivalent eines Chromosoms bei einem höheren Organismus.

3. Um die Koordination zwischen der Replikation der DNS und dem Wachstum zu erklären, dem die Teilung des Bakteriums folgt, muß man annehmen, daß sich die Replikation und ihre Regulation in der Membran abspielen. Die Konjugationsphänomene deuten an, daß wahrscheinlich eine Oberflächenreaktion während der Aneinanderlagerung von männlicher und weiblicher Zelle einen Replikationszyklus beim männlichen Partner auslöst. Eine der daraufhin synthetisierten Strukturen bleibt dabei in der männlichen Zelle, während die andere mit der gleichen Geschwindigkeit, mit der sie entsteht, in die weibliche Zelle injiziert wird^[52]. Außerdem wird die Auffassung, daß die Synthese der DNS in der Membran stattfindet, auch durch neuere biochemische Ergebnisse gestützt^[53].

Die genetische Ausrüstung eines Bakteriums müßte demnach in Form zyklischer DNS-Moleküle vorliegen, die unabhängige Replikationseinheiten sind. Diese Einheiten sollten alle am gleichen Membranfragment haften, das ihre Replikation in Koordination mit dem Wachstum durch Regelkreise steuert (Abb. 7).

[52] L. G. Caro u. J. D. Gross, Science (Washington), im Druck; M. Ptashne, J. molecular Biol. 11, 829 (1965); A. A. Blinkova, S. E. Bresler u. V. A. Lanzov, Z. Vererbungslehre 96, 267 (1965).

[53] A. T. Ganesan u. J. Lederberg, Biochem. biophysic. Res. Commun. 18, 824 (1965).



[A 526 7]

Abb. 7. Schema der DNS-Replikation bei Bakterien. Das hier dargestellte Bakterium besitzt zwei Replicons, das Chromosom (Chr.) und das Geschlechtsepisom (F), die beide an zwei bestimmten Haftstellen mit der Membran verbunden sind. Während des Teilungszyklus übermittelt die Membran jedem Replicon ein Signal, das den Beginn der Replikation auslöst. Die Replikation schreitet linear fort, wobei jedes Replicon sich langsam durch die Membran hindurchdreht, in der man den Enzymkomplex für die Replikation vermutet. Aus jedem Replicon bilden sich so zwei neue Exemplare, die nebeneinander an der Membran haften bleiben. Man nimmt nun an, daß die Membran zwischen den Haftstellen der beiden Exemplare jedes Replicons wächst. Zwischen ihnen bildet sich dann das Septum aus. Ein neuer Replikationszyklus ist erst gestattet, wenn die Membran nach der Wiederherstellung des Ausgangszustandes am Ende der Zellteilung ein neues Signal aussendet. Dieser Vorgang ist hier vereinfacht dargestellt, denn die Bakterien haben normalerweise zwei bis vier Kernkörper und nicht nur einen oder zwei, und die DNS-Replikation hat gegenüber der Zellteilung einen Vorsprung von einem Zyklus. Außerdem wurde hier angenommen, daß jedes Stadium beendet sein muß, bevor das nächste beginnen kann [48].

Die grundlegende genetische Information wäre in der längsten dieser Einheiten niedergelegt, doch könnte zusätzliche Information durch Befestigung anderer Replicons an der Membran zur Verfügung gestellt werden. Es scheint, daß eine der wichtigen Etappen beim Übergang der zellulären Organisation eines Prokarioten in die eines Eukarioten die Einbuchtung (Invagination) der Membranstruktur war, die dann zur Differenzierung in spezielle Organellen führte, z. B. in die Mitochondrien und in den genetischen Apparat, deren Funktionen am Anfang der Bakterienmembran zugefallen waren.

Es ist bemerkenswert, daß der Membran auf Grund des Studiums der Bakterienzelle eine solch wichtige Rolle bei der Koordination von Wachstum und Zellteilung zugesprochen wird, denn eine ähnliche Schlußfolgerung ergibt sich beim Studium der Zellen höherer Organismen. Bei den höheren Organismen muß die Zelloberfläche auch noch die Zellvermehrung kontrollieren. Signale, die von der Oberfläche kommen, werden auf den Kern übertragen, wie es zum Beispiel die morphogenetischen Prozesse oder die Kontaktphänomene zwischen den Zellen beweisen. Trotz der augenscheinlichen Kompliziertheit einer solchen Zelle im Vergleich zu einem Bakterium kann man erkennen, daß das molekulare Kommunikationssystem zwischen Zelloberfläche und DNS die Evolution überdauert hat.

Zusammenfassung

Die beiden chemischen Aktivitäten der DNS, die Transkription, d. h. die Übertragung einer einzigen Kette in eine Ribonucleinsäuresequenz, und die Replikation, d. h. die Kopie der beiden Ketten in eine Desoxyribonucleinsäuresequenz, sind einem System spezifischer molekularer Wechselwirkungen unterworfen, die von Genen determiniert werden. Die Information des genetischen Materials enthält demnach nicht nur die Pläne für die

Zellarchitektur, sondern auch ein Programm, das die Synthesen wie auch die Mittel dazu koordiniert.

Einer der wichtigsten Beiträge der Mikrobengenetik ist vielleicht die definitive Antwort auf das alte Problem der Beziehungen zwischen Genen und Cytoplasma, zwischen Vererbung und Umwelt. Daß erworbene Eigenschaften nicht durch Vererbung weitergegeben werden, konnte schon die klassische Genetik beweisen; die Erklärung dafür liefert die Art der Nucleinsäureinformation und des genetischen Codes. Die Aktivität des genetischen Materials selbst ist aber äußeren Einflüssen unterworfen. Noch vor zehn Jahren schien es wahrscheinlich, daß spezifische Verbindungen z. B. bei der induzierten Biosynthese von Enzymen oder Antikörpern die Konfiguration und damit die Eigenschaften der Proteine während ihrer Synthese beeinflussen. Das Milieu schien auf die Gene eine „didaktische Wirkung“ (nach dem Ausdruck von Lederberg^[54]) auszuüben und damit den Sinn des genetischen Textes zu modulieren. Das Studium der Regelkreise zeigte, daß die fraglichen Verbindungen nur stimulierend wirken. Sie geben ein Signal für die Auslösung einer Synthese, deren Mechanismus und deren Endprodukt vollständig von der Nucleotidsequenz der DNS determiniert werden. Vergleicht man die Information der Nucleinsäuren mit dem Text eines Buches, dann bestimmt das Regulationsystem die Seiten, die zu einer bestimmten Zeit gelesen werden sollen. Bei der Manifestierung der Nucleotid-Information wie auch bei ihrer Reproduktion erfolgt die Adaptation nicht auf Grund eines didaktischen, sondern auf Grund eines Auswahl-effektes des Milieus.

Die genetische Analyse kann nur die Existenz von Regulationsmechanismen feststellen. Benötigt wird jetzt eine chemische Analyse, welche die spezifischen molekularen Reaktionen erklären muß. Es ist noch kein Repressor isoliert worden. Die Art des Komplexes, die er mit dem Operator oder einem Metaboliten bilden soll, ist so vollständig unbekannt. Wir wissen nicht, wie sich die Moleküle finden, erkennen und vereinigen, um solche Regelkreise zu ermöglichen oder um die Strukturen der Zelle zu bilden, wie die Membran, ein Mitochondrion, ein Chromosom. Wir wissen nicht, wie sie die Signale übermitteln, welche die Aktivität ihrer Partner modifizieren. Unübersehbar hingegen ist die Tatsache, daß die Probleme der Biologie und Genetik der Zelle in Zukunft immer stärker auf biochemischem und physikalisch-chemischem Gebiet liegen werden.

Nur die Zusammenarbeit einer sehr großen Zahl von Kollegen ermöglichte die hier beschriebenen Untersuchungen. Ich möchte allen Mitarbeitern danken, doch kann ich ihre Namen hier nicht aufzählen. Diese Arbeiten sind nacheinander vom Centre National de la Recherche Scientifique, der Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique, dem Commissariat à l'Energie atomique, der Fondation pour la Recherche médicale française, dem Jane Coffin Childs Memorial Fund und der National Science Foundation unterstützt worden.

Eingegangen am 3. Februar 1966 [A 526]
Übersetzt von Dr. G. Scheuerbrandt, München

[54] J. Lederberg, J. cellular comparat. Physiol., Suppl. 1, 52, 398 (1958).