

# ANGEWANDTE CHEMIE

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

84. JAHRGANG 1972

HEFT 1

SEITE 1-40

## Signalwandler: terra incognita der Molekularbiologie<sup>[\*\*]</sup>

Von Max Delbrück<sup>[\*]</sup>

In dieser Arbeit werden vier Beispiele von Signalwandlung in der Biologie behandelt. Sie reichen von einem Fall, den wir im molekularen Detail verstehen (genetische Induktion) über zwei Fälle, in denen sich der Nebel zu klären scheint (Sehorgang beim Wirbeltier, bakterielle Chemotaxis), bis zu einem Fall, in dem wir immer noch damit beschäftigt sind, die Teilnehmer des Spieles zu identifizieren (Ausweichreaktion des Pilzes *Phycomyces*). – Zwar sind die meisten der hier mitgeteilten Fakten nicht absolut neu, aber ihre Zusammenschau ist vielleicht unkonventionell und mindestens insofern von Interesse, als sie ein vielversprechendes Forschungsthema erkennen läßt. Ohne Zweifel werden moderne Vorstellungen und Techniken der Chemie und Physik in diesem Grenzbereich zwischen mehreren Gebieten eine große Rolle spielen, und ähnlich groß werden die Anforderungen an die Phantasie und die Vielseitigkeit des Forschenden sein.

### 1. Das Lactose-Operon

Zellen von *Escherichia coli* reagieren auf die Zugabe von Lactose zu ihrem Nährmedium innerhalb von Sekunden, indem sie die Produktion des Enzyms  $\beta$ -Galaktosidase steigern. Dieses Enzym spaltet das Disaccharid Lactose in Glucose und Galaktose.

Das Signal ist die Lactose, die schließliche Reaktion besteht in der Produktion des Enzyms. In diesem Fall wird die Synthese des Proteins auf dem DNS-Niveau reguliert: Das Signal verursacht die vermehrte Transkription des Gens, das das Enzym codiert. Man sagt: Die Synthese der entsprechenden m-RNS wird durch das Substrat *induziert*. Wie ist das Signal in der Lage, diesen Effekt auszulösen? Es wirkt, indem es ein physikalisches Hindernis der Transkription, den Repressor, entfernt (Abbildung 1). Das ist ein beachtlicher Trick und überraschenderweise einer, der sich physikalisch und chemisch in voller Klarheit verstehen läßt. Wenigstens einmal hat uns hier das wachsende Verständnis für ein biologisches Problem nicht zu einer Konfrontation mit noch dunkleren Problemen geführt.

Wir wollen den Repressor etwas näher betrachten, der ein chemisches Signal aus der Umgebung in die Transkription der DNS wandelt.

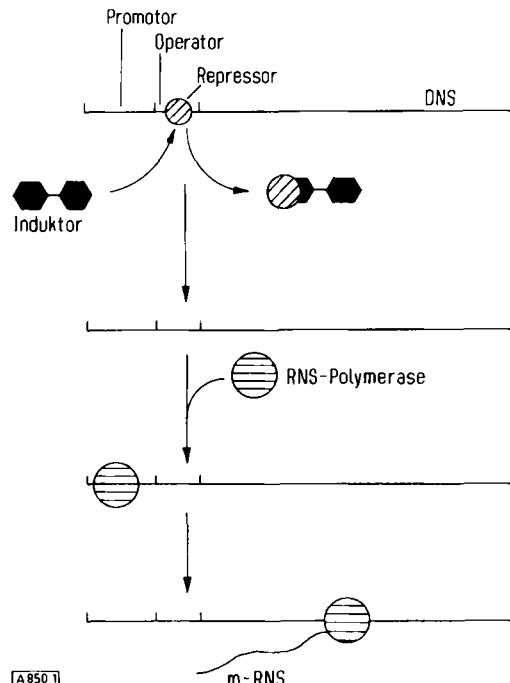


Abb. 1. Derepression des Lactose-Operons. Das Lactose-Operon ist ein Stück DNS des Bakteriums *E. coli*. Es codiert drei Proteine. Bevor die in der DNS codierte Information gelesen, d. h. durch RNS-Polymerase in messenger-RNS transkribiert werden kann, muß ein Hindernis, der Repressor, entfernt werden. Der Repressor sitzt an dem als Operator bezeichneten Bereich des Operons. Die Polymerase kann mit der Transkription nur am Promotor beginnen, der links vom Operator liegt. Sie ist daran gehindert, wenn ihr Weg durch den Repressor blockiert wird. Der Induktor, Lactose, vereinigt sich mit dem Repressor, wodurch dieser von der DNS dissoziiert und der Weg für die Transkription frei wird.

[\*] Prof. Max Delbrück  
Division of Biology  
California Institute of Technology  
Pasadena, California 91109 (USA)

[\*\*] Nach einem Festvortrag bei der Hauptversammlung der Gesellschaft Deutscher Chemiker am 15. September 1971 in Karlsruhe.

Der Lactose-Repressor<sup>[1]</sup> ist ein Protein, ein aus vier gleichen Untereinheiten der relativen Molekulmasse 35000 bestehendes Tetramer. Es bindet sich an die Operator-Region des Lactose-Operons. Dieses wiederum ist ein etwa 5000 Basenpaare langes DNS-Stück im Chromosom von *E. coli*. Das Lactose-Operon codiert drei Proteine, von denen eines das Enzym  $\beta$ -Galaktosidase ist. Die Operator-Region ist ein sehr kurzes DNS-Stück (12 bis 15 Basenpaare lang) und sitzt an dem Ende des Operons, an dem die Transkription beginnt. Der Repressor erkennt dieses kurze DNS-Stück mit hoher Spezifität (Abbildung 2): Der Repressor hat einen Durchmesser von etwa 30 Å, während

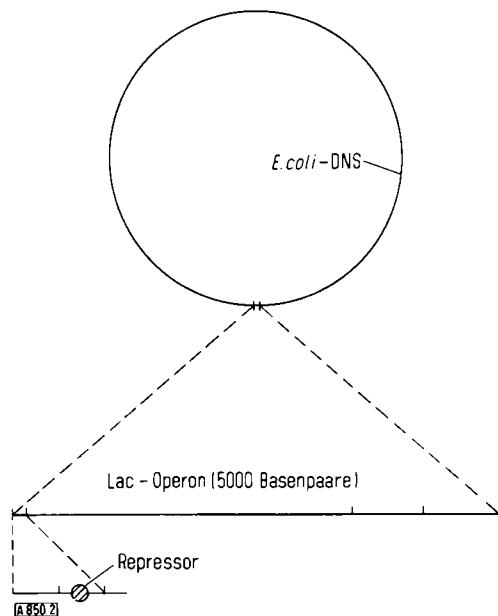


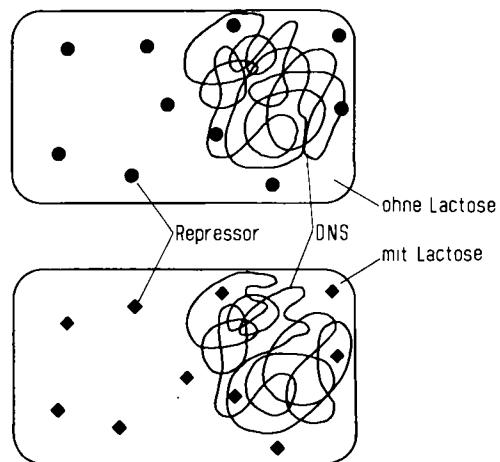
Abb. 2. Größenverhältnisse genetischer Komponenten. In der oberen Hälfte des Diagramms veranschaulicht der Kreis das bakterielle Chromosom, der kleine Ausschnitt unten am Kreis das Lactose-Operon. Im unteren Teil des Diagramms ist das Lactose-Operon über die ganze Breite des Bildes vergrößert worden. Jetzt zeigen die kleinen Abschnitte am linken Ende die Bereiche von Promotor und Operator.

das Chromosom 500000-mal so lang ist. Die Festigkeit der Bindung zwischen Repressor und Operator ist groß, hat aber einen endlichen Wert. Die Dissoziationskonstante in vivo lässt sich abschätzen und im Reagensglas messen. Ihr Wert in vivo beträgt  $10^{-11}$  M. In der einzelnen Zelle befinden sich nur zehn Repressormoleküle (was einer Konzentration von  $10^{-8}$  M entspricht), und dennoch genügt diese kleine Zahl, um den Operator im zeitlichen Mittel zu 99.9% zu blockieren, wenn kein Repressor durch unspezifische Adsorption verlorengingeht.

Man kennt aber nicht nur die Dissoziationskonstante, sondern auch ihre Komponenten, die Geschwindigkeitskonstanten der Assoziation und der Dissoziation. Die Dissoziation des Operator-Repressor-Komplexes dauert Minuten, die Assoziation verläuft schneller als diffusionskontrolliert. Das klingt zunächst paradox. Wie können Operator und Repressor schneller zusammenkommen als durch Diffusion? Die Antwort ist indessen einfach: Der Repressor findet sein Ziel durch eine „Verminderung der Dimensionalität“. Er adsorbiert zunächst unspezifisch an irgend einer Stelle der DNS in der Nähe des Operators. Diese Adsorption ist fest genug, um eine Weile zu halten, anderer-

seits aber auch lose genug, um dem Repressor die eindimensionale Diffusion längs der DNS-Oberfläche zu ermöglichen. Dieses Prinzip der Annäherung an ein spezifisches Ziel verwendet die Zelle vermutlich in vielen Situationen<sup>[2]</sup>.

Auch der Induktor, die Lactose, tritt (wie viele seiner chemischen Analoga) mit dem Repressor in Wechselwirkung. Die Bindungsstellen des Repressors für Lactose und den Operator sind verschieden, die beiden Liganden stören einander also nicht. Auch Lactose wird fest an den Repressor gebunden (die Dissoziationskonstante beträgt etwa  $10^{-6}$  M), aber nicht annähernd so fest wie der Operator. Der entscheidende Trick bei der Signalwandlung besteht in einer strukturellen Änderung des Repressors durch die Bindung mit der Lactose (Abbildung 3). Diese Änderung hat zur Folge, daß die Dissoziationskonstante zwischen Repressor und Operator um den Faktor 20000 von  $10^{-11}$  M auf  $2 \times 10^{-7}$  M ansteigt, wodurch sich das



	Dissoziationskonstante Repressor-Operator (mol/Liter)	Blockierung des Operators (%)
ohne Lactose	$10^{-11}$	99.9
mit Lactose	$2 \times 10^{-7}$	5

Abb. 3. Chemische Gleichgewichte zwischen Chromosom, Repressor und Induktor. Die Bakterienzelle enthält ein Chromosom (oder zwei) mit einem Lactose-Operon und einem Operator-Bereich. Außerdem enthält sie etwa zehn Repressor-Moleküle. In Abwesenheit von Lactose ist der Operator im Zeitmittel zu 99.9% blockiert. In Anwesenheit einer geringen Lactose-Konzentration ist er nur zu 5% blockiert.

Gleichgewicht von nahezu vollständiger Blockade zu fast völliger Freisetzung des Operators verschiebt.

Es gibt eine Unzahl anderer biochemischer Regulationsysteme auf zellulärem und subzellulärem Niveau. Zu den überraschendsten gehören vielleicht die, in denen cyclisches AMP eine Rolle spielt. Eines von diesen steuert durch ein Steroidhormon über das in der Zellmembran befindliche Enzym Adenylcyclase, über cyclisches AMP als intrazellulären Signalwandler und schließlich über eine Protein-kinase den Kohlenhydrat-Stoffwechsel<sup>[3,4]</sup>. Viele solche Regulationssysteme werden gegenwärtig untersucht, aber das Lac-Repressor-System ist bisher das einzige, in dem

wir ohne eine Lücke alle Schritte kennen, die vom Signal aus der Umgebung zum Gen und zurück zur Wirkung auf die Umgebung (zur Lactose-Spaltung) führen<sup>[\*]</sup>.

## 2. Der Sehvorgang

Wir wenden uns nun unserem zweiten Fall zu, dem Sehvorgang bei Wirbeltieren. Hier ist Licht das Signal, und seine schließliche Wirkung ist definitionsgemäß das „Sehen“, das heißt, ein psychischer Effekt, an dem das Bewußtsein beteiligt ist. Der Sehvorgang überspannt also den breiten Abgrund zwischen Außenwelt und Bewußtsein, vor dem die Wissenschaft heute noch so ratlos steht wie zu Zeiten von *Descartes*, der den Sprachgebrauch festlegte, der uns immer noch wie eine Zwangsjacke anlegt. Vielleicht aber ist die Zeit nicht weit, die uns dank intensiver experimenteller Forschungen in der Psychobiologie zur Entwicklung einer angemessenen rationellen Sprache zwingt.

Ich möchte mich hier auf ein scheinbar kleines Teilproblem beschränken. Wir lassen Psyche, Hirn, Auge und sogar den größten Teil der Retina außer acht und richten unsere Aufmerksamkeit auf die Rezeptorzellen, und zwar insbesondere auf die für das Dämmerungssehen, die man Stäbchen nennt. (Einen allgemeinen Überblick über die Struktur der Rezeptorzellen findet man bei *Thurm*<sup>[7]</sup>.) Diese bemerkenswerten Signalwandler wirken als Quantenzähler. Sie wandeln die Absorption eines einzelnen Lichtquants in ein Signal um, das sie zur Synapse mit der nächsten Zelle (einer bipolaren Nervenzelle) weiterleiten. In der Synapse wird der durch ein einzelnes Quant hervorgerufene Effekt ausreichend verstärkt, um ein erkennbares Signal zu erzeugen<sup>[12]</sup>.

Der Primärprozeß spielt sich im äußeren Segment des Stäbchens ab, einer spezialisierten Struktur, die – umhüllt durch die Zellmembran – aussieht, als bestünde sie aus einem Stapel mehrerer tausend flacher Membransäckchen, ganz ähnlich (unter dem Elektronenmikroskop, Abbildung 4) wie die Stapel von Säckchen in den Chloroplasten höherer Pflanzen. In beiden Fällen sind die Stapel von Membransäckchen darauf spezialisiert, einen großen Teil des einfallenden Lichtes zu absorbieren und dies mit einem hohen Wirkungsgrad zu tun. Entsprechend sind sie in beiden Fällen mit Pigmenten vollgepackt, die das Licht der gewünschten Wellenlänge absorbieren. In den Stäbchen ist Rhodopsin ( $\lambda_{\text{max}} = 500 \text{ nm}$ ) das Pigment, in den Chloroplasten ist es Chlorophyll mit  $\lambda_{\text{max}} = 420$  und  $680 \text{ nm}$ .

Der Zweck der Lichtabsorption ist jedoch in beiden Fällen radikal verschieden. In den Chloroplasten ist die maximale Erhaltung freier Energie das Gebot: Die Natur verwandelt die freie Energie des Lichtes in freie Energie von Kohlenhydraten. In den Stäbchen der Retina geht es nicht um die Erhaltung der freien Energie: Wir wollen das Licht „sehen“. Die freie Energie des Lichtes dient lediglich dazu, einen sehr viel größeren Energievorrat, der vom allgemeinen Stoffwechsel geliefert wird, in eine bestimmte

[\*] Das Lactose-Operon wird nicht nur, wie hier beschrieben, durch den Repressor reguliert, sondern außerdem durch ein zweites Protein, das es mit dem Katabolismus verknüpft. Die Bindung dieses zweiten Proteins an die Operator-DNS wird durch cyclisches AMP reguliert [5, 6].

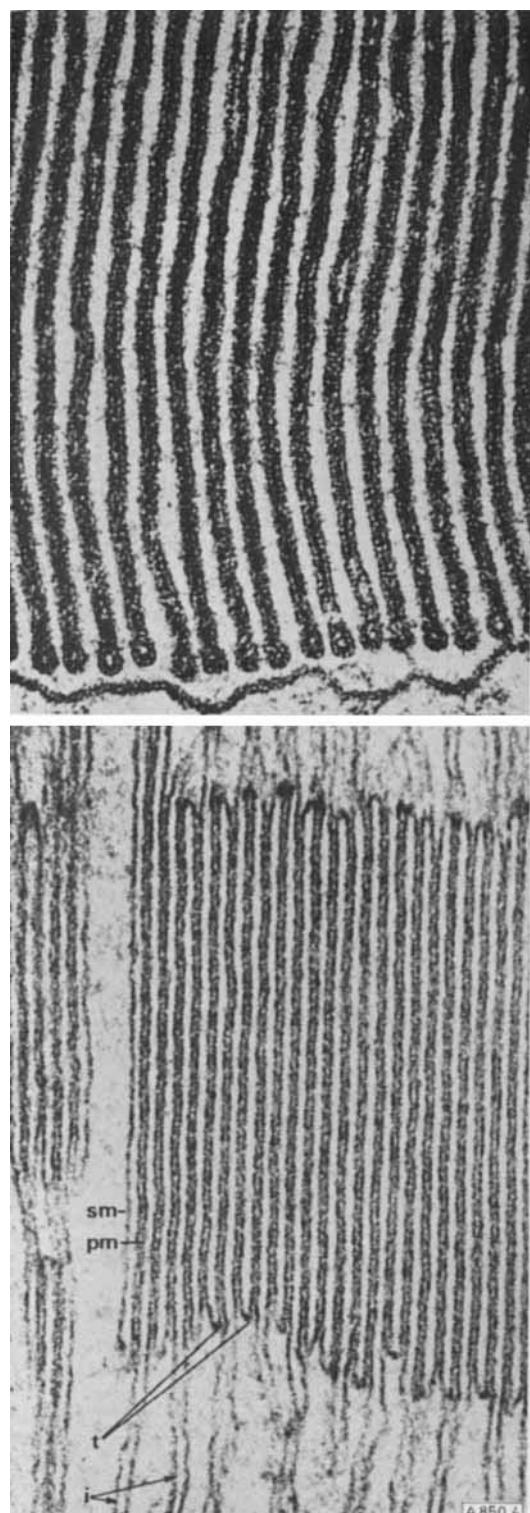


Abb. 4. Einzelheiten des äußeren Segmentes eines Stäbchens der Netzhaut (oben) und eines Chloroplasten (unten). Hier handelt es sich um spezialisierte Gebiete spezieller Zellen aus Wirbeltieren bzw. höheren Pflanzen. Beide reagieren mit Licht: die Stäbchenzelle zum Zweck des Sehens, der Chloroplast zur Photosynthese. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen [24] von fixierten, gefärbten und quergeschnittenen Präparaten zeigen, daß die Ultrastrukturen beider Zellarten bemerkenswert ähnlich sind.

Richtung zu lenken. Trotz dieses schließlichen Unterschiedes sind die Bedingungen für den Primärprozeß ähnlich: In keinem der beiden Fälle ist eine geringe Lichtabsorption oder eine geringe Quantenausbeute der photochemischen Primärreaktion zulässig.

Man nahm früher an, daß im Chloroplasten zusätzlich die Notwendigkeit besteht, etwa acht primäre Photoprodukte zusammenzubringen, um ein Molekül  $\text{CO}_2$  zu reduzieren, und daß dies in verhältnismäßig kurzer Zeit geschehen müßte, selbst in schwachem Licht, in dem die Absorptionsakte selten sind und zeitlich weit auseinanderliegen. Wir wissen heute, daß dieses Problem zum Teil dadurch gelöst wird, daß die aufgenommene Energie in der Zwischenzeit chemisch in Form von ATP und NADPH gespeichert werden kann. Indessen ist zur Erzeugung dieser Zwischenprodukte eine Maschinerie erforderlich, deren Größe ein einzelnes Chlorophyllmolekül bei weitem übertrifft. Es wäre unwirtschaftlich, jedes Chlorophyllmolekül mit einem eigenen Apparat dieser Größe zu verbinden. Die Natur hat vielmehr photosynthetische Einheiten konstruiert, das heißt, Gebilde aus mehreren hundert Chlorophyllmolekülen, die als Sammelantennen für Reaktionszentren dienen, in denen sich wenige spezialisierte Chlorophyllmoleküle befinden. Die aufgenommene Lichtenergie wird an diese Reaktionszentren durch Excitonen-Leitung weitergegeben<sup>[8]</sup> (Abbildung 5). Die überwiegende Mehrheit der

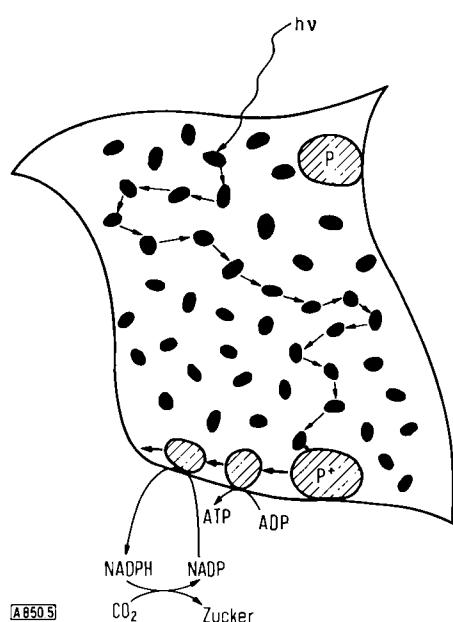


Abb. 5. Die photosynthetische Einheit. Sie dient als „Antenne“ für ein „Reaktionszentrum“, das einige spezialisierte Chlorophyllmoleküle enthält. Ein von den Chlorophyllmolekülen der Antenne absorbiertes Lichtquant gelangt durch Excitonen-Leitung zum Reaktionszentrum P, wo seine Energie zur Synthese von ATP oder zur Reduktion von NADP verwendet wird. Diese Substanzen wiederum bewirken die Reduktion von  $\text{CO}_2$  zu Zucker bei gleichzeitiger Freisetzung von Sauerstoff. Ob die  $10^8$  Moleküle Sehpigment, die sich im äußeren Segment eines Stäbchens befinden, zu einer sehr großen Zahl analoger „Antennen“ organisiert sind, von denen aus Reaktionszentren am Rand der Organelle durch Excitonen-Leitung versorgt werden, ist eine offene Frage.

Chlorophyllmoleküle in einem Chloroplasten beteiligt sich also nie an einer photochemischen Reaktion. Selbst die spezialisierten Chlorophyllmoleküle in den Reaktionszentren werden nur vorübergehend oxidiert. Ihre Rückreduktion folgt so schnell (innerhalb Mikrosekunden), daß es erst kürzlich überhaupt möglich gewesen ist, das intermediär auftretende Radikal mit Hilfe raffinierter ESR-Messungen als Chlorophyllradikal zu identifizieren<sup>[9]</sup>.

Findet auch in den Membransäckchen der Stäbchen in der Retina eine solche Excitonen-Leitung zu spezialisierten Zentren statt? Anscheinend nicht, denn es gibt überzeugende Beweise dafür, daß jedes absorbierende Rhodopsin-Molekül ein *potentielles* Reaktionszentrum ist und einer Reihe chemischer Veränderungen unterliegen kann, die mit der Ablösung des Chromophors von seinem Proteinträger enden. Allerdings schließen die bisherigen Untersuchungen nicht aus, daß bei physiologischen Lichtintensitäten doch eine Excitonen-Leitung zu spezialisierten Reaktionszentren auftritt und den entscheidenden physiologischen Vorgang der Signalwandlung bildet. Dieser Möglichkeit ist bisher zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt worden.

Der Chromophor der Stäbchen ist das Retinal, ein  $\text{C}_{20}$ -Aldehyd vom Polyisoprenotyp, der kovalent als Schiff-Base an die  $\epsilon$ -Aminogruppe eines Lysin-Restes im Opsin, dem Trägerprotein, gebunden ist<sup>[10, 11]</sup>. Die Absorption eines Lichtquants hat eine Reihe chemischer Veränderungen zur Folge, die bisher nur unvollständig und unzureichend durch die Beobachtung spektroskopischer Veränderungen und von Lebensdauern bei verschiedenen Temperaturen charakterisiert worden sind. Die Kette der Ereignisse endet – wenigstens im Fall des isolierten Rhodopsins – mit der Isomerisierung des 11-cis-Retinals zum all-trans-Retinal und der hydrolytischen Spaltung der Schiff-Base.

Wir wissen also wenigstens, an welcher Stelle das Licht in das Spiel eintritt, aber danach stehen wir vor zwei bedeutenden, ungelösten Problemen:

1. Wie wird das Signal vom photochemischen Schritt zum nächsten bekannten Ereignis gewandelt?
2. Wie wird das Rhodopsin regeneriert?

Bezüglich der ersten Schritte der Signalwandlung gibt es einige wichtige Befunde<sup>[12]</sup>. Durch aufwendige und klug erdachte extrazelluläre Potentialmessungen ließ sich zeigen, daß die Stäbchenzelle einen verhältnismäßig kräftigen Dunkelstrom von etwa 70 pA unterhält, der vom inneren Segment nach außen und durch die Cytomembran des äußeren Segmentes in Nachbarschaft der Rhodopsin enthaltenden Säckchen zurück nach innen fließt (Abbildung 6).

Er wird vermutlich in der Richtung von innen nach außen durch einen an den Energiestoffwechsel gekoppelten aktiven Transport von  $\text{Na}^+$ -Ionen erzeugt und besteht in der Richtung von außen nach innen im passiven Rückstrom von  $\text{Na}^+$ -Ionen durch  $\text{Na}^+$ -spezifische Poren. Trifft ein Lichtpuls das Stäbchen, so geht die Stärke des Stromes vorübergehend zurück, wahrscheinlich, weil sich die Zahl der offenen  $\text{Na}^+$ -Kanäle in der Cytomembran des Stäbchens vermindert. Möglicherweise schließt sich nur ein  $\text{Na}^+$ -Kanal, wenn ein Lichtquant absorbiert wird, doch ist der damit erreichte Effekt enorm: Die vorübergehende Abnahme der Stromstärke entspricht einem Defizit von  $10^6$  Elementarladungen, die die Cytomembran nicht mehr passieren. Sie könnte ausreichen, um an der nächsten Synapse eine Spannungsänderung hervorzurufen, die über dem Rauschpegel liegt und die damit für die Weiterverarbeitung des Signals genügt, vorausgesetzt, daß die Synapse ein idealer Detektor ist.

So weit, so gut. Unser Wissen von der Ereigniskette der Signalwandlung enthält aber immer noch eine große

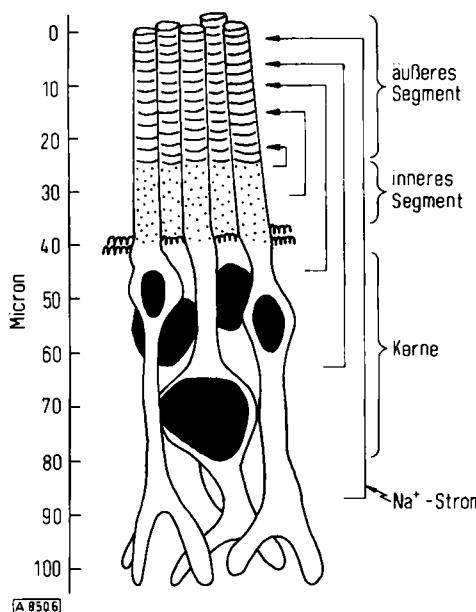


Abb. 6. Verteilung extrazellulärer elektrischer Ströme in der Nachbarschaft von Stäbchenzellen der Netzhaut [12]. Im Dunkeln tritt der Strom längs des äußeren Segmentes in die Zelle ein und verläßt sie in anderen Teilen. Treibende Kraft des Stromes dürfte in den Mitochondrien erzeugte Energie sein. Im Licht vermindert sich dieser Strom auf Werte, die um bis zu 50% unter denen des Dunkelstromes liegen können. Träger des Stromes sind  $\text{Na}^+$ -Ionen, die durch  $\text{Na}^+$ -spezifische Poren in der Zellmembran in das äußere Segment eintreten. Wenn das Sehpigment im äußeren Segment Licht absorbiert, wird ein Teil dieser Poren offenbar geschlossen, so daß der Widerstand der Membran des äußeren Segmentes ansteigt. Der Mechanismus der Signalwandlung zwischen Sehpigment und Zellmembran ist unbekannt.

Lücke. Wie gelangt das Signal vom Rhodopsinmolekül, welches das Lichtquant absorbiert, zur Cytomembran, wo ein  $\text{Na}^+$ -Kanal geschlossen wird? Geometrisch gesehen ist die Lücke  $1 \mu = 10000 \text{ \AA}$  groß, molekular gesehen eine enorme Distanz. Welcher Wandlungsmechanismus überbrückt diese Distanz? Die bisher vorgebrachten Vermutungen gehen von der Annahme aus, daß das absorbierende Rhodopsinmolekül eine photochemische Reaktion eingeht. Keine dieser Erklärungen erscheint mir aber plausibel, ganz zu schweigen davon, daß es bis jetzt für keine einen experimentellen Beweis gibt. Eine Excitonen-Leitung zu in der Cytomembran gelegenen Reaktionszentren wäre der ideale Wandlungsmechanismus. Ob er möglich ist, hängt entscheidend vom Abstand und von den Wechselwirkungen zwischen den Rhodopsinmolekülen ab, doch sind uns diese noch nicht bekannt, vgl. [13]. Wenn Excitonen-Leitung der physiologische Mechanismus der Signalwandlung ist, dann steht die Photochemie des Rhodopsins, die *in vivo* und *in vitro* bei hohen Lichtintensitäten untersucht worden ist, möglicherweise in gar keinem Zusammenhang mit der Primärfunktion der Hauptmenge des Rhodopsins.

Über die Regeneration nach der Lichtaufnahme wissen wir praktisch nichts. Vielleicht spielt Adenylcyclase hier eine Rolle. Kürzlich wurde über eine starke Adenylcyclase-Aktivität in Stäbchen berichtet, die durch Licht kräftig unterdrückt wird [14]. Man kann vermuten, daß dieser Aktivitätsrückgang etwas mit der Regeneration des Rhodopsins zu tun hat. Die Teilnahme der Adenylcyclase an der Signalübertragung vom Rhodopsin zur Zellmembran erscheint mir höchst unwahrscheinlich.

### 3. Chemotaxis bei Bakterien

Wir wollen die Geschichte des Sehvorgangs hier verlassen und uns unserem dritten Fall zuwenden: der Taxis bei Bakterien. Daß bewegliche Bakterien Licht, Sauerstoff, Kohlenhydraten, Aminosäuren und anderem „nachjagen“, weiß man seit hundert Jahren. Irgendwie sind die Bakterien in der Lage, Gradienten von Chemikalien oder Licht zu erkennen und darauf zu reagieren, wobei ihre aktive Leistung nicht darin besteht, die für sie günstigen Bedingungen zu suchen, sondern die ungünstigen durch „Schreckreaktionen“ zu meiden. In den letzten Jahren hat man die Reaktionsketten, die durch diese Stimuli ausgelöst werden, mit Hilfe der Arsenale von Genetik und Biochemie untersucht. Die Ergebnisse sind bemerkenswert, aber noch sehr unvollständig und zeigen, daß Bakterien über sehr klug konstruierte Sinnesorgane verfügen.

Bezüglich der schließlichen Reaktion der Bakterien wissen wir, daß sie *nicht* in einer Veränderung der Schwimmgeschwindigkeit besteht, etwa schneller gradienten-aufwärts als -abwärts. Vielmehr scheint es, daß die mittlere freie Weglänge, das heißt die zwischen zwei Schreckreaktionen oder Kehren geradeaus durchschwommene Strecke, gradienten-aufwärts länger ist als gradienten-abwärts. Genaue Angaben sollte eine neue Technik liefern, mit der sich einzelne Bakterien in drei Dimensionen über viele freie Weglängen verfolgen lassen [15].

Mit Sicherheit können Bakterien verhältnismäßig kleine chemische Gradienten (Größenordnung:  $10^{-4}$  über die Länge ihres Körpers) wahrnehmen (Abbildung 7). Und

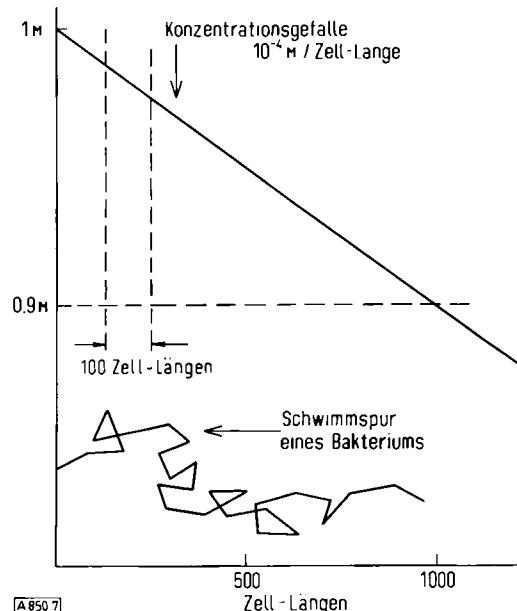


Abb. 7. Bakterielle Chemotaxis. Bakterien können sehr kleine Konzentrationsgradienten einiger chemischer Verbindungen wahrnehmen. Konzentrationsgradienten, die sich auf einen Unterschied von nur 1:10000 zwischen den Enden der Bakterienzelle belaufen, werden noch bemerkt. Wahrscheinlich messen die Bakterien das Konzentrationsgefälle aber nicht zwischen den Enden der Zelle, sondern zwischen zwei hundertmal weiter auseinandergelegenen Punkten, da sie schnell schwimmen und oft eine Strecke dieser Länge in nahezu gerader Linie zurücklegen. Die Zelle mißt also nicht einen intrazellulären räumlichen Gradienten, sondern die Zelle als Ganzes mißt einen zeitlichen Gradienten.

fast sicher ist auch die Tatsache, daß sie diesen Konzentrationsunterschied nicht durch Vergleich der Konzentrationen an den Endpunkten ihres Körpers messen, sondern, da sie sehr schnell schwimmen können (etwa hundert Körperlängen zwischen zwei Wendungen), durch Vergleich der Konzentrationen an zwei Punkten im Raum, die etwa eine freie Weglänge voneinander entfernt sind.

Wie messen sie? Neuere Arbeiten haben gezeigt, daß eine Veränderung im Energiestoffwechsel, etwa eine vorübergehende Zunahme der ATP-Konzentration, dabei *keine* Rolle spielt. Diese Folgerung ergibt sich aus der Tatsache, daß die Bakterien auch solchen Analoga begehrter Chemikalien nachjagen, die sie im Stoffwechsel nicht umsetzen können, und daß andererseits viele Chemikalien, die glatt metabolisiert werden, nicht begehrswert erscheinen<sup>[16, 17]</sup>. Konzentrationsgradienten müssen auf einer früheren Stufe wahrgenommen werden, noch bevor die betreffende Substanz von der Bakterienzelle aufgenommen wird. Und dennoch scheint ein Zusammenhang mit der Aufnahme zu bestehen: Im Fall der Galaktose ließ sich aus den Bakterien ein Protein isolieren, gal-Binder genannt, das sowohl für die Galaktose-Aufnahme als auch für die Chemotaxis notwendig ist<sup>[18, 19]</sup>. Geht dieses Protein nämlich durch eine Mutation verloren, so sind beide Funktionen gestört. Andererseits genügt sein Vorhandensein allein auch nicht, denn es gibt andere Mutationen, bei denen der gal-Binder intakt bleibt, aber entweder die Galaktose-Aufnahme oder die für Galaktose spezifische Chemotaxis gestört sind. Das galaktosebindende Protein befindet sich im Periplasma von *E. coli*, das heißt zwischen äußerer und innerer Zellmembran, und aus den beschriebenen Befunden scheint zu folgen, daß es einen Verzweigungspunkt bildet, von dem aus der eine Weg zur Aufnahme und der andere zur Chemotaxis führt. Wir wissen ein paar Dinge über den weiteren Verlauf des Aufnahme-Weges, aber der Weg, an dessen Ende die Koordination der Geißelbewegung des Bakteriums steht, liegt noch unter dichtem Nebel, und das gilt für alle Fälle chemischer Wahrnehmung, auch bei Vertebraten und Insekten. Lediglich bei der chemischen Wahrnehmung von Acetylcholin in der Verbindungsstelle Nerv-Muskel und bei der Wirkung einiger anderer Transmittersubstanzen können wir wenigstens den nächsten Effekt angeben: Er besteht im Öffnen und Schließen von Ionenkanälen, aber wie dieser Prozeß sich auf molekularem Niveau vollzieht, ist hier ebenso in Dunkel gehüllt wie bei den äußeren Segmenten der Stäbchen der Wirbeltier-Retina.

#### 4. Ein chemisches Selbsterneuerungs-System

Wir wollen uns nun dem letzten Beispiel zuwenden, das hier besprochen werden soll: der Ausweichreaktion von *Phycomyces*. *Phycomyces* ist ein Pilz, ein niederer Pilz. Auf der Skala des Taxonomien steht er noch tiefer als die Ascomyceten *Neurospora*, *Aspergillus* und Hefe, die bei der Entwicklung der biochemischen Genetik eine so bedeutende Rolle gespielt haben. Ich begann vor fast zwanzig Jahren, mit diesem Organismus zu arbeiten. Er sollte als Modellsystem für die Untersuchung der Wandlung von Sinnessignalen dienen, da sein großer einzelliger Frucht-

körper, Sporangenträger und Sporangium, in frappierender Weise auf Licht reagiert. Ist es vorstellbar, daß sich von einer so primitiven Kreatur etwas allgemein Gültiges über Signalwandlung lernen läßt? In Biochemie und Genetik hat das Studium von Mikroorganismen beträchtlich zu unserem Verständnis der molekularen Mechanismen beigetragen und außerordentlich weitreichende Prinzipien der chemischen Organisation sichtbar werden lassen, angefangen bei den Vitaminen und Coenzymen bis hin zur Geschichte der DNS. Unsere modernen Vorstellungen von der Einheitlichkeit der Welt der Lebewesen beruhen auf diesen Prinzipien. Es lag daher nahe, sich auch bei der Untersuchung der allgemeinen Prinzipien der Wandlung von Sinnessignalen wieder der Mikroorganismen zu bedienen.

Ich will hier nicht über das Verhalten von *Phycomyces* gegenüber Licht berichten<sup>[20]</sup>, denn unsere Arbeiten haben sich noch nicht in dem Sinne bezahlt gemacht, daß sie uns ein vollständiges molekulares Bild der Wandlungskette von der Lichtaufnahme bis zur Regulierung der Wachstumsgeschwindigkeit gegeben hätten. Wir kennen das Rezeptor-Pigment noch nicht als chemische Einheit.

Ich möchte mich vielmehr mit einer neuen Reaktion von *Phycomyces* befassen, die darin besteht, daß der Sporangenträger dieses Pilzes einem festen oder flüssigen Hindernis, das sich in einiger Entfernung befindet, ausweicht<sup>[20-23]</sup>. Er tut das, indem er vom Hindernis „fortwächst“, gerade so wie eine positiv phototrope Reaktion darin besteht, daß der Organismus zur Lichtquelle „hinwächst“ (Abbildung 8).

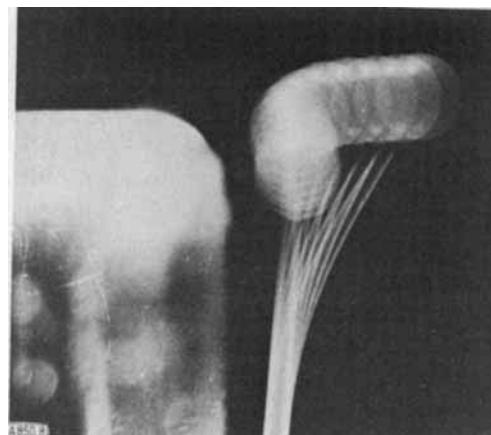


Abb. 8. Ausweichreaktion von *Phycomyces*. Der vegetative Fruchtkörper dieses Pilzes, der Sporangenträger, besitzt ein chemisches Selbststeuerungssystem, das es ihm ermöglicht, feste Objekte in seiner Nähe wahrzunehmen und von diesen fortzuwachsen. Die Abbildung ist eine Überlagerung mehrerer Aufnahmen, die im Zwei-Minuten-Abstand in rotem Licht gemacht wurden, gegen das der Pilz vollkommen unempfindlich ist. Nach der fünften Belichtung wurde ein Glasstab von 5 mm Durchmesser auf die Höhe des Testobjektes gebracht, ohne dieses zu berühren. Bereits zwei Minuten später beginnt der Sporangenträger vom Glas fortzuwachsen. Der Durchmesser des Sporangiums ist 0.5 mm.

Aber welcher Art ist hier das physikalische Signal? Nach vielen Experimenten fanden wir heraus, daß wir es hier mit der chemischen Wahrnehmung einer flüchtigen Substanz, dem Effektor, zu tun haben, die in winzigen Mengen emittiert wird. Das Hindernis beeinflußt die räumliche Verteilung des Effektors, so daß sich ein Konzentrations-

gefälle bildet. Es tut dies, indem es die Effektmoleküle reflektiert oder adsorbiert und dadurch die Randbedingungen der Diffusion ändert, und durch seinen Einfluß auf regellos gerichtete Luftströmungen, die es zur Ruhe bringt. Besonders deutlich wird dieser Effekt, wenn man eine Glashölle von einigen Zentimeter Durchmesser über die Kultur stülpt. Das Hindernis ist jetzt symmetrisch und irgendeine Tropie infolgedessen nicht zu erwarten. Die Beruhigung regelloser Luftströmungen führt aber zu einer Erhöhung der durchschnittlichen Effektkonzentration in der Nähe des Sensors, so daß man innerhalb von zwei Minuten nach dem Einschluß der Kultur eine vorübergehende Zunahme der Wachstumsgeschwindigkeit beobachtet.

Wir haben es hier also mit einer neuartigen Erfindung der Natur zu tun, einer Art chemischem Selbststeuerungssystem, das entfernt dem Radar analog ist. Bei der gewöhnlichen Echo-Lotung, sei es mit Schall oder Radar, besteht ein prinzipielles Problem darin, den Fühler (Sensor) gegen das primäre Signal abzuschirmen, das bedeutend kräftiger ist als das Echo. Man erreicht das oft, indem man Emitter und Sensor voneinander trennt und phasenverschoben pulsieren läßt. Auch unser chemisches Radarsystem mag eine Trennung von Emitter und Sensor aufweisen, aber das phasenverschobene Pulsieren ist ersetzt entweder durch eine rasche chemische Veränderung des Effektors oder durch seine starke Adsorption.

## 5. Folgerungen

Wir wollen zusammenfassen, wo wir uns heute mit unserem Wissen über biologische Signalwandler befinden. Wir stehen einer großen Zahl von Phänomenen gegenüber, die man sozusagen fleckenweise untersucht und zwischen denen große Lücken klaffen, für die im Titel dieser Arbeit die Bezeichnung „terra incognita“ steht. Diesen Ausdruck verwendeten die Kartographen des 15. Jahrhunderts und früherer Zeiten, bevor das Zeitalter der Entdeckungsreisen die *terrae incognitae* der Erde immer kleiner werden ließ. Columbus überquerte den Atlantik viermal, um neues Land zu entdecken, von dem er bis an sein Lebensende glaubte, es handele sich um einen Teil des asiatischen Kontinentes. Es dauerte Jahrzehnte, ehe den Menschen zum Bewußtsein

kam, daß hier ein neuer Kontinent und ein gänzlich unerwarteter Ozean entdeckt worden waren.

Wie steht es mit unseren *terrae incognitae*? Werden sie sich alle als Teile bekannter Kontinente erweisen oder dürfen wir auf große Überraschungen warten? Ich tue letzteres, und ich hoffe, daß einige von Ihnen uns auf diesen erlebnisreichen Entdeckungsreisen begleiten werden.

Eingegangen am 5. Juli 1971 [A 850]

- [1] B. Müller-Hill, *Angew. Chem.* 83, 195 (1971); *Angew. Chem. internat. Edit.* 10, 160 (1971); W. Gilbert u. B. Müller-Hill in J. R. Beckwith u. D. Zipser: *The Lactose Operon*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1970.
- [2] G. Adam u. M. Delbrück in A. Rich u. N. Davidson: *Structural Chemistry and Molecular Biology*. Freeman, San Francisco 1968.
- [3] J. Erlichman, A. H. Hirsch u. O. M. Rosen, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 68, 731 (1971).
- [4] G. N. Gill u. L. D. Garren, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 68, 786 (1971).
- [5] B. de Crombrugge, B. Chen, W. Anderson, P. Nissley, M. Gottesman, I. Pastan u. R. Perlman, *Nature* 231, 139 (1971).
- [6] A. D. Riggs, G. Reines u. G. Zubay, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 68, 1222 (1971).
- [7] U. Thurm, *Rendiconti della Scuola Internazionale di Fisica „E. Fermi“* XLIII, 44 (1969).
- [8] G. W. Robinson, *Brookhaven Symposia in Biology* 19, 16 (1966).
- [9] J. D. McElroy, G. Feher u. D. C. Mauzerall, *Biochim. Biophys. Acta* 172, 180 (1969).
- [10] S. L. Bonting: *Current Topics in Bioenergetics*. Academic Press, New York 1969.
- [11] J. Heller, *Biochemistry* 7, 2914 (1968).
- [12] W. A. Hagins, R. D. Penn u. S. Yosikami, *Biophys. J.* 10, 380 (1970).
- [13] J. Rosenkranz, *Z. Zellforsch.* 111, 228 (1970).
- [14] M. W. Bitensky, R. E. Gorman u. W. H. Miller, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 68, 561 (1971).
- [15] H. C. Berg, *Rev. Sci. Instr.* 42, 868 (1971).
- [16] J. Adler, *Science* 153, 708 (1966).
- [17] J. Adler, *Science* 166, 1588 (1969).
- [18] G. L. Hazelbauer u. J. Adler, *Nature* 230, 101 (1971).
- [19] H. Kalckar, *Science*, im Druck.
- [20] K. Bergman, P. V. Burke, E. Cerdá-Olmedo, C. N. David, M. Delbrück, K. W. Foster, E. W. Goodell, M. Heisenberg, G. Meissner, M. Zalokar, D. S. Dennison u. W. Shropshire Jr., *Bacteriol. Rev.* 33, 99 (1969).
- [21] J. K. E. Ortega u. R. I. Gamow, *Science* 168, 1374 (1970).
- [22] D. L. Johnson u. R. I. Gamow, *J. Gen. Physiol.* 57, 41 (1971).
- [23] R. J. Cohen, J. Matricon u. M. Delbrück, unveröffentlicht.
- [24] Aus O. V. S. Heath: *The physiological aspects of photosynthesis*. Stanford University Press, Stanford 1969; J. E. Dowling in J. M. Allen: *Molecular organization and biological function*. Harper and Row, New York 1967.