

1. Feb. 1984

Max-Planck-Gesellschaft

Berichte und Mitteilungen



3/83

Max-Planck-Institut
für Biologie
Tübingen

Vorwort

Das Institut für Biologie in Tübingen hat drei Adressen – Corrensstraße, Spemannstraße und Melanchthonstraße. Jeder weiß, wer Melanchthon war – aber Correns und Spemann? Für einen Biologen sind diese beiden Namen von gleicher Bedeutung wie der Name des Theologen, Erziehers und Reformators. Carl Correns war einer der Gründer der Genetik, der Lehre von der Vererbung; Hans Spemann war ein berühmter Embryologe, der untersuchte, wie sich ein einziges befruchtetes Ei zu einem erwachsenen Lebewesen entwickelt. Correns hat einmal im botanischen Institut in der Wilhelmstraße gearbeitet und wird auf der Anhöhe, wo jetzt die nach ihm benannte Straße liegt, spazierengegangen sein. Spemann dürfte Tübingen von Besuchen gekannt haben. Correns und Spemann sind mit dem Institut für Biologie eng verbunden: sie waren seine ersten beiden Direktoren.

Was würden die drei bedeutenden Männer sagen, könnte man sie heute zu einem Besuch des Instituts einladen? Melanchthon würde aus damaliger Sicht wohl die meisten unserer heutigen Aktivitäten als „Teufelszeug“ abtun; Correns wäre tief beeindruckt, welche großen Fortschritte die Genetik seither gemacht hat; und Spemann würde vergeblich nach seinen Kaulquappen und Molchen suchen. Obgleich sowohl die Genetik als auch die Embryologie immer noch Arbeitsgebiete des Instituts sind, würden weder Correns noch Spemann sie als solche identifizieren. Das Interesse an der Genetik hat sich von Pflanzen auf Bakterien und Mäuse verlagert, und die Embryologie der Kaulquappen wurde durch die Erforschung der Chromosomendifferenzierung in der Fruchtfliege *Drosophila* und der Lymphozytenentwicklung in der Maus ersetzt. Neben Genetik und Embryologie sind im Institut neue Arbeitsgebiete entstanden. Sie reichen von Untersuchungen zum Aufbau von Zellmembranen, über Mechanismen der Abwehr von körperfremden Eindringlingen und der Überlistung dieser Abwehr bis zur Züchtung von Hybridpflanzen aus künstlich verschmolzenen Zellen.

Wir möchten Sie, lieber Leser, mit dieser kleinen Broschüre zu einem Rundgang durch die Gebäude in der Correns-, Spemann- und Melanchthonstraße einladen und Ihnen einen Einblick in die Forschungsarbeiten unseres Instituts geben.

Jan Klein

Die Geschichte des Instituts von 1912 bis 1983

„Es gibt mancherlei Gründe dafür, daß in der zweiten Hälfte des letzten Jahrhunderts die Biologie eine so hervorragende Stellung einnahm. Der Hauptgrund bestand wohl in dem glücklichen Umstand, daß geistvolle Männer auftraten, die ihre eigene Generation – und darüber hinaus auch die ihrer Schüler – grundlegend beeinflußten, und die von überallher vielversprechende Leute heranzogen.“ Dieser Satz, mit dem *Richard B. Goldschmidt* seine Erinnerungen beginnt, beschreibt den wissenschaftlichen Hintergrund, vor dem im Jahre 1912 das Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie gegründet wurde.

Im Jahr zuvor war die nach Kaiser Wilhelm II. benannte Gesellschaft ins Leben gerufen worden, die die naturwissenschaftliche Forschung in Deutschland außerhalb der Universitäten fördern sollte. Die ersten Institute wurden bald eingeweiht: 1912 die Kaiser-Wilhelm-Institute für Chemie und für physikalische Chemie und Elektrochemie, 1913 das Institut für experimentelle Therapie (später für Biochemie) in Dahlem und 1914, als erstes außerhalb Berlins, das Institut für Kohlenforschung in Mülheim/Ruhr.

Die Gründung des Biologie-Instituts verzögerte sich, weil sich die Gründungsmitglieder (*Th. Boveri, P. Ehrlich, G. Haberlandt, O. Hertwig, W. Roux* und *M. Rubner*) über den Arbeitsbereich nicht einigen konnten. Nachdem eine Übereinkunft getroffen worden war, konnte der Bau des Instituts 1914, im ersten Jahr des Ersten Weltkriegs, beginnen. Die Entscheidung des Gründungskomitees war sehr sinnvoll, weil sie den Schwerpunkt auf die wissenschaftlichen Bereiche legte, die zu jener Zeit in Deutschland besonders erfolgreich bearbeitet wurden: Genetik, Entwicklungsbiologie, Physiologie und Protozoologie. Bei der Wahl von fünf hervorragenden Wissenschaftlern – *Carl Correns, Hans Spemann, Richard Goldschmidt, Otto Warburg* und *Max Hartmann* – hatte *Theodor Boveri*, der selbst einen Ruf an das Institut aus gesundheitlichen Gründen nicht annehmen konnte, entscheidenden Einfluß. Das neue Institutsgebäude wurde trotz schwieriger Zeiten rasch fertiggestellt, so daß *Correns, Spemann* und *Hartmann* schon 1915 die Arbeit aufnehmen konnten. Die Besetzung der verbleibenden Abteilungen verzögerte sich, weil die beiden Abteilungs-

Max-Planck-Institut für Biologie
Tübingen

leiter, *Goldschmidt* und *Warburg*, durch den Krieg an der Amtsübernahme ver-

hindert wurden. Erst ab 1917 war deshalb das Institut voll arbeitsfähig.

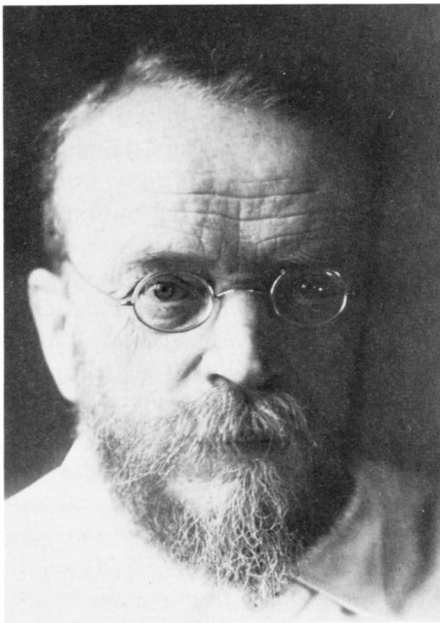
Die erste Generation

Carl Correns, Sohn eines Malers und selbst künstlerisch begabt, war Schüler des Botanikers *Carl W. von Nägeli*. Nach frühen Arbeiten über das Wachstum der pflanzlichen Zellwand galt sein ganzes Interesse der Pflanzengenetik. 1894 begann er Kreuzungsversuche mit Bohnen, Erbsen, Mais und anderen Kulturpflanzen. Dabei entdeckte er Regelmäßigkeiten bei der Vererbung von Eigenschaften von Generation zu Generation, die sich als einfache Gesetze formulieren ließen. Er wurde damit im Jahre 1900 zu einem

der Wiederentdecker der Vererbungsregeln, die *Gregor Mendel* 35 Jahre zuvor gefunden hatte. *Correns* veröffentlichte den Briefwechsel zwischen *Gregor Mendel* und *Carl von Nägeli*, der deutlich macht, daß *Mendel* nicht übersehen, sondern nicht verstanden wurde.

In seinen späteren Arbeiten widmete sich *Correns* der Erforschung des genauen Ausmaßes der Gültigkeit der Mendelschen Gesetze und machte im Verlauf dieser Untersuchungen wichtige Entdeckungen. Er veröffentlichte – wenn auch nur in einer Fußnote – den ersten Fall der Kopplung von Merkmalen. Seine Versuche mit Rankenkletterern (*Bryonia*) zeigten, warum bei der Vererbung des Geschlechts die Nachkommen zur Hälfte männlich und zur Hälfte weiblich sind. Studien an der Wunderblume (*Mirabilis*) erbrachten einen der ersten Beweise für die extrachromosomale Vererbung von Eigenschaften. Diese grundlegenden Untersuchungen wurden von *Correns* und seinen Mitarbeitern nach Übernahme der Leitung einer Abteilung am Biologie-Institut in vielfältiger Weise fortgeführt. *Correns* starb im Jahre 1933, kurz nach seiner Emeritierung.

Hans Spemann, Sohn eines erfolgreichen Stuttgarter Buchhändlers, kam auf Vorschlag seines Lehrers *Boveri*, dem bedeutendsten Zellforscher seiner Zeit, an das Institut. Besonders berühmt ist sein in Würzburg ausgeführter Versuch,



Carl Correns (1864 bis 1933)



Hans Spemann (1869 bis 1941)

bei dem er die beiden Tochterzellen der ersten Furchungsteilung eines Molcheis trennte und aus beiden je eine Kaulquappe heranzog. In Dahlem begann *Spemann* 1914 seine systematischen Untersuchungen zur Organisation des Embryos. Geniale Transplantationsexperimente (1935 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet) führten zum Nachweis von Zellbereichen im Molchembryo (Organisatoren), die die Entwicklung steuern und in günstigen Fällen in der Implantatregion zur Ausbildung eines sekundären Embryos führen. *Spemann* blieb nur vier Jahre am Institut und nahm 1919 einen Ruf an die Universität Freiburg an.

Richard Goldschmidt entstammte einer Frankfurter jüdischen Familie, aus der mehrere Wissenschaftler hervorgegangen waren. Durch seinen Zoologielehrer *F. C. Noll* und häufige Besuche des

Senckenberg-Museums wurde er schon früh mit modernen biologischen Problemen vertraut. Als Schüler *Karl Gegenbauers* und *Otto Bütschlis* sowie seit 1904 als Assistent *Richard Hertwigs* studierte er bei hervorragenden Biologen seiner Zeit.



Richard Goldschmidt (1878 bis 1958)

Nachdem ihm eine selbständige Stelle übertragen worden war, besonders aber nachdem er 1915 (beziehungsweise 1919 nach seiner Rückkehr aus amerikanischer Internierung) die Position am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie angenommen hatte, galt sein Hauptinteresse Fragen der Evolution und der physiologischen Genetik. Seine Untersuchungen zur Genetik der Geschlechtsdetermination bei der Motte (*Lymantria*), der Genetik geographischer Variationen und über die Physiologie der Gene bei der

Fruchtfliege (*Drosophila*) sind Klassiker der wissenschaftlichen Literatur. Seine Vorstellungen über die Rolle von „Makromutationen“ in der Evolution, als Konzept des „hopeful monster“ bekannt, finden noch immer Beachtung. *Goldschmidt* war ein äußerst aktiver Mensch, der selbst gern im Labor arbeitete, viele Reisen unternahm, lehrte und außerdem noch Zeit fand, eine Vielzahl von Büchern zu schreiben. Seine Tätigkeit im Kaiser-Wilhelm-Institut wurde abrupt beendet, als er 1936 durch die Nationalsozialisten gezwungen wurde, Deutschland zu verlassen. Er blieb bis zu seinem Lebensende an der Universität von Kalifornien in Berkeley.

Otto Warburgs Interesse an Chemie wurde vermutlich durch den Chemiker *Emil Fischer* geweckt, mit dem Warburgs Vater Emil, ein angesehener Physiker, befreundet war. Nach dem Chemiestudium bei *Fischer* in Berlin, interessierte sich *Warburg* früh für die Chemie lebender Zellen. Er war erst 30 Jahre alt, als er 1914 die Leitung der Abteilung für Zellphysiologie in Berlin-Dahlem übernahm. *Warburg* arbeitete während seiner Zugehörigkeit zum Institut vorwiegend über die Krebsentstehung, über den Mechanismus der biologischen Oxidation und über die Photosynthese. Auf allen Gebieten machte er grundlegende Entdeckungen. Er besaß in hohem Maße die Fähigkeit, mit einfachen, experimentell prüfbareren Fragen an komplexe biologische Phänomene heranzugehen. Als hervorragender Techniker entwickelte er Standardmethoden der Biochemie, wie manometrische und optische Testverfahren.

In die Zeit der Zugehörigkeit zum Institut fällt insbesondere der Nachweis eines an der Atmung beteiligten sauer-



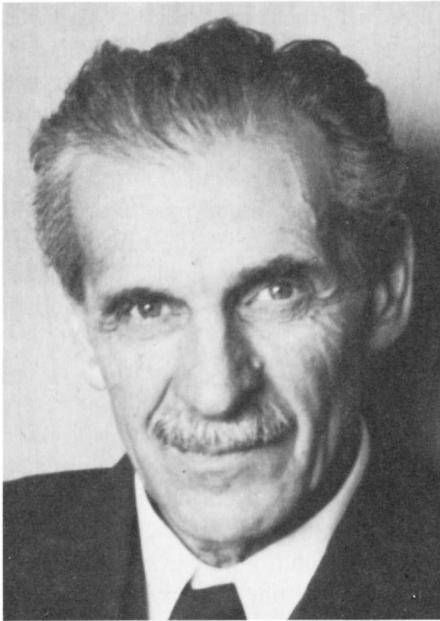
Otto Warburg (1883 bis 1970)

stoffbindenden und eisenhaltigen Enzyms (heute Cytochrom-Oxidase genannt), dessen Entdeckung ihm 1931 den Nobelpreis einbrachte. Bei der Photosynthese interessierte ihn besonders der primäre Schritt, an dem das Licht direkt teilnimmt. Mit einem neuen Versuchsobjekt (einzelligen Algen) konnte er als erster diese Lichtreaktion von den nachfolgenden Dunkelreaktionen trennen und quantitative Messungen dazu anstellen, wie viele Lichtquanten zur Freisetzung eines Moleküls Sauerstoff nötig sind – damit ebnete er eigentlich den Weg für die Entwicklung der späteren Photosynthese-Forschung. Bei seinen Untersuchungen zur Entstehung des Krebses fand er, wieder unter Einführung einer neuen Methodik (Gewebebeschnitte), daß Krebszellen im Gegensatz zu normalen Zellen in Gegenwart von Sauerstoff

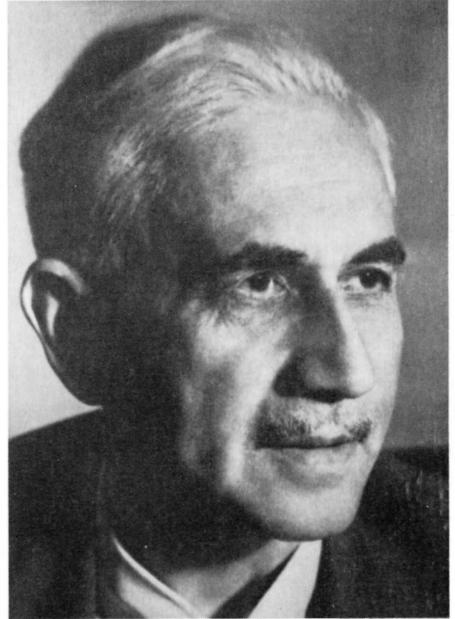
vorwiegend gären, das heißt Milchsäure statt Kohlensäure bilden. 1930 verließ *Warburg* das Institut für Biologie und wurde Direktor des für ihn errichteten Kaiser-Wilhelm-Instituts für Zellphysiologie in Berlin-Dahlem.

Max Hartmann wollte eigentlich Forstmann werden; doch während seines Studiums an der Forsthochschule Aschaffenburg erwachte sein Interesse an experimenteller Biologie. Er wechselte an die Universität München zu *Richard Hertwig*. Später, als Assistent an der Universität Gießen, lernte er *Fritz Schaudinn*, den Entdecker der Syphiliserreger, kennen, der sein Interesse an der Protistenkunde weckte. Im Jahre 1914 trat *Hartmann* in das Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie als Leiter der Abteilung für Protistenkunde ein, wo er bis zu seiner Pensionierung im Jahre 1955 tätig war. Seine wich-

tigsten wissenschaftlichen Erkenntnisse betrafen die Natur der Sexualität, die Vermehrung der Protozoen und den Befruchtungsmechanismus. Er ist Autor des Lehrbuchs „Allgemeine Biologie“, das in mehreren Auflagen erschien, und von Büchern über philosophische Grundlagen der Naturwissenschaften.



Max Hartmann (1876 bis 1962)



Otto Meyerhof (1884 bis 1951)

Otto Meyerhof wurde 1926 Abteilungsleiter im Institut. Unter dem Einfluß *Warburgs* gab er sein ursprüngliches Berufsziel, Psychiater zu werden, auf und widmete sich fortan der physiologischen Chemie. Seine Arbeiten als Assistent an der Universität Kiel über den Abbau von Glykogen zu Milchsäure im Muskel wurden 1922 mit dem Nobelpreis für Physiologie ausgezeichnet. *Meyerhof* blieb nur vier Jahre am Institut und ging anschlie-

ßend als Direktor an das neugegründete Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg.

Correns, Spemann, Goldschmidt, Warburg, Hartmann und *Meyerhof* gehörten zweifellos zu jener Generation geistvoller Männer, die der Biologie ihrer Zeit den Stempel aufdrückte. Es sollte jedoch betont werden, daß damals wie heute mit und neben den Abteilungsleitern eine große Zahl selbständiger Mitarbeiter sowie in- und ausländische Gäste am Institut arbeiteten, die bahnbrechende Arbei-

ten durchführten. Für die Gründergeneration seien nur einige Namen genannt: *H. Kappert, F. Lilienfeld, F. v. Wettstein, E. Knapp, J. Seiler, F. Süffert, G. Just, C. Stern, M. Hertz, V. Jollos, K. Belar, J. Hämmerling, J. Holtfreter* und *H. Bauer*. Unter den Gastwissenschaftlern am Institut befanden sich *J. Needham, C. H. Waddington* und *H. A. Krebs*. Sie alle zusammen errichteten ein riesiges Gebäude von Erkenntnissen, die unser Wissen über das, was wir Leben nennen, wesentlich erweitert haben.

Die zweite Generation

Correns' Nachfolger wurde einer seiner Assistenten – *Fritz von Wettstein*. Er war der Sohn *Richard von Wettsteins*, eines bekannten österreichischen Botanikers. Bereits als Gymnasiast veröffentlichte *Fritz von Wettstein* faunistische und floristische Beobachtungen und wurde nach Beendigung seines Studiums in Wien 1919 Assistent von *Correns* in Berlin. 1925 übernahm er den Lehrstuhl für Pflanzenphysiologie in Göttingen, wurde 1931 Nachfolger von *Karl von Goebel* in München und gleichzeitig Auswärtiges Wissenschaftliches Mitglied des Kaiser-Wilhelm-Instituts für Biologie. 1934 übernahm er *Correns'* Abteilung und wurde erster Direktor des Instituts. Seine Hauptbeiträge betreffen den Effekt des Zytoplasmas auf die Eigenschaftsausprägung in Kreuzungen zwischen verschiedenen Arten, zunächst von Laubmoosen, dann von höheren Pflanzen, die Auswirkungen von vervielfachten Chromosomensätzen (Polyploidie) auf die Gestalt und Funktion von Pflanzen sowie die

Rolle der Polyploidie bei der Bildung neuer Arten. *v. Wettstein* starb im Jahre 1945 im Alter von 49 Jahren.

Spemanns Stelle ging ebenfalls an einen seiner Mitarbeiter über – *Otto Mangold*. *Mangold* studierte Zoologie in Tübingen, Rostock und Freiburg. Als Assistent von *Spemann* wurde er 1924 Abteilungsleiter am Institut. Er arbeitete wie sein Lehrer über Fragen der Regulation und Determination in der Embryogenese der Molche. 1934 verließ er das Institut und wurde Professor für Zoologie und Vergleichende Anatomie an der Universität Erlangen.

Goldschmidts Nachfolger wurde *Alfred Kühn*, der aus Baden-Baden stammte und in Freiburg bei *August Weismann* studiert hatte. Er promovierte bereits im Alter von 23 Jahren und blieb danach einige Zeit in Freiburg. Nach dem Ersten Weltkrieg und kurzem Aufenthalt in Berlin übernahm er den Lehrstuhl für Zoologie in Göttingen, den er 17 Jahre innehatte. 1937 wurde er nach Berlin-

Dahlem berufen, um *Goldschmidts* Abteilung als zweiter Direktor des Instituts zu übernehmen.

Kühn begann seine Karriere mit der Erforschung der Physiologie der Sinnesorgane von Tieren; er entdeckte beispielsweise, zusammen mit dem Physiker *Pohl*, daß Bienen kein rotes, wohl aber ultraviolettes Licht sehen können. Seine Interessen reichten von der Morphologie und Entwicklung von Protozoen, über die Erforschung des Differenzierungsvermögens tierischer Zellen und Temperaturschwankungen bei Schmetterlingen bis zur genetischen Kontrolle der Augenpigmentbildung und der Steuerung der Metamorphose durch das Verpuppungshormon Ecdyson bei der Mehlmotte *Ephestia* und anderen Insekten. Die genetischen und Transplantations-Experimente *Kühns* und seiner Mitarbeiter und die sich daran anschließende Identifikation der sich durch den genetischen Defekt anhäufenden Zwischenprodukte im Syntheseweg der Augenpigmente durch *Adolf Butenandt* und Mitarbeiter legten einen Grundstein zur biochemischen Genetik. *Kühn* war außerdem Autor erfolgreicher Bücher wie dem „Grundriß der Zoologie“ (17 Auflagen), dem „Grundriß der Vererbungslehre“ (5 Auflagen) und den „Vorlesungen über Entwicklungsbiologie“ (3 Auflagen). Über seine Emeritierung im Jahre 1958 hinaus war er bis 1968 am Institut tätig.

Seit 1938 widmete *M. Hartmann* einen Großteil seiner Zeit der Organisation eines Deutsch-Griechischen Gemeinschaftsinstituts für Biologie in Piräus. Sein Stellvertreter wurde *Hans Bauer* (geboren 1904 in Hamburg), der seit 1933 als Assistent in der Abteilung tätig war und mit dessen Arbeitsrichtung sich

die von *Boveri* begründete und von *Karl Belar* (gestorben 1929) etablierte Tradition der Chromosomenforschung im Institut bis heute fortsetzt. *Bauer* hatte in Hamburg, München und Göttingen Zoologie studiert und sich frühzeitig für Fragen der Zytologie und Zytogenetik interessiert: Nach der Promotion bei *Kühn* arbeitete er vorübergehend im Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg. In Hamburg traf er *Emil Heitz* und veröffentlichte mit ihm eine Arbeit, in der die Chromosomennatur der Knäuelstrukturen in den Riesenkernen von Mücken und Fliegen am Beispiel der Garten-Haarmücke *Bibio hortulanus* nachgewiesen wurde – kurz vor *Painter* sowie *King* und *Beams* in den USA, die den gleichen Nachweis für die Fruchtfliege *Drosophila* beziehungsweise die Zuckmücke *Chironomus* geführt haben.

Die Riesenchromosomen blieben eines der Hauptarbeitsgebiete von *Hans Bauer*, nachdem er im Jahre 1940 die ehemalige Abteilung Hartmann übernommen hatte (Ernennung zum Wissenschaftlichen Mitglied des Instituts im Jahre 1942) – auch nach seinem Weggang 1948 an das Max-Planck-Institut für Meeresbiologie in Wilhelmshaven.

Seit 1937/38 entwickelte sich eine intensive Zusammenarbeit zwischen den Instituten für Biologie und Biochemie auf dem Gebiet der Virusforschung. Diese Zusammenarbeit führte 1941 zur Gründung der *Arbeitsstätte für Virusforschung der Kaiser-Wilhelm-Institute für Biochemie und Biologie*. Diese Arbeitsstätte umfaßte mehrere Abteilungen, die von *G. Schramm*, *R. Danneel*, *G. Melchers* und *G. Bergold* geleitet wurden. Aus ihr entwickelte sich später das *Institut für Virusforschung*.

Umzug nach Tübingen

Die zunehmende Bombardierung gegen Ende des Zweiten Weltkriegs machte Berlin als Standort für Forschungsinstitute immer schwieriger. 1943 wurde beschlossen, das Institut an einen sicheren Ort zu verlegen, wobei die Wahl auf die Tübinger Gegend fiel. Dieses Gebiet erschien strategisch uninteressant, und man hoffte, dort nach dem Krieg die für Forschungsarbeiten notwendige Ruhe zu finden. Auf der Suche nach Unterbringungsmöglichkeiten hat sich *Hans Friedrich-Freksa* große Verdienste erworben, der zu dieser Zeit Mitarbeiter des Instituts für Biochemie war und später Direktor am Institut für Virusforschung wurde. *Friedrich-Freksa* hatte durch sein Studium gute Beziehungen zu Tübingen, und ihm war es zu verdanken, daß Teile der Institute zunächst in Universitätsgebäuden untergebracht werden konnten. Die Räume einer evangelischen Schule und der Textilfabrik Mauthe in Hechingen bei Tübingen wurden zu Laboratorien für die Abteilungen *Kühn* und *Bauer* sowie einen Teil der Abteilung von *Wettstein*. Ein anderer Teil der Abteilung von *Wettstein* zog nach Trins bei Steinach/Tirol, ein weiterer, die über Pilze arbeitende Gruppe von *J. Greis*, nach Seefeld bei München. Nach dem Tode *F. v. Wettsteins* wurde *J. Straub* kommissarischer Direktor dieser Abteilung, bis sie nach seiner Berufung an die Universität Köln 1949 aufgelöst wurde. Die Bibliothek war zeitweise im alten Rathaus in Hechingen und in der Nähe von *Hartmanns* Wohnsitz im Allgäu untergebracht. Als *Hartmann* nach dem Krieg an das Institut zurückkehrte, fand er im

Gebäude Hausserstraße 43 Platz für seine neugebildete Abteilung.

Da die Forschungsgruppen über ein weites Gebiet verstreut waren, wurde das Funktionieren des Instituts als Einheit schwierig. Nach Kriegsende versuchte man deshalb, das Institut wieder an einen Ort zusammenzuziehen. Ein Neubau in der Melanchthonstraße 36 beherbergte zunächst die Abteilung für Virusforschung des Max-Planck-Instituts für Biochemie, später das neugegründete Max-Planck-Institut für Virusforschung und schließlich die Abteilung *Bauer* des Max-Planck-Instituts für Meeresbiologie beziehungsweise Zellbiologie. Im April 1946 wurde *Kühn* Ordinarius für Zoologie an der Universität Tübingen und verlegte einen Teil seiner Abteilung und die gesamte Bibliothek dorthin. Unmittelbar nach dem Tod von *Wettsteins* im Februar 1945 wurde *Kühn* kommissarischer erster Direktor und später Geschäftsführender Direktor des gesamten Instituts. Sobald sich die Lage etwas stabilisiert hatte, wurde mit der Planung neuer Gebäude in Tübingen begonnen. In den Jahren von 1947 bis 1950 wurde in der Corrensstraße ein neues Gebäude errichtet, in das der als Direktor an das Institut berufene *G. Melchers* und seine Mitarbeiter einzogen. Im Jahre 1951 konnten *A. Kühn* und seine Mitarbeiter einen Neubau in der Spemannstraße beziehen.

1950/51 bestand das nunmehr wiedervereinigte Institut aus drei Abteilungen: *Melchers* in der Corrensstraße 41, *Kühn* in der Spemannstraße und *Hartmann* in der Hausserstraße 43.

Die dritte Generation

Georg Melchers kam 1934 nach dem Studium in Freiburg, Kiel und Göttingen und zweijähriger Assistentenzeit an den Botanischen Staatsanstalten in München-Nymphenburg als Assistent an das Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie. 1941 übernahm er die Leitung einer Gruppe im Rahmen der Arbeitsstätte für Virusforschung und wurde 1946 zum Direktor am Institut berufen. Seine wissenschaftlichen Interessengebiete reichen von der Pflanzenphysiologie, Genetik und Pflanzenzüchtung bis zur Evolution. Zusammen mit *Freksa*, *Schramm*, *Gierer*, *Wittmann*, *Schuster* und anderen war er an den genetischen und biochemischen Untersuchungen des Tabakmosaikvirus beteiligt – Untersuchungen, die in bedeutender Weise zur Aufklärung des genetischen Codes beitrugen.

In den letzten fünfzehn Jahren (von 1976 bis 1983 als Leiter einer Emeritus-Arbeitsgruppe) haben seine, auf Anfänge in den fünfziger Jahren zurückgehenden Arbeiten ein neues Forschungsgebiet mit eröffnet. Zusammen mit *I. Takebe*, einem japanischen Gast, gelang es *Melchers* 1970 erstmals Tabakpflanzen aus wandfreien Zellen, den Protoplasten, die zum Beispiel aus Blättern gewonnen werden, zu entwickeln. Dieser Fortschritt eröffnet eine Reihe neuer Möglichkeiten für Genetik und Züchtung durch Anwendung mikrobiologischer Methoden auf Pflanzenzellen, etwa die Isolation von resistenten Mutanten. Anschließend arbeiteten *Melchers* und ein kanadischer Gast, *W. Keller*, die erste effektive Methode zur Verschmelzung von Protoplasten aus. Mit dieser Methode war es

möglich, aus zwei genetisch verschiedenen Protoplasten der gleichen Spezies (Tabak) Hybridprotoplasten zu gewinnen und aus diesen dann Hybridpflanzen zu regenerieren. Diese unter Umgehung der Sexualität gewonnenen Tabakpflanzen verhielten sich wie sexuelle Kreuzungsprodukte. Schließlich wurden Hybridpflanzen gezüchtet, die sich sexuell nicht gewinnen lassen. Nach zwei Arten in der Gattung *Nicotiana*, die noch sexuell kreuzbar sind, wurden Kartoffel- und Tomatenprotoplasten verschmolzen und daraus „Karmaten“, mit Plastiden aus Kartoffeln, oder „Tomoffeln“, mit Plastiden aus Tomaten, genannte Hybridpflanzen erhalten. Die Kartoffel-Tomaten-Hybriden bilden Früchte, allerdings noch keine keimfähigen Samen und „Knollen“, die sich wie Kartoffeln überwintern lassen und im Frühjahr austreiben. Der erste Schritt der Durchbrechung der Gattungsbarriere zwischen *Solanum* und *Lycopersicon* ist damit gelungen.

Auf Empfehlung von *G. Melchers* wählte die Max-Planck-Gesellschaft 1955 *Emil Heitz* zum Wissenschaftlichen Mitglied des Instituts. Als gebürtiger Straßburger und Nachkomme jüdischer Vorfahren fand er nach einem wechselreichen Leben erst am Institut für Biologie wieder die Möglichkeit zu angemessener wissenschaftlicher Tätigkeit. *Heitz* leistete mehrere bedeutende Beiträge zur Zytologie und Zellgenetik. Auf ihn geht die Unterscheidung von genetisch aktivem Euchromatin und genetisch inaktivem Heterochromatin in den Chromosomen und die Aufklärung des Zusammenhangs von „Satellitenchromosomen“

mit den Nukleoli zurück. Er war Mitentdecker der Riesenchromosomen bei Dipteren. *Heitz* wurde 1961 emeritiert und starb 1965.

Nach der Emeritierung *Hartmanns* im Jahre 1955 wurde seine Abteilung von *K. Grell* geleitet, der im selben Jahr zum Wissenschaftlichen Mitglied des Instituts ernannt wurde. 1957 verließ er das Institut, um Ordinarius für Zoologie an der Universität Tübingen zu werden. 1956 wurde die Abteilung von *Wolfhard Weidel* übernommen, der bis zu diesem Zeitpunkt Assistent in der Abteilung *Melchers* gewesen war und zuvor als Doktorand und Assistent *Adolf Butenandts* am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie gearbeitet hatte. Er begann seine wissenschaftliche Laufbahn mit einer Studie über Fragen der biochemischen Genetik, die er in Zusammenarbeit mit *Alfred Kühn* und den Biochemikern der *Butenandtschen* Abteilung durchführte. Nach kurzem Aufenthalt am California Institute of Technology bei *Max Delbrück* im Jahre 1949 richtete er sein Hauptinteresse auf Fragen der Phagen-Rezeptoren in der Bakterienzellwand. *Weidel* wies nach, daß das Darmbakterium *Escherichia coli* eine Art Stützkorsett trägt, ein netzförmiges Riesenmolekül aus Zuckerketten mit verbrückenden Peptiden, das der Zelle die Stäbchenform gibt. Er führte damit einen neuen Forschungszweig am Institut ein, der bis

heute aktiv weiterverfolgt wird. *Weidel* starb unerwartet im Jahre 1964 im Alter von 48 Jahren.

1958 wurde die Forschungsgruppe Kybernetik in den Räumen der Abteilung *Kühn* eingerichtet, die sich aus dem Zoologen *B. Hassenstein*, dem technischen Physiker *H. Wenking* und dem theoretischen Physiker *W. Reichardt* zusammensetzte. Nach dem Weggang *Hassensteins* im Jahre 1960 entstand eine neue Abteilung, deren Leiter *Werner Reichardt* wurde. *Reichardts* Arbeitsgebiet war und ist die Verarbeitung visueller Information im Gehirn von Insekten. Die Abteilung verselbständigte sich 1968 zum *Max-Planck-Institut für biologische Kybernetik*.

Als *Kühn* 1958 in den Ruhestand trat, wurde *Wolfgang Beermann* sein Nachfolger. *Beermann* hatte 1951 bei *H. Bauer* und *K. Henke* mit einer Arbeit über Strukturveränderungen der Riesenchromosomen im Zusammenhang mit der Zelldifferenzierung promoviert und war danach Assistent am Institut für Meeresbiologie und Dozent am Zoologischen Institut der Universität Marburg. Zusammen mit der Abteilung *Bauer* des Max-Planck-Instituts für Zellbiologie (bis 1971) bildeten *Beermann* und seine Mitarbeiter für nahezu fünfundzwanzig Jahre ein Zentrum für Chromosomenforschung in Tübingen (siehe Bericht Seite 54 bis 67).

Die Gegenwart

Heute sind am Institut insgesamt 124 Mitarbeiter beschäftigt. Die dritte Generation ist weiterhin aktiv mit *W. Beer-*

mann (seit 1982 als Wissenschaftliches Mitglied ohne die Pflichten eines Direktors) und *G. Melchers* (als Emeritus) ver-



△ Corrensstraße 38

▽ Corrensstraße 42



Bild Titelseite:

„Planet MPIB“. Zeichnung von Dr. Shigeki Mitaku, Tokyo University of Agriculture and Technology, Humboldt-Stipendiat am Max-Planck-Institut für Biologie von 1982 bis 1983.



△ Spemannstraße 34

▽ Melanchthonstraße 36



treten. Seit 1966 leitet *Ulf Henning* eine Abteilung im Gebäude Corrensstraße 38. Seine Gruppe beschäftigt sich vornehmlich mit der Struktur, Funktion und Biosynthese der Zellwand von Bakterien. Im selben Gebäude arbeiten seit 1973 *Peter Overath* und Mitarbeiter. Das Hauptinteresse dieser Abteilung gilt der Struktur und Funktion biologischer Membranen. Schließlich wurde 1977 *Jan Klein* von der Southwestern Medical School, Dallas/Texas, an das Institut be-

rufen. Seine Abteilung für Immungenetik arbeitet im Gebäude Corrensstraße 42; die 50000 Versuchsmäuse sind in einem neuerbauten, unterirdischen Tierlabor untergebracht. Schwerpunkt der Arbeiten dieser Abteilung ist die Genetik, Biologie und Biochemie von Oberflächenstrukturen tierischer Zellen, die an der Abstoßung von Transplantaten und anderen immunologischen Prozessen beteiligt sind.

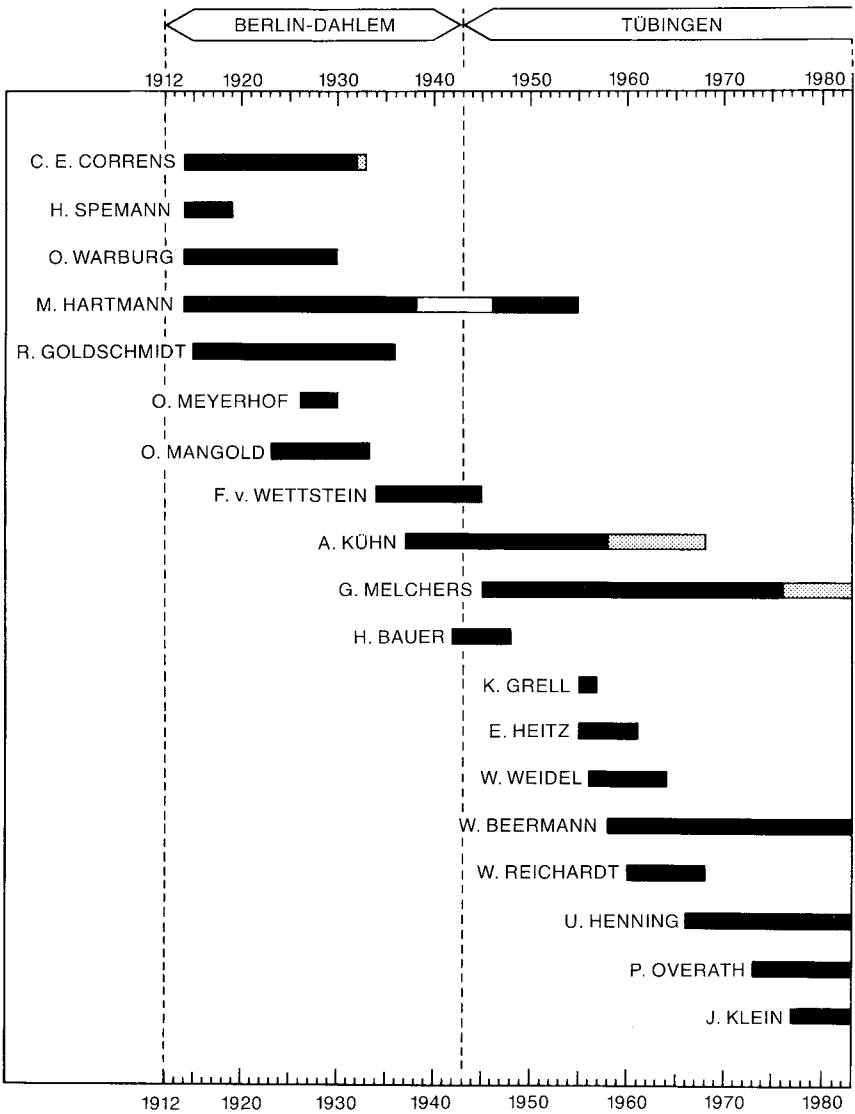
Zusammenfassung

Dieser kurze geschichtliche Rückblick versucht Namen und Forschungsergebnisse aufzuzeigen, die mit dem Institut verbunden sind. So eindrucksvoll auch die Liste derjenigen sein mag, die in leitender Stellung für die Forschung ihrer jeweiligen Abteilungen verantwortlich waren, so sollte doch betont werden, daß ihre Namen hier stellvertretend auch für alle diejenigen stehen, die in den Instituten Acrylamid-Gele fahren oder Mutanten isolieren, Geräte bauen oder Manuskripte schreiben, Tabakpflanzen oder Mäuse pflegen, Graphiken zeichnen oder Kulturflaschen spülen, Rechnungen prüfen und Gehälter überweisen. Ihre Mitarbeit ist die Voraussetzung für einen reibungslosen Ablauf der Arbeit und zum Erfolg des Instituts.

Das Tübinger Institut bot und bietet Studenten und Doktoranden, „post-docs“ und Gruppenleitern, in- und ausländischen Gastwissenschaftlern hervorragende Arbeitsmöglichkeiten. Die Liste derjenigen Mitarbeiter, die sich durch ihre Arbeit am Institut Anerkennung im In- und Ausland erworben haben, ist lang. Viele von ihnen übernahmen leitende Stellungen an Hochschulen oder in der Industrie.

Die ungeheure Verbreiterung biologischen Wissens seit Gründung des Instituts macht Forschung heute meist zu einer gemeinsamen Anstrengung von Spezialisten. Mehr denn je gilt daher, „von überallher vielversprechende Leute heranzuziehen“, die mit Ideen, Konsequenz, Fleiß und Glück neue Wege beschreiten.

Zeittafel



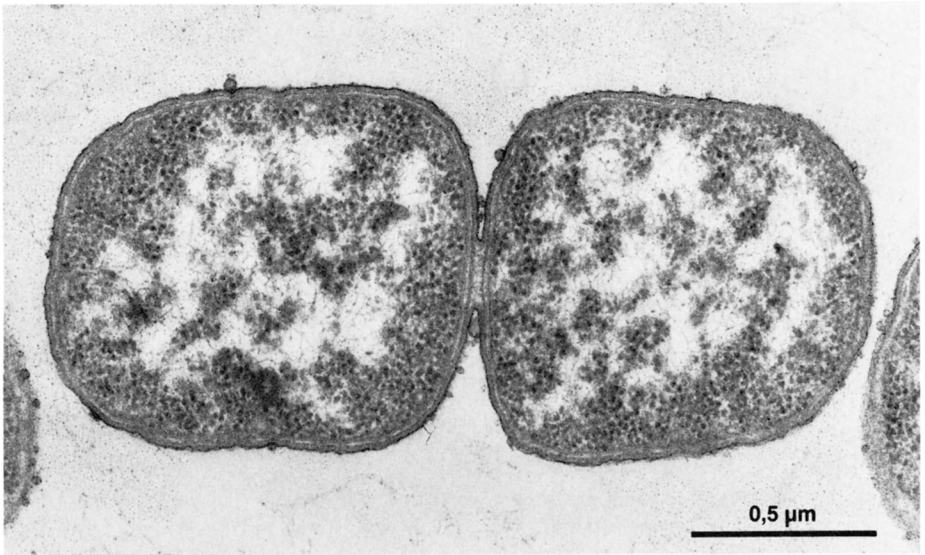
Die Wissenschaftlichen Mitglieder und Direktoren beziehungsweise Abteilungsleiter des Max-Planck-Instituts für Biologie von 1912 bis 1983. Die schraffierten Felder bedeuten Emeritus-Arbeitsplatz.

Ein Protein der Zellwand eines Bakteriums – Manipulation seines Gens und seine Phagen

Die Mehrzahl aller Bakterien läßt sich nach ihrem Verhalten gegenüber einer – fast 100 Jahre alten – Methode des Anfärbens in gramnegative und grampositive Organismen einteilen (so genannt nach dem dänischen Pathologen *Hans Christian Gram*). Die Ursache dieses Unterschieds fand sich später im verschiedenartigen Aufbau der Zellwände. Diese Wand der gramnegativen Bakterien (Abb. S. 24, 25) besteht aus mehreren Schichten: die Zytoplasmamembran umschließt das Zellinnere, das Zytosol; ihr aufgelagert wird die Zelle von der äußeren Membran umgeben, und zwischen beiden befindet sich ein dünnes, sehr festes Netz, das Murein (hier von *W. Weidel* und Mitarbeitern Ende der fünfziger Jahre entdeckt), das aus Zucker-Ketten besteht, die, durch kurze Ketten aus Aminosäuren miteinander verbunden, „quervernetzt“ sind. Der schmale Raum zwischen den beiden Membranen wird als periplasmatischer Raum bezeichnet. Den grampositiven Organismen fehlt eine äußere Membran; dafür ist bei ihnen die Mureinschicht stark verdickt.

Die Arbeiten dieser Abteilung gelten der äußeren Membran von *Escherichia coli*, einem Darmbewohner des Men-

schen und vieler Tiere, der besonders genetisch das am besten bekannte und manipulierbare Lebewesen ist. Am Anfang stand die bis heute weitestgehend unbeantwortete Frage nach den Mechanismen, die die Stäbchenform der Zellen determinieren. Es konnten stäbchenförmige Hüllen isoliert werden, die nur noch aus äußerer Membran bestehen und die die typische Form der Zellen beibehalten. Die Analyse der Zusammensetzung dieser Hüllen zeigte, daß sie neben den bekannten Bausteinen Phospholipid und Lipopolysaccharid zu etwa 50 Prozent aus Proteinen bestehen. Überraschenderweise besteht die Mehrheit dieser Proteine aus nur wenigen individuellen Polypeptidketten (Ketten aus Aminosäuren), von denen jede in außergewöhnlicher Menge (um 100 000 Kopien pro Zelle) vorliegt. Dies ist offenbar keineswegs spezifisch für *E. coli*, sondern bestätigte sich im wesentlichen bei allen bisher untersuchten gramnegativen Bakterien, auch wenn sie zum Teil gar nicht miteinander verwandt sind. Diese Daten warfen eine Reihe von – teils biologisch ganz generellen – Fragen auf: Was sind die Funktionen der so ubiquitär vorkommenden Proteine? Wie ist



- Äußere Membran
- Murein
- Zytoplasmamembran

Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Ultradünnschnitts einer Zelle von Escherichia coli am Ende der Teilung. Die hellen Areale entsprechen der Desoxyribonukleinsäure, den Genen; die dunklen Punkte sind die Ribosomen, an denen alle Proteine synthetisiert werden. Die stärkere Vergrößerung darunter läßt die Schichten der Zellwand erkennen.

ihre Struktur und was ist die Topologie eines solchen Proteins in seiner Membran? Ist die dichte Packung der Proteine mit der Ausprägung der Zellform, wie etwa bei der Formgebung von Viren, korreliert? Die Proteine fanden sich nur in der äußeren Membran, sie werden jedoch im Zellinnern synthetisiert. Welche Informationen steuern sie auf welche Art und Weise durch die Zytoplasmamembran zu ihrem endgültigen Aufenthaltsort?

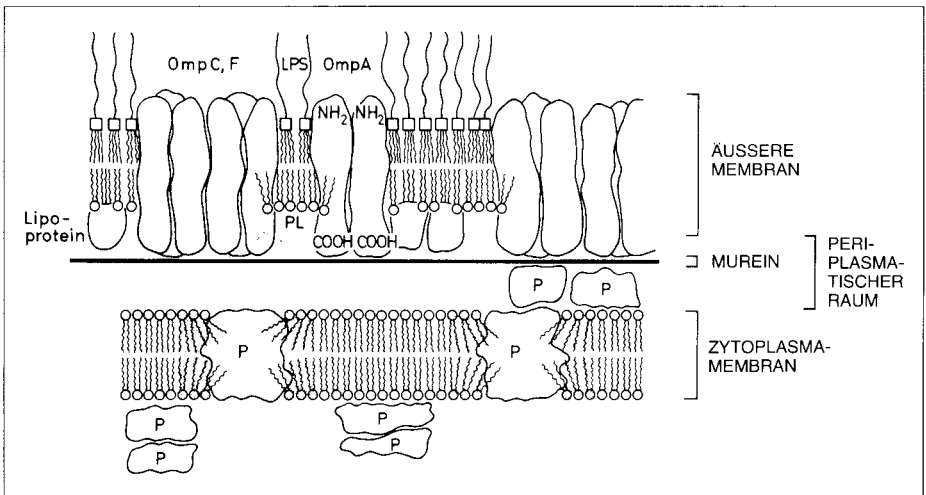
Um diese Fragen experimentell angehen zu können, waren zwei Voraussetzungen zu schaffen. Die Proteine

waren zunächst nur als angefärbte Banden in elektrophoretisch aufgetrennten Präparaten von äußerer Membran in Erscheinung getreten. Als Fundament aller weiteren Untersuchungen war daher zuerst zu klären, ob es sich wirklich um einheitliche Polypeptide handelte. Methoden konnten entwickelt werden, die völlig wasserunlöslichen Membranproteine zu isolieren. Von drei Vertretern wurde dann die Sequenz ihrer Aminosäuren ermittelt. Das kleinste, nur 58 Aminosäuren enthaltende Polypeptid, entpuppte sich als ein Lipoprotein (in der Literatur oft als Braun-Lipoprotein be-

zeichnet, da es im Institut von *V. Braun* als erstes bakterielles Membranprotein in seiner Struktur aufgeklärt wurde), weil es an einem Ende ein Lipidmolekül kovalent gebunden trägt. Bei den beiden anderen handelt es sich um das 325 Aminosäuren lange OmpA- und das 340 Aminosäuren lange OmpF-Protein („Omp“ für *outer membrane protein*); beide bestehen nur aus Aminosäuren.

Eine alte, besonders wirkungsvolle experimentelle Sonde zur Untersuchung von Struktur-Funktions-Beziehungen und anderen Mechanismen besteht darin, eine in Frage stehende Struktur oder einen Ablauf durch Mutation zu ändern oder zu unterbrechen. Voraussetzung ist, Mutationen in den Genen für die Pro-

teine zu erhalten. Wie soll man aber solche Mutanten erkennen, solange die Funktionen dieser Proteine unbekannt sind? Glücklicherweise existieren zahlreiche verschiedene Phagen (Viren, die Bakterien befallen), die sich an spezifische Rezeptoren an der Zelloberfläche anheften. Die Frage war, ob es vielleicht Phagen gibt, die die Proteine als Rezeptoren benutzen. Dies war tatsächlich der Fall. Aus der Tübinger Kläranlage konnte eine ganze Reihe solcher Phagen isoliert werden, die das OmpA- oder das OmpF- oder noch ein anderes, das OmpC-Protein, als Rezeptor benutzen. (Phagen in Klärwasser stellen einen weitgehend unbekanntem Mikrokosmos astronomischer Dimension dar; in einem Liter einfließenden Abwassers fanden sich gewöhn-



Schematische Darstellung der Zellwand von *Escherichia coli*. Der obere Teil zeigt die äußere Membran mit ihren Komponenten Lipopolysaccharid (LPS), die geschlängelten Linien innerhalb der Membran stellen den Fettsäureteil, die nach außen reichenden die Zuckerketten der Substanz dar; Phospholipid (PL) und Proteine (OmpA, OmpC, OmpF und Lipoprotein). Der untere Teil zeigt die Zytoplasma- oder Zellmembran als Lipiddoppelschicht mit eingelagerten und angelagerten Proteinen (P). Zwischen den Membranen liegt der periplasmatische Raum mit der Mureinschicht. Bemerkenswert ist auch die Asymmetrie der Lokalisation von LPS (nur außen) und Phospholipid; es ist noch unbekannt, wie sie zustande kommt.

lich 10^5 bis 10^6 großenteils verschiedene Phagen, was beim Umfang der Anlage heißt, daß pro Jahr 10^{15} bis 10^{16} Phagen einfließen!) Diese Phagen töten die Zelle, und Selektion für Resistenz gegenüber einem Phagen ergab die gewünschten Mutanten, die entweder das Protein nicht mehr oder in veränderter Form produzieren.

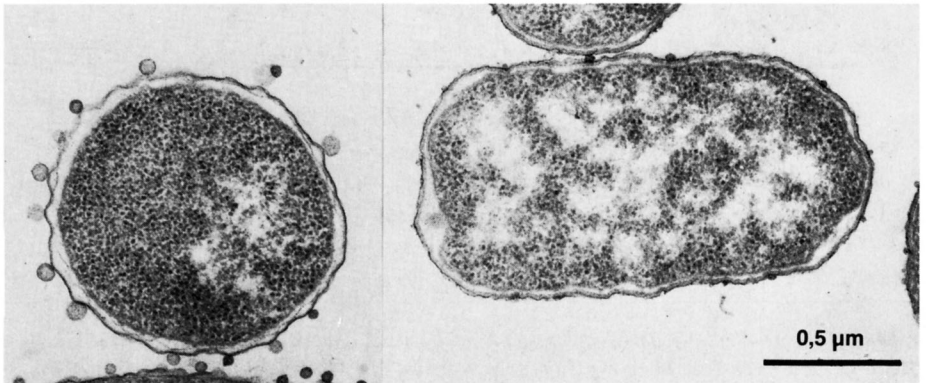
Es ist heute bekannt, daß in den meisten Stämmen von *E. coli* gewöhnlich fünf dieser Hauptproteine vorkommen: das

Lipoprotein, ein bisher nicht weiter untersuchtes Protein III, das OmpA, das OmpC und das OmpF-Protein. OmpC und OmpF sind nahe verwandt und gehören zur Gruppe der Porine; *T. Nakae* und *H. Nikaido* (Berkeley) entdeckten, daß diese Proteine Poren in der Membran bilden, durch die Nährstoffe in den periplasmatischen Raum diffundieren. Die Bemühungen der Abteilung konzentrierten sich vorwiegend auf das OmpA-Protein.

Funktionen und Topologie es OmpA-Proteins

Das Protein besitzt, wie sehr wahrscheinlich alle erwähnten, mehrere Funktionen. Zwei nicht-physiologische Funktionen sind seine Rolle als Phagenrezeptor und ein im Mechanismus noch unbekanntes Erfordernis für die Wirkung bestimmter Bakteriocine (Proteine, die von

verschiedenen Bakterien produziert werden und andere Bakterien töten; sie können in ebenso unbekannter Weise durch die äußere Membran dringen). Mutanten ohne OmpA sind tolerant gegenüber diesen Wirkstoffen, obwohl der Rezeptor für sie noch vorhanden ist.



Doppelmutante ohne Lipoprotein und ohne OmpA-Protein. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Ultradünnschnitten von Zellen in der Mutante (links) und des Wildtyps (rechts) zeigen die Formveränderung und den massiven Verlust (in Gestalt kleiner Bläschen) an äußerer Membran in der Mutante. Der Verlust ist massiv, da auf dem Schnitt nur etwa ein Tausendstel der ganzen Zelle zur Darstellung kommt.

Wesentlich ist ihre strukturelle Funktion. OmpA-lose Mutanten sind empfindlich gegenüber Netzmitteln, wie etwa die im Darm reichlich vorhandenen Gallensäuren. Das gleiche trifft für porinlose oder Mutanten ohne Lipoprotein zu.

Die Anwesenheit aller dieser Proteine ist also notwendig, um die wohl wesentlichste Funktion der äußeren Membran, Schutz gegen widrige Agenzien der Umwelt, zu erfüllen. Vermutlich stehen alle Proteine in spezifischer Wechselwirkung, was sich sehr anschaulich bei der Untersuchung ihres Einflusses auf die Formgebung zeigen ließ. Verlust nur eines Proteins ist ohne einen Effekt. Die Konstruktion von Doppelmutanten, denen das OmpA und das Lipoprotein fehlt, und nur solchen, ergab Zellen, die nicht mehr in Stäbchen-, sondern in Kugelform wachsen und zudem ständig Teile der äußeren Membran verlieren (Abb. S. 26). Weiter ist das Protein auf der Seite des Empfängers bei der Konjugation (Transfer von Genen von Zelle zu Zelle)

von Bedeutung; es dient in auch noch unbekannter Weise der Stabilisierung des Zusammenhaftens der konjugierenden Zellen. Wie weiter unten gezeigt wird, muß schließlich noch wenigstens eine Funktion unerkannt sein. Arbeiten in anderen Laboratorien haben in jüngerer Zeit sehr wahrscheinlich gemacht, daß ein dem OmpA verwandtes Protein auch bei pathogenen Bakterien existiert und hier (insbesondere bei Gonokokken) eine wesentliche, wenn auch noch unklare Rolle bei der Wechselwirkung mit dem menschlichen Wirt spielt. Es erscheint bemerkenswert, wie in dieser Membran dieselben Bausteine mehrere völlig verschiedene Aufgaben erfüllen.

Die Anordnung des Proteins in seiner Membran ließ sich relativ detailliert aufklären: die ersten etwa 60 (aminoterminalen) Aminosäuren ragen aus der Zelle heraus, die folgenden etwa 110 liegen größtenteils in der Membran, und die carboxyterminale Hälfte befindet sich im periplasmatischen Raum.

Das Gen und der Einbau des OmpA-Proteins in seine Membran

Mit Hilfe der OmpA-losen Mutanten konnte das Gen für das Protein auf dem Chromosom von *E. coli* lokalisiert und auch kloniert, das heißt auf ein kleines, extra-chromosomales Element, ein Plasmid, verpflanzt werden. In Zusammenarbeit mit *E. Beck* (Universität Heidelberg) wurde die Reihenfolge der Nukleotide des Gens ermittelt. (Diese Sequenz legt fest, in welcher Reihenfolge die Aminosäuren des entsprechenden Proteins verknüpft werden.) Die genaue Kenntnis der Sequenz des Gens erlaubte,

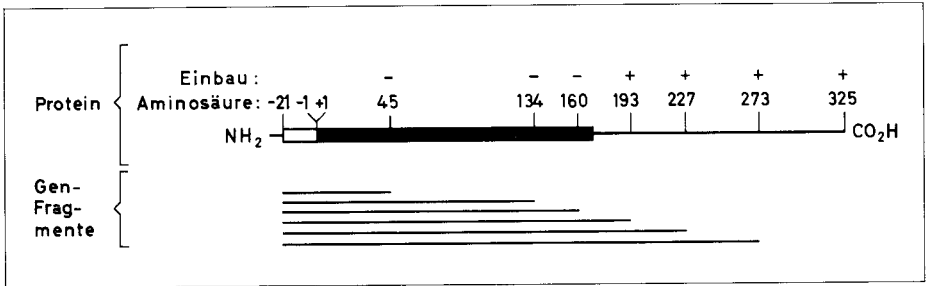
es zu verändern und der Frage nachzugehen, welche Informationen sein Produkt in die äußere Membran steuern.

Wie zuvor gefunden und wie die Sequenz des Gens zeigte, existiert ein Vorläufer, das pro-OmpA-Protein. Es ist am aminoterminalen Ende um 21 Aminosäuren länger als das reife Protein. Bei der Verlängerung, die im Lauf des Einbaus in die Membran abgespalten wird, handelt es sich um eine Signalsequenz, wie sie schon länger bei Vorläufern einer Reihe anderer, auch tierischer Membran-

proteine bekannt ist. Signalsequenzen sind erforderlich, um ein Protein in oder durch eine Membran zu steuern. Bringt dieses Signal das OmpA-Protein in die äußere Membran? Hierzu wurde in Zusammenarbeit mit *E. Beck* und *H. Schaller* (Heidelberg) das OmpA-Gen von dem Ende, das dem carboxyterminalen Ende des Proteins entspricht (das zuletzt synthetisiert wird), schrittweise im Reagenzglas verkürzt und wieder in die Zelle eingesetzt. OmpA-Fragmente, die noch 193 oder mehr Aminosäuren lang waren, wurden einwandfrei in die Membran eingebaut und brachten alle bekannten Funktionen des kompletten Proteins mit sich. Von Fragmenten, die nur noch 160 oder weniger Aminosäuren lang waren, erschien keine Spur in der Membran (Abb. unten). Diese kürzeren Fragmente sind ganz instabil; obgleich durch radioaktive Kurzzeit-Markierung nachweisbar, werden sie rasch in der Zelle vollständig abgebaut. Die Anatomie hatte

gezeigt, daß der Membranteil des Proteins bis etwa zur Aminosäure 170 reicht. Man hat also eigentlich zwei Proteine in einer Polypeptidkette vor sich, den Membranteil mit allen bekannten Funktionen und eine carboxyterminale Hälfte, die unnötig für den Einbau ist und höchstwahrscheinlich eine bisher unbekannt Funktion hat. Effektiver Export von OmpA in die Membran benötigt also seinen gesamten Membranteil oder wenigstens Teile im Bereich der Aminosäure 160, das bedeutet, eine wesentliche Information für den Export ist nicht nur in der Signalsequenz, sondern auch anderswo im Protein enthalten.

Welcher Art ist diese Information? Einen Hinweis brachten Experimente, die fragten, ob das Protein während seiner Synthese als wachsende Polypeptidkette oder nach vollendeter Synthese in die äußere Membran eingebaut wird. Die Antwort war, daß komplettes pro-OmpA-Protein zum größten Teil mit der



Verkürzung des Gens für das OmpA-Protein. Der dick ausgezogene Teil des schematisch dargestellten Proteins (in Wirklichkeit existiert dies wie andere Proteine nicht als Faden) stellt seinen Membranteil dar. Seine Synthese, also die Verknüpfung der Aminosäuren, beginnt am aminoterminalen (NH₂-) Ende mit der Signalsequenz, deren Aminosäuren negative Vorzeichen haben, da sie während des Einbaus in die Membran abgespalten werden. Das Gen wurde vom carboxyterminalen (CO₂H-) Ende her so verkürzt, daß Fragmente entstanden, die nur noch die Information für die angegebenen Fragmente (Zahl der noch vorhandenen Aminosäuren) des Proteins enthielten. Sobald die Bruchstücke kürzer werden, als es dem Membranteil entspricht, hört der Einbau in die äußere Membran auf. Andere wichtige Teile des Gens, die vor und hinter dem dem Protein entsprechenden Teil liegen, sind nicht berücksichtigt.



Das OmpA-Protein – ein Protein der äußeren Membran von Escherichia coli – wird durch Chromatographie auf Säulen auf diesem Bild von Cornelia Krämer gereinigt. Die Säulen sind mit einem Gel gefüllt, das Proteine entsprechend ihrer Größe auftrennt.

Zytoplasmamembran assoziiert vorlag. In allen natürlichen Proteinen ist die Kette der Aminosäuren in völlig festgelegter Weise gefaltet, was auch für das pro-OmpA-Protein zutreffen muß. Da sich weiter fand, daß das pro-OmpA-Protein in anderer Weise gefaltet ist, als das OmpA in der äußeren Membran und die Faltungsänderung wahrscheinlich mit dem Membran-Einbau gekoppelt ist, lag es nahe, anzunehmen, daß die gesuchte Information in der Faltung des Membranteils des Proteins zu suchen ist. Diese Annahme trifft sehr wahrscheinlich zu. Es wurde versucht, das Protein als Vehikel zu benutzen, andere Proteine

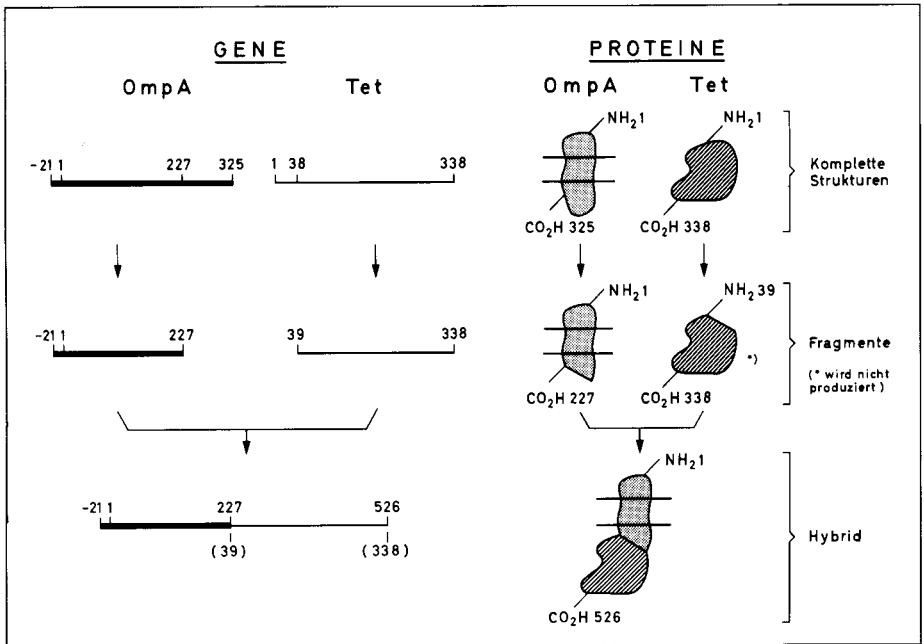
in die äußere Membran zu steuern. Das hätte von großem Vorteil sein können, da eine Isolierung aus der Membran heute viel leichter ist als aus dem Zellinnern und zudem OmpA in sehr großen Mengen produziert wird.

Gene für zwei andere Proteine wurden im Reagenzglas so an das OmpA-Gen fusioniert, daß Hybrid-Gene entstanden, deren Produkte von Aminosäure 1 bis 227 oder bis 273 aus OmpA und anschließend aus dem größten Teil des jeweiligen anderen Proteins bestanden (Abb. S. 30). Es zeigte sich jedoch, daß die Synthese solcher Hybride für die Zelle tödlich ist. Die „Fremdproteine“

Max-Planck-Gesellschaft
Berichte und Mitteilungen

Max-Planck-Institut für Biologie

Herausgegeben von der
Max-Planck-Gesellschaft, München



Eine Genfusion. Ein Teil des OmpA-Gens wurde isoliert, das nur noch den Aminosäuren 1 bis 227 entspricht (-21 bis 1: Signalsequenz, siehe Abb. S. 28). Vom Tet-Gen (ein Gen, dessen Produkt bei der Resistenz von Zellen gegen das Antibiotikum Tetracyclin eine Rolle spielt) wurde ein Teil isoliert, der den Aminosäuren 39 bis 338 entspricht. Während das erstere Protein-Fragment in die äußere Membran eingebaut wird (siehe Abb. S. 28), kann das Tet-Fragment gar nicht produziert werden, weil alle Startsignale für die Synthese-Mechanismen zur Linken des Gens fehlen. Die beiden Gen-Fragmente wurden so zusammengesetzt, daß das angegebene Hybrid-Gen entstand. Die Querlinien beim OmpA-Protein symbolisieren seinen Membranteil. Die Gestalt der Proteine ist unbekannt, die gezeichneten Formen sind willkürlich.

waren keine Membranproteine. Die tödliche Wirkung ist kaum anders zu verstehen, als daß auch sie ihre spezifische Faltung annehmen; der Export der entstandenen Monstren beginnt, kann aber nicht zu Ende gebracht werden, da Proteinbereiche erscheinen, die nicht für ein Ausschleusen „geschneidert“ sind und vermutlich die Exportwege verstopft werden. Zu dieser Vorstellung paßt sehr gut, daß, wie Arbeiten anderer Laboratorien zeigten, für den Export bestimmte Proteine auch dann in *Escherichia coli*

ohne Schaden für die Zelle durch die Zytoplasmamembran geschleust werden können, wenn ihre Gene gar nicht aus *coli*, sondern vom Huhn (Ovalbumin-Gen) oder von der Ratte (Insulin-Gen) stammen.

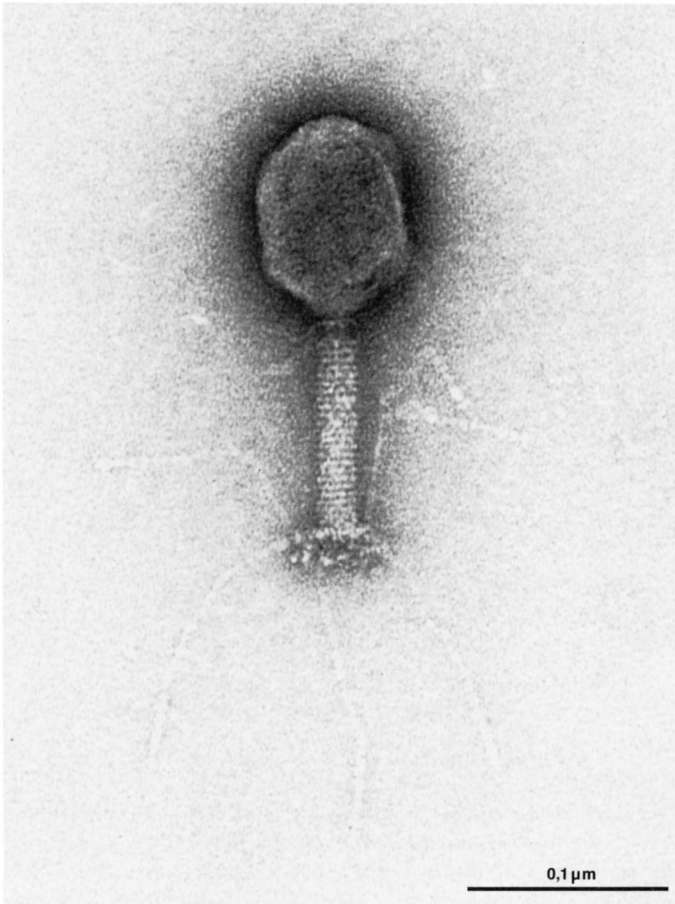
Der Membranteil des OmpA-Proteins besitzt daher offenbar einen Wegweiser. Es ist noch nicht bekannt, wie weit dieses Prinzip generalisierbar ist; kürzlich ist eine ganz ähnliche Situation bei einem anderen Protein der äußeren Membran beschrieben worden.

OmpA-spezifische Phagen

Das Erkennen einer Zelle durch einen Phagen ist ein sehr spezifischer Prozeß; ein Phage kann nur „seinen“ Rezeptor auf der Zelloberfläche sehen. Resultate älterer Studien mit den klassischen Phagen T2, T4 und T6, deren Rezeptoren das Lipopolysaccharid (für T4), das OmpF-Protein (für T2) und ein hier nicht angesprochenes Protein (für T6) der äußeren Membran sind, haben sehr wahrscheinlich gemacht, daß diese Phagen

den zellulären Rezeptor mit dem Ende der langen Schwanzfasern erkennen (Abb. unten). Wird einem Kaninchen T4 injiziert, bildet es Antikörper, die auch mit T2 und T6 reagieren. Das ist eine nicht erstaunliche serologische Kreuzreaktion, da etwa 85 Prozent ihrer Gene praktisch identisch sind.

In einem Satz von mehreren unabhängig voneinander isolierten OmpA-spezifischen Phagen besaßen alle die

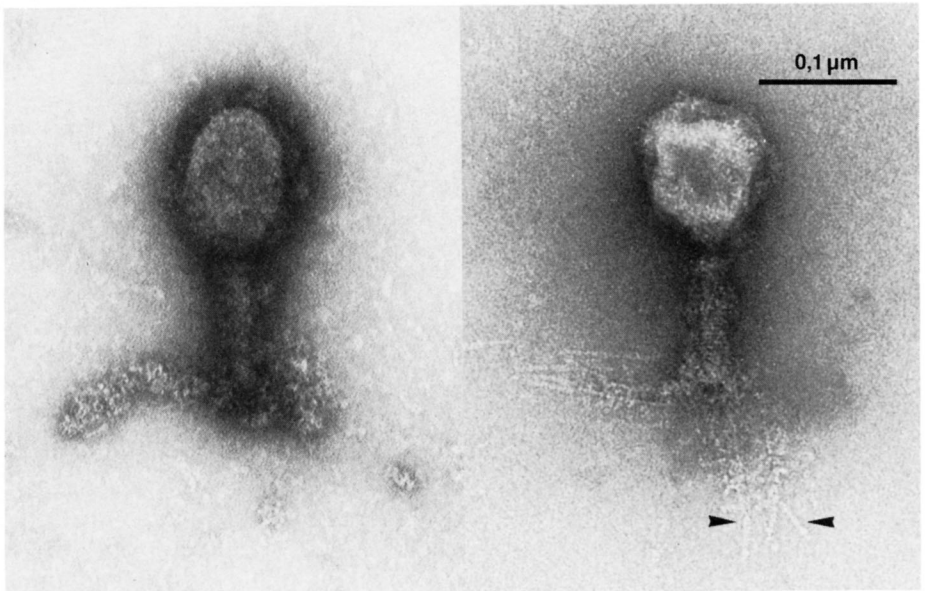


Ein OmpA-spezifischer Phage im elektronenmikroskopischen Bild. Der Phage erkennt seinen Rezeptor mit den Enden der sechs langen Schwanzfasern, heftet sich dann fest an die Zelle an, worauf die im Kopf befindliche Desoxyribonukleinsäure (Gene, die alle Informationen enthalten, um intrazellulär neue Phagen entstehen zu lassen) durch den Schwanz in die Zelle ausgestoßen wird. (Eine Zelle von Escherichia coli ist etwa 30 mal länger, als es der Höhe dieses Phagen entspricht.)

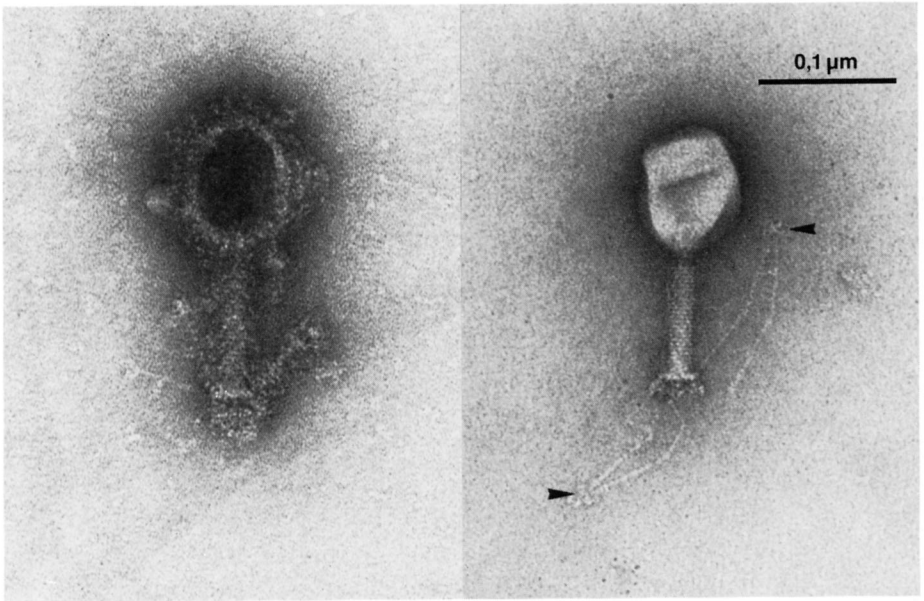
gleiche bizarre Gestalt wie die T-Phagen. Dennoch zeigte nur ein Teil von ihnen serologische Kreuzreaktion mit T4, sogar auch untereinander waren sie sich oft teilweise oder völlig fremd. Die Oberfläche eines Phagen präsentiert dem Kaninchen eine Reihe von verschiedenen Proteinen (das Tier produziert entsprechend viele verschiedene Antikörper), so ist etwa das Protein des Kopfes völlig verschieden von den Proteinen der Schwanzfasern, und die Antikörper gegen das Kopf-Protein können nicht mit denen des Schwanzes reagieren.

Es war möglich, elektronenmikroskopisch zu sehen, welche beispielsweise

gegen T4 erzeugten Antikörper an welcher Stelle an einem OmpA-Phagen haften. Diese Analyse brachte folgendes zutage: Ein OmpA-Phage kann mit T4 so nahe verwandt sein, daß seine gesamte Oberfläche kreuzreagiert, dann jedoch mit Ausnahme der Spitze der Schwanzfaser (Abb. unten). Offenbar sind die Rezeptor-Erkennungs-Bereiche der Faser verschieden, *per se* nicht verwunderlich, da die Rezeptoren auf der Zelle ganz verschieden sind. OmpA-Phagen können untereinander serologisch nahezu identisch sein oder aber kaum. Im letzteren Fall fand sich die Kreuzreaktion *nur* an der Spitze der Schwanzfaser (Abb. S. 33): Bei gleichem Rezeptor sind die



Serologische Kreuzreaktion zwischen nahe verwandten Phagen, die verschiedene Rezeptoren erkennen. Links: Der Phage T4 (Rezeptor: Lipopolysaccharid) nach Reaktion mit Kaninchen-Antikörpern, die gegen T4 erzeugt wurden: Die gesamte Phagen-Oberfläche ist mit Antikörpern besetzt. Rechts: Ein OmpA-spezifischer Phage nach Reaktion mit den gleichen Antikörpern wie beim linken Bild. Alle Teile des Phagen mit Ausnahme der Enden der Schwanzfasern haben reagiert (Pfeile).



Kreuzreaktion zwischen serologisch nicht verwandten OmpA-spezifischen Phagen. Links: Ein OmpA-Phage nach Reaktion mit Antikörpern, die gegen ihn selbst produziert wurden, wie bei der linken Abbildung Seite 32 ist die ganze Oberfläche mit Antikörpern besetzt. Rechts: Ein anderer OmpA-Phage nach Reaktion mit den gleichen Antikörpern. Erkennt wird hier nur die Spitze der Schwanzfasern (Pfeile). Diese Enden kleben jetzt zusammen, da ein Antikörper-Molekül an zwei bestimmte und gleiche Stellen auf dem Protein bindet, gegen das es erzeugt wurde. Alle anderen Antikörper in diesem Serum, die gegen Gegenden des Kopfes, des Schwanzes und der Schwanzfasern beim Phagen des linken Bildes gerichtet sind, reagieren mit dem Phagen des rechten Bildes nicht.

Erkennungsbereiche fast oder ganz identisch, auch wenn alle anderen Teile der Phagen keine serologische Verwandtschaft aufweisen.

Im bemerkenswertesten Fall zeigte ein OmpA-Phage mit einem anderen überhaupt keine Kreuzreaktion, obwohl der gleiche Rezeptor benutzt wird. Des Rätsels Lösung war, daß diese zwei Phagen ohne Zweifel verschiedene Bereiche des OmpA-Proteins erkennen: Mutanten konnten isoliert werden, die gegen den einen Phagen resistent, aber gegen den anderen empfindlich geblieben waren.

Es mag sein, daß man diese Phagen nicht individuell betrachten kann, sondern als einen oder – je nach Grad der Verwandtschaft – einige große Organismen sehen muß, die ein ganzes Repertoire wenigstens für den Teil der Schwanzfaser-Gene besitzen, der der Rezeptorerkennung dient. Es mag dann auch sein, daß bei diesen sehr kleinen, aber gar nicht so primitiven Formen der lebendigen Substanz ein nicht nur formales Analogon zu den in diesem Heft beschriebenen Mhc-Genen der Maus vorliegt.

Die Gene des Haupthistokompatibilitäts-Komplexes

Die Abwehrmechanismen des Körpers

Wenn ein Virus, ein Bakterium oder ein vielzelliger Parasit in den menschlichen Körper eindringt, startet der Körper eine Reihe von Abwehrmechanismen, die – meistens – in der Vernichtung des eindringenden Agens enden. Die Strategie, die der Körper für seine Abwehr benutzt, könnte aus Armeeanweisungen stammen: Sie besteht aus Erkennung, Mobilisierung und Angriff.

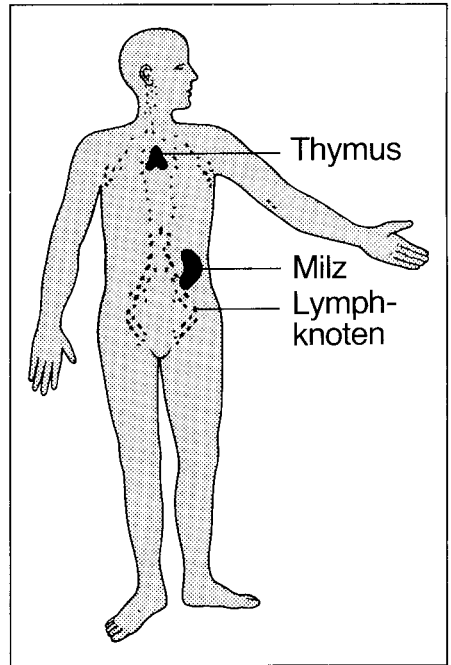
Die Arbeit der Abteilung Immunogenetik richtet sich auf das erste dieser drei Manöver. Sehr allgemein gesagt, beschäftigt sie sich mit der Frage: Wie erkennt der Körper eines Säugers einen Eindringling? Für den Laien mag diese Frage trivial erscheinen, da das Virus, das Bakterium oder der Parasit so unterschiedlich von Mensch und Maus erscheint, daß es kein Problem sein sollte, es zu identifizieren. Aber tatsächlich ist eine solche Identifikation gar nicht einfach. Der Körper hat nun mal keine inneren Augen, mit denen er den Eindringling sieht, und außerdem sind die Eindringlinge so klein, daß es unmöglich ist, sie direkt zu sehen (es sei denn, natürlich,

man besitzt ein Mikroskop). Darüber hinaus sind die Eindringlinge aus den gleichen Bausteinen wie der Körper des Empfängers aufgebaut, so daß der Körper ihre Anwesenheit nicht mit einem einfachen chemischen Test ausmachen kann, so wie ein analytischer Chemiker unbekannte Substanzen identifiziert. Die tatsächliche Strategie, die der Körper anwendet, gleicht wiederum einer militärischen Übung. Der Körper besitzt ausgebildete Kommandos, die Zeichen von feindlicher Aktivität aufgreifen können. Sie bewegen sich frei im Körper, überschauen das Terrain und schlagen Alarm, wenn sie einem unbekanntem Gebilde in der Landschaft des Körpers begegnen. Der Alarm führt dann in der Zentrale zur Mobilisierung der Verteidigungstreitkräfte, die sogleich zum Angriff übergehen.

Die Streitkräfte des Körpers bildet das lymphoide System, und die Soldaten sind spezialisierte Zellen namens Lymphozyten. Die Armeezentralen sind die Organe des lymphoiden Systems: Lymphknoten, Milz, Thymus und Knochenmark

(Abb. rechts). Alle Lymphozyten stammen aus dem Knochenmark, aus dem weichen Gewebe, das die Hohlräume der meisten Knochen ausfüllt. Manche Lymphozyten reifen auch im Knochenmark, andere begeben sich zur speziellen Schulung in den Thymus, das drüsenähnliche Organ, das im oberen Brustkorbbereich nahe dem Kehlkopf liegt. Diese Zellen, die thymus-trainierten oder T-Lymphozyten, sind diejenigen, die den Körper auf der Suche nach unbekanntem Gebilden durchstreifen.

Woher wissen die T-Lymphozyten, daß ein bestimmtes Gebilde auf dem Territorium des Körpers nicht in den Körper gehört, sondern ein Feind ist? Lange Zeit hat man geglaubt, daß Lymphozyten spezielle „Fühler“ oder Rezeptoren haben, die den Gebilden in der Landschaft entsprechen, wobei jeder Lymphozyt Rezeptoren für nur ein bestimmtes Gebilde hat. In seiner Embryoanaphase beginnt ein Organismus mit Lymphozyten für alle möglichen Gebilde, die ein Terrain enthalten mag, einschließlich der Gebilde des körpereigenen Terrains. Dann aber, wenn der Körper ausreift, werden die Lymphozyten, die die körpereigenen Gebilde erkennen, eliminiert



Das lymphatische System des menschlichen Körpers.

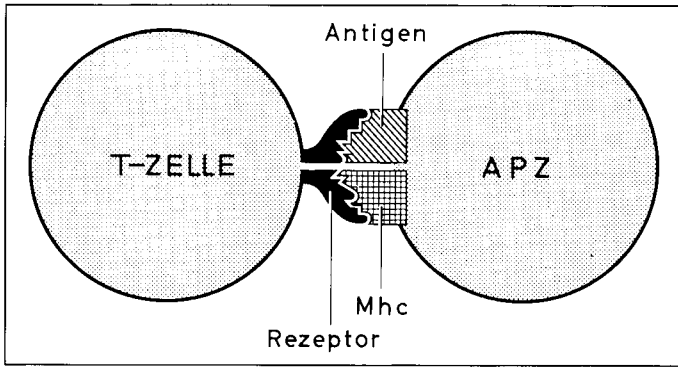
oder zumindest gehindert, Alarm zu schlagen und einen Angriff auf den eigenen Körper zu veranlassen. Was bleibt, sind nur Lymphozyten mit Rezeptoren für fremde Gebilde.

Die Mhc-Gene

Dieses ursprüngliche Konzept über die Unterscheidung zwischen „Selbst“ und „Nicht-Selbst“ erwies sich als zu einfach. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Rezeptoren der Lymphozyten nicht nur ein fremdes Gebilde – genannt Antigen –, sondern auch, und zwar gleichzeitig, einen Bestandteil des eige-

nen Körpers erkennen (Abb. S. 36 oben). Ein Lymphozyt kann sozusagen „einen Fremden nur in Begleitung eines Familienmitglieds“ erkennen.

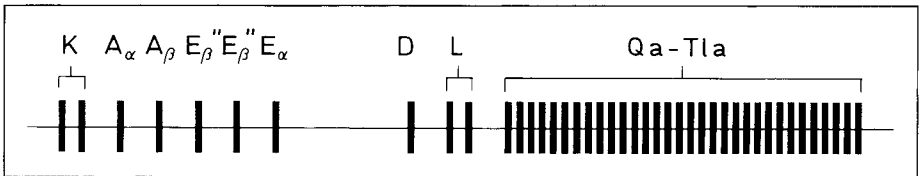
Jeder Körper hat eine bestimmte Anzahl von Komponenten, die zum Zweck der Erkennung von „Nicht-Selbst“ genutzt werden. Diese Komponenten wer-



Die Erkennung von Selbst (Mhc-Molekül) und Nicht-Selbst (fremdes Antigen) durch einen thymustrainierten Lymphozyten (T-Zelle). Das Antigen wird der T-Zelle durch eine spezielle antigen-präsentierende Zelle (APZ) angeboten.

den durch den „Haupthistokompatibilitäts-Komplex“ (*major histocompatibility complex*, Mhc) genetisch kontrolliert. Dieser Komplex ist es, auf den sich das Interesse der Abteilung Immungenetik richtet. Sie möchte herausfinden, wie er genetisch aufgebaut ist, wie die durch die Mhc-Gene produzierten Moleküle aussehen und wie eigentlich diese Moleküle beim „Selbst“-„Nicht-Selbst“-Unter-

für diese Art von Untersuchungen. Es wurde eine große Anzahl von Stämmen, die verschiedene Mhc-Gene und Genkombinationen tragen, gezüchtet. Allein in der Tierkolonie der Abteilung gibt es über ca. 170 verschiedene Mausstämmen, von denen viele selbst gezüchtet wurden. Diese große Zahl von Stämmen ist notwendig, um repräsentative Daten über das komplexe System zu erzielen.



Die Anhäufung von Genen, die den Haupthistokompatibilitäts-Komplex der Maus bilden. A- und E-Gene gehören zur Klasse II, alle anderen sind Gene der Klasse I. Diese Genkarte basiert auf den Ergebnissen mehrerer Labors, gewonnen mit den Methoden der klassischen wie auch der molekularen Genetik.

scheidungsprozeß arbeiten. Als Versuchstier für diese Studien wird die Maus verwendet, da sie das erste Säugetier war, bei dem der Mhc identifiziert wurde. Obwohl mittlerweile auch in anderen Wirbeltieren Mhc's bestimmt wurden, ist die Maus immer noch das geeignetste Tier

Der Zweck der genetischen Untersuchungen bestand darin, herauszufinden, wie die einzelnen Mhc-Gene auf den Chromosomen angeordnet sind, wie sie miteinander in Wechselwirkung stehen und wie variabel sie sind. Diese Studien wurden ursprünglich mit den Me-



Über 170 verschiedene Mausstämme sind im Tierhaus der Abteilung Immungenetik untergebracht. Diese zahlreichen Stämme, von denen viele selbst gezüchtet wurden, sind notwendig, um repräsentative Daten zur Untersuchung der Genetik des Immunsystems zu erhalten.

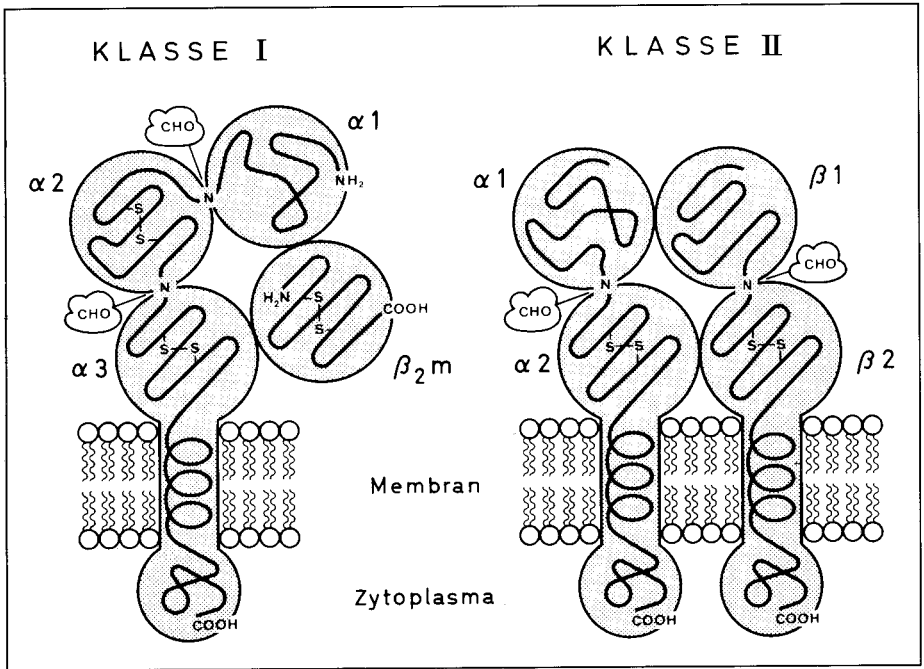
thoden der klassischen Genetik durchgeführt, wobei versucht wurde, einzelne Gene durch Chromosomenaustausch (crossing-over) zu trennen. Man erhielt eine Anzahl von Mhc-Rekombinanten, die bekannte Gene in neuen Kombinationen trugen. Diese erwiesen sich nicht nur zur Feststellung der Genanordnung als sehr nützlich, sondern auch zur Feststellung der Genfunktion. Seit einiger Zeit werden diese Untersuchungen durch Anwendung der neu entwickelten Technik der Klonierung rekombinanter DNS vervollständigt. Diese Technik ermöglicht es, die Mhc-Gene zu isolieren, in

das genetische Material von Bakterien zu inkorporieren und sie dann einzeln zu untersuchen. Die Kombination klassischer und molekulargenetischer Methoden hat eine erstaunliche Menge von Mhc-Genen aufgespürt: In einigen Stämmen konnte man die Existenz von mehr als 30 Genen nachweisen, die alle in einem einzigen Chromosomenabschnitt eng beieinander liegen (Abb. S. 36 unten). Die Gene gliedern sich in ihren biochemischen Eigenschaften und Funktionen in zwei Klassen, I und II. Die Klasse II-Gene entdeckten wir und das Labor von D. C. Shreffler (USA) gleichzeitig.

Die Mhc-Antigene

Jedes Mhc-Gen trägt Informationen für ein Proteinmolekül, das nach der Synthese mit der Plasmamembran einer Zelle so verbunden ist, daß der größte Teil dieses Moleküls auf der Außenseite der Zelle liegt und nur ein kleiner Teil in die Zelle eindringt. Die Mhc-Moleküle hängen somit an den Membranen wie Trauben an einem Weinstock (Abb. unten). Klasse I-Moleküle sind in fast allen Körperzellen enthalten, hingegen sind Klasse II-Moleküle meist auf die Zellen des lymphatischen Systems beschränkt. Die einzelnen Moleküle können unterschieden werden, indem Antikörper

gegen sie produziert werden. Mit Hilfe dieser Antikörper kann dann die Oberfläche der Moleküle „vermessen“ werden, so wie man eine Landschaft vermißt. Die Antikörper identifizieren eine Anzahl von antigenen Determinanten, die als Orientierungspunkte in diesen Moleküllandschaften dienen. So wurden viele solcher Mhc-spezifischen Antikörper produziert und die Oberflächen vieler Mhc-Moleküle markiert. Diese Antikörper haben sich als sehr nützlich erwiesen zur Bestimmung von Molekülen und Gruppierung der Mhc-Gene und zur Darstellung der Funktion der Mhc-Moleküle.



Struktur der Klasse I- und Klasse II-Mhc-Antigene der Maus. Diese Abbildung ist das Ergebnis von Untersuchungen mehrerer Labors.



Werner Mayer, ein Doktorand der Abteilung Immungenetik, isoliert Gene des Haupthistokompatibilitäts-Komplexes.

Da die Mhc-Moleküle auf der Zelloberfläche gut zu erkennen sind und die Individuen sich in der Zusammensetzung ihrer Moleküle unterscheiden, führt eine Transplantation von Gewebe und Organen zwischen nicht-identischen Individuen dazu, daß die Mhc-Moleküle eine Lymphozytenantwort stimulieren und das Gewebe schließlich abgestoßen wird.

Die Mhc-Moleküle bilden somit eine ungeheure Sperre, die den freien Gewebeaustausch zwischen Individuen und damit die Anwendung klinischer Transplantationen verhindert. Weil der Mhc eine Hauptschranke für Gewebekompatibilität darstellt, wurde diese Gruppe von Genen der Haupthistokompatibilitäts-Komplex genannt.

Der Mhc-Polymorphismus

Jedes Gen hat wiederum eine große Zahl von Allelen. Die meisten dieser Allele sind in natürlichen Wildmaus-

populationen in beträchtlicher Anzahl vorhanden, das heißt die Mhc-Loci sind polymorph. Das Konzept des Polymor-

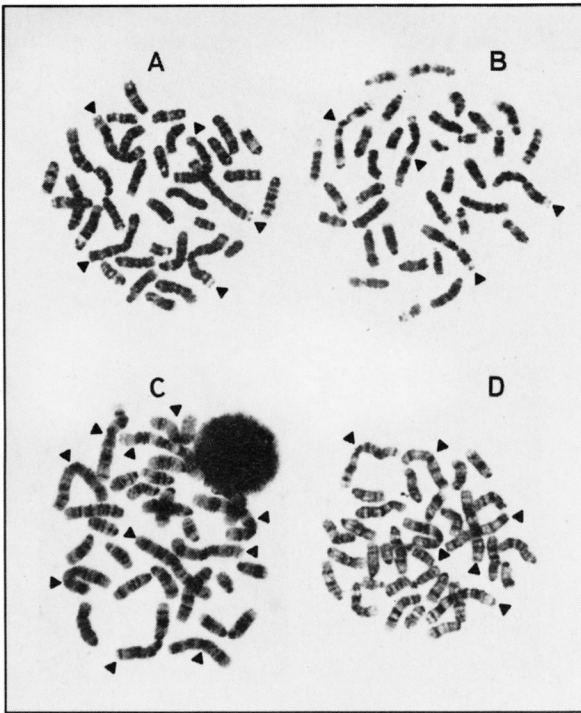
Redaktion: Robert Gerwin, Barbara Holz

Generalverwaltung der Max-Planck-Gesellschaft, Referat Presse- und Öffentlichkeitsarbeit, Postfach 647, 8000 München 1, Telefon 089/21081

Satz: Typographischer Betrieb Walter Biering, Hans Numberger, München

Druck: Walter Biering GmbH, Graphischer Betrieb, München

ISSN 0341-7778



Chromosomen von vier wilden Mäusen aus Süddeutschland. Die Chromosomen wurden so behandelt, daß Banden sichtbar werden, die die Identifizierung der einzelnen Chromosomen erlauben. Diese Mäuse stammen aus den Populationen II (A), II/III (B, C) und V (D) aus dem Gebiet zwischen Neckar und Bodensee (siehe Abb. S. 41).

phismus läßt sich am besten am Beispiel eines Spiel-Diabeträchters darstellen, in den eine Scheibe mit verschiedenen kleinen Dias eingebaut ist, etwa mit Bildern einer Stadt. Durch Knopfdruck läßt sich ein Bild nach dem anderen betrachten. Die Mhc-Gene entsprechen den Bildern auf der Scheibe, wobei jedes verschiedene Bild ein verschiedenes Allel darstellt. Eine Maus kann jeweils ein Bild = Allel anwenden, und verschiedene Mäuse benutzen verschiedene Bilder.

Aufgrund dieser Untersuchungen läßt sich vermuten, daß es bei einigen Mhc-Genen mehr als 100 Allele gibt. Dieser hohe Polymorphismus der Mhc-Gene ist einzigartig. Es ist kein anderes Gen bekannt, das in Tierpopulationen in so vielen Formen auftritt. Die meisten Gene erscheinen nur in einer Form, im Höchst-

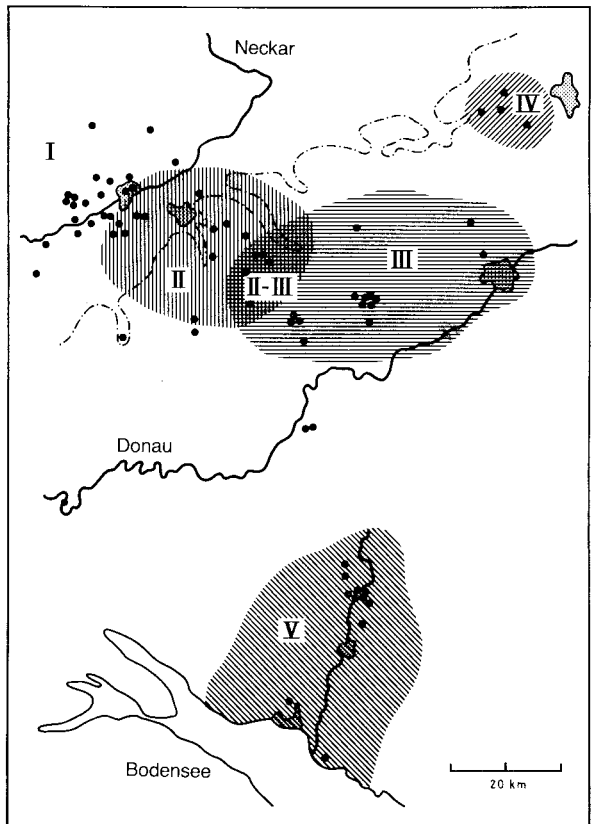
fall sind es sechs. Der Polymorphismus der Mhc-Gene ist wahrscheinlich wichtig für ihre Funktion als Marker für die Singularität des Individuums. Er stellt ein großes Hilfsmittel für Untersuchungen dar, wie Mäuse in der Wildnis leben, woher sie kommen und wie sie sich entwickeln.

Die Untersuchungen konzentrieren sich auf wilde Mäuse aus Süddeutschland, weil sie sich von denen aus Norddeutschland und den meisten anderen Gebieten der Welt in Anzahl und Form der Chromosomen unterscheiden. Die meisten Wild- und Labormäuse haben 40 Chromosomen in jeder ihrer somatischen Zellen, und jedes sieht bei geeigneter Färbung in einem bestimmten Stadium der Zellteilung wie der Buchstabe „V“ aus – solche Chromosomen werden akrozen-

trisch genannt. Die Mäuse in Süddeutschland dagegen besitzen nur 38 oder weniger Chromosomen in allen ihren Zellen, und einige dieser Chromosomen gleichen dem Buchstaben „X“ (Abb. S. 40). Diese werden metazentrisch genannt und sind wahrscheinlich durch Fusion des V-förmigen Chromosoms an der Stelle, an der die beiden Chromosomenarme zusammentreffen, entstanden. Durch den Fang und die Typisierung von Wildmäusen im süddeutschen Raum ergab sich, daß er in mindestens fünf Bereiche aufgeteilt werden kann; jeder davon ist in Mäusen mit verschiedenen X-förmigen Chromosomen besiedelt (Abb. unten). Fast alle

Mäuse besitzen ein bestimmtes Paar X-förmiger Chromosomen; die Mäuse jeder dieser fünf Bereiche sind außerdem durch das Vorhandensein zusätzlicher metazentrischer Chromosomen gekennzeichnet.

Bei der Typisierung der Mhc-Gene dieser Mäuse entstand ein Bild, das dem der Chromosomentypisierung überraschend ähnelte. Die Mhc-Typisierung teilte den süddeutschen Raum ebenfalls in fünf Bereiche, die mit denen der Chromosomenuntersuchung identisch waren. Alle Mäuse wiesen gewisse Ähnlichkeiten in der Zusammensetzung ihrer Mhc-Gene auf. Gleichzeitig trugen Mäuse



Gegenden in Süddeutschland, in denen fünf wilde Mauspopulationen leben (I bis V). Die Populationen unterscheiden sich sowohl in der Anzahl ihrer Chromosomen als auch in den Genen des Haupthistokompatibilitäts-Komplexes.

jedes Bereichs bestimmte singuläre Gene, die für jedes Gebiet charakteristisch waren. Diese Untersuchungen legen nahe, die Entstehung einer neuen Mäuseart in Süddeutschland aufzuzeigen. Das Gebiet war vor langer Zeit offenbar von einer Mäuseart besiedelt, die ein einziges Paar X-förmiger Chromosomen trug. Während die Mäuse sich über das Gebiet ausbreiteten, nahmen sie zusätzlich X-förmige Chromosomen auf, und die ursprünglich homogene Population begann sich in verschiedene Subpopulationen zu spalten. Hand in Hand mit der Chromosomendifferenzierung ging die Differenzierung individueller Gene, die in den Untersuchungen durch die Mhc-Gene repräsentiert sind. Obwohl die Subpopulationen in verschiedenen Gegenden auftreten, können sie sich untereinander kreuzen, wie durch die Präsenz gemischter Populationen – sogenannter Hybridzonen – an den Grenzen zweier Subpopulationen ersichtlich wird. Falls dieser Differenzierungsprozeß sich weiter fortsetzt, die Subpopulationen mehr und mehr X-förmige Chromosomen anhäufen und sich in ihrer Genzusammensetzung weiter verändern, erreichen sie möglicherweise ein Stadium, in dem Mäuse verschiedener Subpopulationen nicht mehr in der Lage sind, sich zu kreuzen, und bilden auf diese Weise, per definitionem, verschiedene Arten. Die Kombination von Chromosomen- und Mhc-

Oben: Der chilenische Mitarbeiter Dr. Felipe Figueroa untersucht Antikörper, die Antigene auf der Zelloberfläche erkennen. Die Reaktion der Antikörper wird nachgewiesen durch Zugabe von Komplement, das die Zellen lysiert, dadurch wird Desoxyribonukleinsäure freigesetzt, die durch Fluoreszenz gemessen wird. Steuerung und Auswertung der Messung erfolgen durch einen Computer. Unten: Der japanische Gastwissenschaftler Dr. Zenro Ikezawa vom Department of Dermatology der Yokohama University isoliert Faktoren von Lymphozyten, die die Immunantwort unterdrücken.

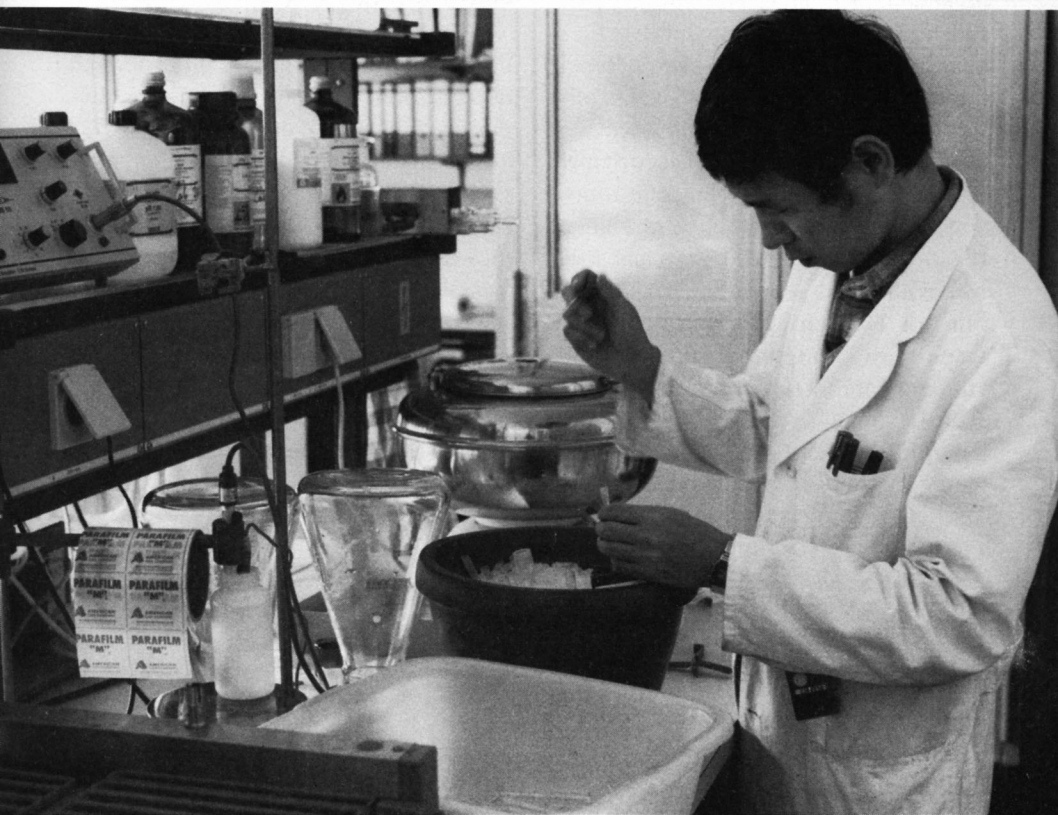
Untersuchungen ermöglicht es somit, den Evolutionsprozeß zu beobachten.

Neben der großen Genvariation findet man auch identische Gene in Mäusen verschiedener Erdteile, sogar bei verschiedenen Mäusearten. Die Stabilität des Mhc-Polymorphismus führt zu der Vermutung, daß die Evolution von Mhc-Genen anders als bei den meisten Genen abläuft. Wir glauben, daß bei Beginn der Evolution einer Säugetierart nicht nur eine Form jedes Mhc-Gens vorhanden ist, wie es wahrscheinlich bei den meisten anderen Genen der Fall ist, sondern eine Anzahl von Formen. Einige dieser Formen könnten deshalb älter sein als die Arten selbst und entwickeln sich möglicherweise ohne Beachtung der Artgrenzen, was man als „transspezifisch“ bezeichnet.

Die blinden Flecken

Die Mhc-Moleküle haben, wie bereits erwähnt, die Funktion, fremde Moleküle den T-Lymphozyten anzubieten. Dies

geschieht auf einer anderen Zelle des lymphatischen Systems, nämlich der antigen-präsentierenden Zelle (APZ).



Vermutlich erkennt der Rezeptor oder die Rezeptoren auf dem T-Lymphozyt die Kombination zwischen fremder Substanz und körpereigenen Mhc-Molekülen auf der antigen-präsentierenden Zelle (Abb. S. 36 oben). Erstaunlicherweise werden jedoch gewisse Kombinationen fremder Antigene und eigener Mhc-Moleküle durch T-Lymphozyten eines bestimmten Individuums nicht erkannt; folglich kann ein Individuum sich nicht gegen diesen Eindringling wehren.

Bis vor kurzem nahm man an, daß der Grund für dieses Versagen das Fehlen einer Assoziation von fremden und Mhc-Molekülen auf der Plasmamembran der antigen-präsentierenden Zelle ist. Die Untersuchungen zeigen jedoch ziemlich klar, daß der eigentliche Grund im Fehlen funktioneller T-Lymphozyten liegt, die in der Lage sind, die spezielle Kombination fremder und Mhc-Moleküle zu erkennen. Mit anderen Worten, jedes Individuum hat bestimmte „blinde Flecken“ in seinem T-Lymphozyten-Repertoire; es besitzt T-Lymphozyten mit Rezeptoren für einen bestimmten Satz fremder und Mhc-Moleküle, jedoch nicht für alle Moleküle. Verschiedene Individuen haben offensichtlich verschiedene blinde Flecken, je nachdem welche Mhc-Moleküle sie exprimieren. Wegen eines blinden Fleckens im T-Lymphozyten-Repertoire kann ein Individuum, das bestimmte Mhc-Moleküle exprimiert, anfällig für einen bestimmten Virustyp oder andere Parasiten werden. Andere Individuen, die andere Mhc-Moleküle tragen, können wegen anders gelagerter blinder Flecken in ihren T-Lymphozyten resistent gegen dieses Virus, jedoch anfällig für ein anderes Virus sein.

Diese Beobachtung ist der Schlüssel für die ansonsten verwirrende Eigen-

schaft der Mhc-Gene, den hohen Polymorphismus. Die große Zahl von Allelen eines individuellen Mhc-Gens mag der Weg sein, über den solche blinde Flecken kompensiert werden können. Wären in allen Individuen einer bestimmten Art die gleichen blinden Flecken vorhanden, wären sie alle für das gleiche Virus anfällig. Eine Infektion durch ein solches Virus würde in kurzer Zeit die meisten Individuen dieser Art befallen und somit deren Existenz gefährlich bedrohen. Durch die Anwesenheit vieler verschiedener Mhc-Genformen in einer Population kann eine solch katastrophale Pandemie vermieden werden.

Die Theorie der blinden Flecken liefert auch eine Erklärung dafür, daß bestimmte Krankheiten bei Menschen mit gewissen Mhc-Genen häufiger auftreten als bei solchen mit anderen Mhc-Genen. Man könnte sich vorstellen, daß zumindest einige dieser Krankheiten auf ein Versagen der Reaktion gegenüber dem auslösenden Faktor zurückzuführen sind und daß dieses Versagen eine Folge blinder Flecken im T-Zell-Repertoire ist.

Warum die blinden Flecken überhaupt vorhanden sind, ist unklar. Die Untersuchungen deuten darauf hin, daß die meisten Individuen ursprünglich ein komplettes T-Lymphozyten-Repertoire haben und blinde Flecken in der Embryonalentwicklung eines Individuums entstehen. Dies wird möglicherweise durch die Ähnlichkeit fremder und körpereigener Moleküle verursacht, also zwischen „Nicht-Selbst“ und „Selbst“. Wenn dies der Fall ist, müßte es möglich sein, das T-Lymphozyten-Repertoire durch spezielle Manipulationen zu beeinflussen und somit die Abwehrreaktion des Individuums entweder zu verstärken oder zu vermindern.

In erst angelaufenen Untersuchungen gelang es, die Sperren der Reaktionsfähigkeit auf eine fremde Substanz zu durchbrechen. Die angewandten Mäuse sind normalerweise nicht in der Lage, Antikörper gegen ein bestimmtes Enzym, Laktat-Dehydrogenase B (LDH_B), zu produzieren. Es wurde nachgewiesen, daß der Grund hierfür darin liegt, daß eine bestimmte Kombination von LDH_B - und Mhc-Molekülen durch Rezeptoren auf einem bestimmten Satz T-Lymphozyten, den T-Suppressorzellen, erkannt wird. Nach Aktivierung wirken die Suppressorzellen auf Zellen ein, die normalerweise Antikörper produzieren, und hemmen diese. Mäusen, die sonst nicht auf LDH_B reagieren, wurden Mhc-spezifische Antikörper injiziert. Die Mäuse waren dann in der Lage, Antikörper gegen LDH_B zu produzieren. Durch eine besondere Form „immunologischer Technologie“ werden also die „Nonresponder“- in „Responder“-Mäuse verwandelt. Voraussetzung für diese Ergebnisse ist, daß die injizierten Mhc-spezifischen Antikörper die Mhc-Moleküle der antigen-präsentierenden Zelle besetzen; die besetzten Moleküle werden dann durch die

Rezeptoren der Suppressorzellen nicht mit LDH_B erkannt; es gelingt nicht, die Suppressorzellen zu aktivieren, und die antikörper-produzierenden Zellen können folglich ihre Funktion normal ausführen. Das Ausbleiben einer Antwort auf LDH_B ist irrelevant für das normale Leben einer Maus oder eines Menschen. Man könnte sich jedoch vorstellen, daß eine Antwort auf wichtigere Moleküle, etwa Moleküle einer Tumorzelle, in gleicher Weise gehemmt werden könnte. Dieser Versuch bietet möglicherweise bestimmte Möglichkeiten, die Reaktion auf diese Moleküle ebenfalls zu beeinflussen.

Ein solches Vorgehen könnte Möglichkeiten für die therapeutische Anwendung bei solchen Fällen bieten, die durch Defekte bei der „Selbst“-„Nicht-Selbst“-Untersuchung verursacht werden. Wie nützlich eine solche Theorie ist, wird sich erst herausstellen müssen. Außer einer möglichen Bedeutung für die praktische Anwendung ist bereits ziemlich klar, daß die Erforschung des Mhc einen Einblick in ein Grundcharakteristikum des Lebens liefern wird – die Fähigkeit, die Individualität eines Organismus zu bewahren.

Struktur und Funktion biologischer Membranen

Die vielfältigen Eigenschaften der belebten Natur sind zu einem wesentlichen Teil Ausdruck der ihnen zugrunde liegenden Membranprozesse. Membranen sind an der Teilung einer Bakterienzelle oder der Nutzung von Sonnenenergie durch die Pflanze ebenso beteiligt wie am Sehvorgang im Auge, an der Abstoßung eines transplantierten Herzens oder an der Wechselwirkung von Nervenzellen im Gehirn. Die Untersuchung der Struktur und Funktion biologischer Membranen ist daher ein weitverzweigtes Forschungsgebiet der Zellbiologie.

Biologische Membranen sind in sich geschlossene, extrem dünne „Häutchen“, die als Trennwände Räume begrenzen. Jede Zelle besitzt an ihrer Oberfläche eine Membran, die Zellmembran, als Grenze zwischen Zellinnerem und Umwelt. Die wichtigste Eigenschaft der Zellmembran ist die einer wirkungsvollen Barriere. Diese Undurchlässigkeit der Zellmembran für die Mehrzahl aller Substanzen ist eine notwendige Voraussetzung für eine grundsätzlich verschiedene stoffliche Zusammensetzung im Zellinnern und in dem die Zelle umgebenden Medium. Andererseits müssen Zellen Nährstoffe aufnehmen und Ab-

fallstoffe ausscheiden, Signale durch Botenmoleküle in die Umwelt senden und aus der Umwelt empfangen. Die Zellmembran muß daher für ganz bestimmte Stoffe durchlässig sein. Dies geschieht auf zwei grundsätzlich verschiedene Weisen.

Für den Durchtritt kleiner Moleküle, wie Zucker, Aminosäuren oder Ionen, sind Transportsysteme in die Membran eingebaut. Transportsysteme sind sehr spezifisch, das heißt ein Transportsystem macht die Membran für Glukose, ein anderes für Na^+ -Ionen und so fort durchlässig. Dieser Mechanismus versagt, wenn große Gebilde, wie Hormone, Viren oder ganze Bakterien, über eine Membran transportiert werden sollen. Hier erfolgt Transport durch Endozytose oder Exozytose. Bei der Endozytose etwa eines Bakteriums durch eine tierische Freßzelle wird das Bakterium zunächst an der Oberfläche der Freßzelle festgehalten. Anschließend hüllt die Zellmembran das Bakterium vollständig ein, schnürt sich ab, und das Bakterium gelangt, in Zellmembran verpackt, ins Zellinnere. Bei der Exozytose verschmilzt umgekehrt ein beispielsweise mit Insulin gefülltes Membranbläschen mit der

Innenseite der Zellmembran, wobei das Hormon in das umgebende Medium ausgeschüttet wird.

Damit sind die Probleme umrissen, mit denen die Abteilung sich beschäftigt. Die Struktur der Membran als Barriere läßt sich am einfachsten an Modellmembranen studieren, die nur aus einer oder

wenigen Komponenten bestehen. Der Transport wird am Beispiel der Aufnahme von Zuckern durch das Bakterium *Escherichia coli* untersucht. Zum Studium des komplexen Mechanismus der Endozytose erwies sich die Amöbe *Dictyostelium discoideum* als besonders geeigneter Organismus.

Die Lipiddoppelschicht als Barriere

Membranen bestehen zu etwa einem Drittel aus Phospholipiden. Sie bestimmen als Grundgerüst die Barrierefunktion von Membranen. Phospholipidmoleküle (Abb. S. 48, Fig. a) bestehen aus zwei Bereichen mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften. Sie tragen einen Kopf, der sich gern mit Wassermolekülen umgibt und zwei Fettsäureketten, die den Kontakt mit Wassermolekülen meiden. Diese strukturellen Besonderheiten bedingen, daß sich Phospholipide in Wasser von selbst zu einer Doppelschicht (Fig. b) zusammenlagern, wobei die Köpfe beidseitig nach außen, die Fettsäurereste ins Innere gerichtet sind. Es entsteht ein in sich geschlossenes Bläschen, das einen Innenraum von der Umwelt trennt (Fig. c). Ein solches Bläschen ist für die meisten wasserlöslichen Stoffe undurchlässig, wirkt also als Trennwand. Im Gegensatz zu anderen Trennwänden, etwa einer Steinmauer, ist es jedoch leicht deformierbar. Doppelschichten aus reinen Lipiden sind wegen ihres einfachen Aufbaus gut geeignet, um im Detail die Anordnung und Beweglichkeit der Lipidmoleküle verstehen zu lernen. Die innere Struktur der Membran ist das Ergebnis eines heftigen Kampfes zwischen Ord-

nung und Unordnung. Als ordnendes Prinzip wirkt die Wechselwirkung der Lipidmoleküle, insbesondere der Fettsäureketten, die sich bevorzugt parallel zueinander orientieren. Das Element der Unordnung ist die thermische Bewegung der Moleküle. Die Fettsäureketten sind zwar im Mittel senkrecht zur Oberfläche orientiert, führen aber rasche Dreh- und Wackelbewegungen aus. Außerdem können die Lipidmoleküle in der Membranebene sehr rasch ihre Plätze wechseln. In Analogie zum Verhalten von Flüssigkeiten spricht man von dem fluiden Zustand der Membran (Fig. b). Änderungen der Außenbedingungen führen zum Übergang in den geordneten Zustand (Fig. d). Bei Erniedrigung der Temperatur treten zunächst verstreut und vorübergehend kleine Bereiche geordneter Lipidketten auf, bis schließlich bei einer für die Struktur des Lipids charakteristischen Temperatur ein plötzlicher Übergang in den geordneten Zustand stattfindet, in dem alle Lipidketten parallel zueinander liegen und ein Platzwechsel der Moleküle in der Ebene nur ganz selten möglich ist.

Die theoretischen Untersuchungen haben gezeigt, daß diese zweidimensio-

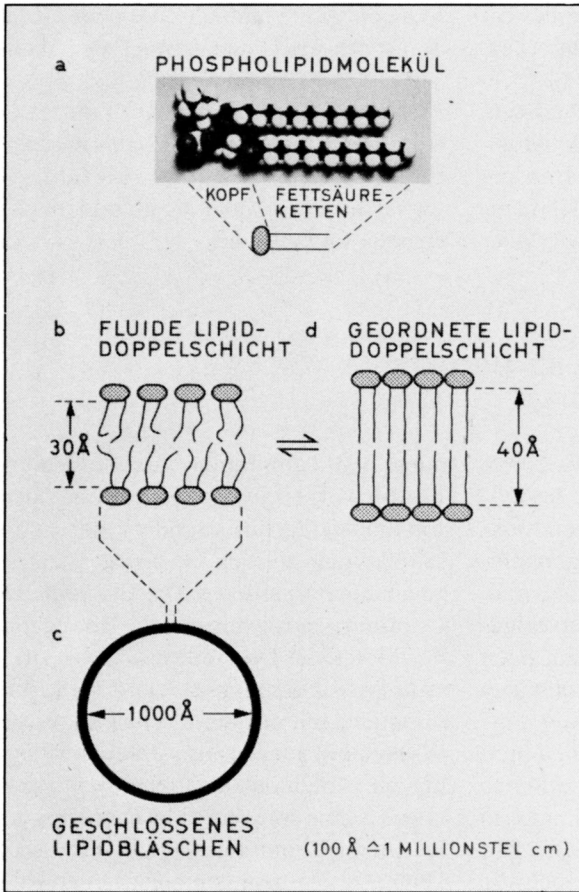


Fig. a: Modell eines Phospholipidmoleküls mit Kopf und gestreckten Fettsäureketten. Fig. b: Schnitt durch eine fluide Lipiddoppelschicht. Die Ketten führen rasche Dreh- und Wackelbewegungen aus. Fig. c: Schnitt durch ein geschlossenes Lipidbläschen. Fig. d: Geordnete Lipiddoppelschicht mit gestreckten Ketten; sie entsteht aus Fig. b bei Erniedrigung der Temperatur.

nale Zustandsänderung der Membran große Ähnlichkeit mit anderen physikalischen Zustandsänderungen, etwa der Kristallisation von Flüssigkeiten, hat, bei denen ein plötzlicher Übergang von einem ungeordneten in einen geordneten Zustand stattfindet. Diese Analogie erlaubt unter anderem die Voraussage, daß eine Lipidmembran im Temperaturbereich der Umwandlung besonders leicht deformierbar sein sollte. Lipidmembranbläschen verschmelzen beispielsweise im Bereich der Umwandlung besonders leicht miteinander.

Wie sind Phospholipide in biologischen Membranen angeordnet, in denen Eiweißstoffe oder Proteine 70 Prozent des Gewichts ausmachen? Der untere Teil der Abbildung Seite 25 zeigt einen Schnitt durch die Zell- oder Zytoplasmamembran des Bakteriums *Escherichia coli*. Man erkennt eine Lipiddoppelschicht, in die Proteine eingelagert sind. Durch Verwendung genetischer Methoden wurde die Struktur der Fettsäureketten und der wasserliebenden Köpfe der Phospholipide in der Zellmembran des Bakteriums systematisch verändert. Es läßt

sich dann zeigen, daß der größte Teil der Phospholipide in der Membran bei Temperaturenniedrigung vom fluiden in den geordneten Zustand übergehen kann, in völliger Analogie zum Verhalten reiner Lipidmembranen. In Zusammenarbeit mit Kollegen am Biozentrum in Basel (*J. Seelig* und *H. U. Gally*) ergab sich weiter, daß die Orientierung und Beweglichkeit der Phospholipide bis ins Detail der entspricht, die bereits für den fluiden Zustand einer Modellmembran beschrieben wurde. Dieser fluide Zustand ist eine Grundvoraussetzung für eine funktionell aktive biologische Membran. Liegen die Phospholipide im geordneten Zustand vor, so kann die Membran lebenswichtige Funktionen nicht ausführen, und Zellwachstum ist unmöglich. Auf unserem Planeten ist Leben zwischen den Temperaturen heißer Quellen und arktischer Meere möglich. Die Lipidzusammensetzung der Membranen jedes Organismus muß daher der jeweiligen Wachstumstemperatur so angepaßt sein, daß der fluide Zustand vorliegt. So wächst das Darmbakterium *Escherichia coli* normalerweise bei 37° C; diese Temperatur liegt etwa 20° C über der Tempe-

ratur, bei der die Phospholipide der Membran in den geordneten Zustand übergehen.

Die Einlagerung von Proteinen in die Lipiddoppelschicht muß so erfolgen, daß die Funktion der Membran als Barriere erhalten bleibt. Es stellt sich daher die Frage, wie Proteine die Anordnung der Phospholipide in ihrer Umgebung beeinflussen. Spektroskopische Messungen an Lipidmembranen, die nur eine Art von Protein enthalten, führten zu folgender Vorstellung (dies wird auch in der Anordnung der Fettsäureketten in Nachbarschaft der Proteine in der Abbildung Seite 25 sichtbar): Das Protein sitzt wie ein Klotz mit einer sehr unregelmäßigen Oberfläche in der Doppelschicht. Die Starrheit der Proteinoberfläche schränkt einerseits die Wackelbewegungen der angrenzenden Fettsäureketten der Phospholipide ein. Andererseits verlieren die Ketten ihre zur Membranoberfläche senkrechte Orientierung und schmiegen sich in die Vertiefung der unregelmäßigen Proteinoberfläche. Auf diese Weise wird die Membran in der unmittelbaren Umgebung von Proteinen wirksam abgedichtet.

Beta-Galaktosidtransport im Darmbakterium *Escherichia coli*

Die in die Lipiddoppelschicht der bakteriellen Zellmembran eingelagerten Proteinmoleküle sind unter anderem dafür verantwortlich, Nahrungsstoffe wie Zucker oder Aminosäuren ins Zellinnere zu transportieren. Wie bereits erwähnt, sind diese Transportsysteme spezifisch, das heißt man braucht für den Transport jedes Stoffes ein eigenes Protein. Unter-

sucht wird ein Transportsystem, das Laktose (Milchzucker) in die *Escherichia coli*-Zelle transportiert. Die Frage ist also, wie ein in die Zellmembran eingelagertes Protein die Bewegung eines Zuckers von einer zur anderen Seite ermöglicht.

Die Abbildung Seite 50 zeigt ein Modell des Laktosetransports, zu dem die

Inhalt

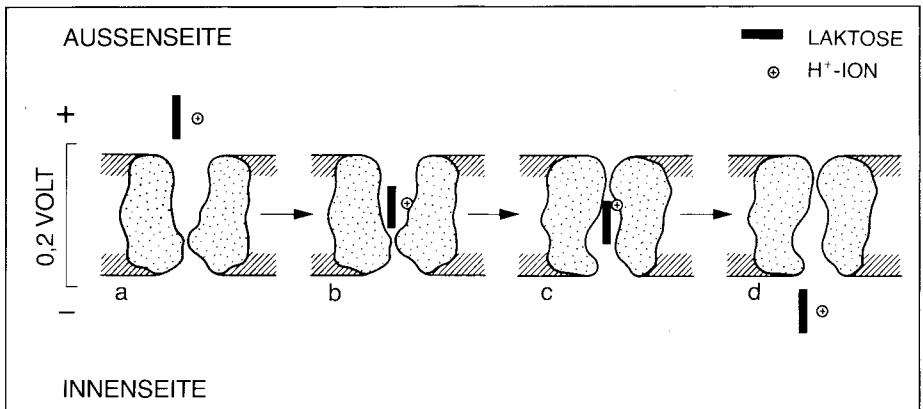
Vorwort	7
Die Geschichte des Instituts von 1912 bis 1983	9
Die erste Generation	10
Die zweite Generation	14
Umzug nach Tübingen	16
Die dritte Generation	17
Die Gegenwart	18
Zusammenfassung	21
Zeittafel	22
Ein Protein der Zellwand eines Bakteriums – Manipulation seines Gens und seine Phagen	23
Funktionen und Topologie des OmpA-Proteins	26
Das Gen und der Einbau des OmpA-Proteins in seine Membran	27
OmpA-spezifische Phagen	31
Die Gene des Haupthistokompatibilitäts-Komplexes	34
Die Abwehrmechanismen des Körpers	34
Die Mhc-Gene	35
Die Mhc-Antigene	38
Der Mhc-Polymorphismus	39
Die blinden Flecken	42

Versuche beigetragen haben. Das Protein ist eine Kette von 417 Aminosäuren, mit einem besonders hohen Anteil solcher Aminosäuren, die ähnlich wie die Fettsäureketten der Phospholipide den Kontakt mit Wasser meiden. Damit bekommt das Protein die Eigenschaft, sich in der Umgebung einer Lipiddoppelschicht wohlfühlen. Man kann weiter annehmen, daß die Aminosäurekette in weiten Bereichen wendeltreppenartig gewunden ist und so die Doppelschicht wiederholt mäandierend durchdringt. Diese Bereiche bilden schließlich zusammen eine hochorganisierte, kompakte Struktur, die man vereinfacht als Klotz beschreiben kann.

Den Ablauf des Transports kann man sich folgendermaßen vorstellen. Jeweils ein Laktosemolekül und ein Wasserstoffion (H^+) lagern sich an Bindungsstellen in eine Tasche des Proteins (Abb. unten, Fig. a nach Fig. b). Die Tasche öffnet sich zunächst nach außen. Es folgt eine in

ihrem Ablauf ganz unverstandene Änderung der Proteinstruktur, die dazu führt, daß die Tasche sich nun nach innen öffnet (b nach c). Laktose und Wasserstoffion verlassen ihre Bindungsstellen und gelangen ins Zellinnere (c nach d). Schließlich führt eine zweite Änderung der Proteinstruktur zurück zum Ausgangszustand (d nach a).

Welchem Zweck dient der gleichzeitige Transport eines H^+ -Ions? Laktose wird im Innern der Zelle bis zum Tausendfachen der Konzentration auf der Außenseite angehäuft. Die hierfür notwendige Energie stellt eine an der Membran anliegende elektrische Spannung zur Verfügung, für deren Aufrechterhaltung andere Membranproteine sorgen. Das positiv geladene Wasserstoffion fließt, energetisch betrachtet, bergab zur negativ geladenen Innenseite der Membran, während Laktose gleichzeitig bergauf nach innen fließt. Das Protein ist also ein Energiewandler, der es der Zelle ermög-



Modell des Laktosetransports. Fig. a: Das im Schnitt gezeigte Protein überspannt die nur schematisch angedeutete Lipiddoppelschicht und öffnet eine Tasche zur Außenseite. Fig. b: Laktose und H^+ -Ion lagern sich in der Tasche an Bindungsplätze. Fig. c: Das Protein ändert seine Struktur und öffnet sich jetzt zur Innenseite. Fig. d: Laktose und H^+ -Ion verlassen die Bindungsplätze auf der Innenseite.

licht, unter Verbrauch von elektrischer Energie das Nahrungsmittel Laktose im Innern zu konzentrieren.

Die Bemühungen der Abteilung in den letzten Jahren galten, neben der Beschreibung der dynamischen Eigenschaften des Transportvorgangs, vor allem der Reinigung des Proteins. Hierzu wurden mit gentechnologischen Methoden zunächst Bakterien entwickelt, die das

Protein in großer Menge bilden können. Ein einfaches Verfahren erlaubt es nunmehr, das Transportprotein aus der Zellmembran des Bakteriums herauszulösen, von anderen Proteinen zu trennen und im aktiven Zustand in eine Phospholipidmembran einzubauen. So erhält man neue Möglichkeiten zur Untersuchung der dreidimensionalen Struktur des Proteins und des Transportmechanismus.

Endozytose und Membran-Recycling in der Amöbe *Dictyostelium discoideum*

Dictyostelium discoideum ist eine freilebende, einzellige Amöbe, die sich normalerweise von Bakterien ernährt. Das Bakterium wird an der Außenseite der Zellmembran angeheftet (Abb. S. 52, Fig. a) und gelangt nach Abschnürung als membranumschlossenes Paket ins Zellinnere (Fig. b). Im Laboratorium kann man Amöben auch mit Unverdaulichem füttern. Die Abbildung Seite 53 zeigt elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zellen bei dem Versuch, Plastikugeln zu verschlucken. Außerdem kann die Zelle auch gelöste Stoffe zur Nahrung aufnehmen. Im Gegensatz zum oben besprochenen bakteriellen Transport nehmen die Amöben Nahrung schluckweise zu sich, in dem sie kleine, mit Flüssigkeit gefüllte Membranbläschen von der Oberfläche abschnüren und ins Innere transportieren (Abb. S. 52, Fig. c).

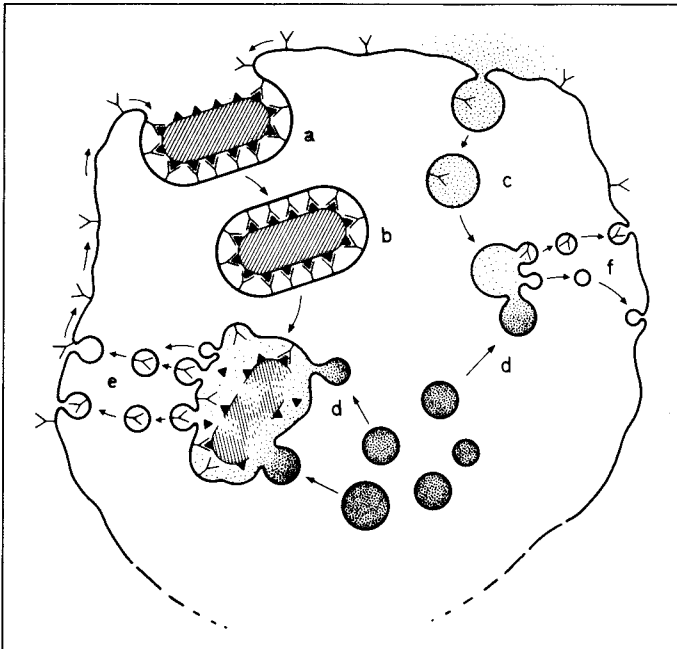
Die Nahrungsaufnahme, auch Endozytose genannt, ist nur der erste Schritt einer Reihe komplizierter Vorgänge, die sich anschließend im Innern der Zelle abspielen. Die mit Bakterien oder Nährflüssigkeit gefüllten Pakete verschmelzen

mit weiteren Membranbläschen, in denen sie der zersetzenden Wirkung von Verdauungsenzymen ausgesetzt werden (Fig. d). Insgesamt führt Endozytose zu einem Transport von Membran von der Oberfläche ins Zellinnere. Die Oberfläche und das Volumen der Zelle wird aber nicht verkleinert, weil ein gegenläufiger Vorgang, Recycling genannt, Membran zur Oberfläche zurückbefördert (Fig. e und f). Endozytose und Recycling gleichen somit einem Transport von Containern, die beladen zum Zielort gefahren und als Leergut zum Ausgangsbahnhof zurückgeschickt werden. Die Versuche zu zwei Teilaspekten dieser komplizierten Vorgänge sollen hier beschrieben werden.

Läßt sich der Membrantransport während Endozytose und Recycling quantitativ messen? Hierzu wurde die Oberfläche der Amöben mit einer Sonde markiert. Das Verschwinden dieser Sonde von der Oberfläche ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Endozytose, ihr Wiedererscheinen an der Oberfläche ein Maß für das Recycling. Es zeigt sich, daß

die gesamte Zellmembran innerhalb einer Stunde mehrmals ins Innere aufgenommen wird und in Gegenrichtung wieder an der Oberfläche erscheint. Mit Hilfe dieser Sonde wurde weiterhin der Weg verfolgt, den die Membranbläschen im Zellinnern nehmen. Nach Abschnürung von der Oberfläche verschmelzen sie sehr schnell mit anderen Membranstrukturen der Zelle (Fig. d). Aufgrund des fluiden Zustands der beteiligten Membranen würde man daher erwarten, daß alle Membrankomponenten sich durchmischen. Eine solche Durchmischung findet aber tatsächlich nur teilweise statt. Es bleibt daher vorläufig die Frage offen, wie trotz vielfältiger Verschmelzungs- und Abschnürungsvorgänge die Zellmembran und die beteiligten intrazellulären Membranen ihre charakteristische Zusammensetzung aufrecht erhalten.

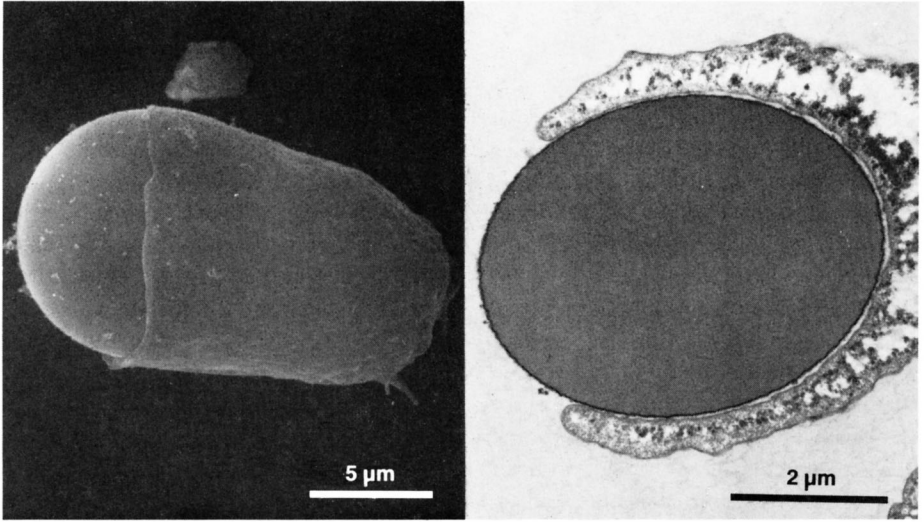
Wie werden Bakterien oder andere Teilchen an der Oberfläche der Amöben angeheftet? Zur Beantwortung dieser Frage wurden Mutanten isoliert, die zwar noch flüssige Nahrung schlucken können, jedoch defekt in der Aufnahme partikulärer Nahrung sind. Eine genauere Untersuchung dieser Mutanten führte zu folgender Vorstellung: Die Amöbenoberfläche trägt zwei verschiedene Typen von Bindungsstellen. Der eine Typ bindet eine definierte Struktur an der Bakterienoberfläche (Fig. a), der andere Typ ist unspezifisch und erlaubt neben der Bindung von Bakterien auch die Anhaftung etwa von Plastikugeln oder roten Blutkörperchen. Dieser zweite Typ von Bindungsstelle ist in der Mutante in seinen Eigenschaften so verändert, daß Bakterien daran nicht mehr haften können. Interessanterweise verlieren die Mutanten gleichzeitig die Fähigkeit, unter ge-



Schematische Darstellung der Endozytose und des Membran-Recycling. Fig. a: Anheften eines Bakteriums an die Zellmembran über komplementäre Erkennungsstrukturen (Y, ▲). Fig. b: Abgeschnürtes Membranpaket mit eingeschlossenem Bakterium. Fig. c: Aufnahme von Nährflüssigkeit in Membranbläschen. Fig. d: Verschmelzen von Nahrungsbläschen mit Verdauungsbläschen. Fig. e, f: Recycling von Membran zur Oberfläche.

eigneten Bedingungen mit sich selbst mehrzellige Aggregate zu bilden. Die Versuche eröffnen daher einen Weg, die

Komponenten und Struktur der Haftstellen an der Amöbenoberfläche näher zu charakterisieren.



Endozytose von Plastikugeln durch die Amöbe Dictyostelium discoideum. Links: Rasterelektronenmikroskopisches Bild. Rechts: Schnitt.

Chromosomenforschung an höheren Organismen

„In biology, everything converges upon, and diverges from the chromosomes“ – mit diesem Zitat leitete einst ein bedeutender Chromosomenforscher aus der Pionierzeit der Zytologie einen Diskussionsbeitrag ein. Sicher wollte er damit in erster Linie andeuten, daß die Chromosomen nicht irgendein Zell-Organell unter vielen anderen darstellen, sondern als Träger der Erbfaktoren über das Individuum hinaus in Artbildung und Arterhaltung die Schlüsselrolle spielen.

Zu dieser Folgerung bedurfte es nicht erst der Kenntnis von der Doppelhelix und weiteren Errungenschaften der molekularen Genetik: Im Blick auf die faszinierenden Manöver des Chromatins während der Kernteilung konnte bereits *Wilhelm Roux* 1883 feststellen: „Die Kerntheilungsfiguren sind Mechanismen, welche es ermöglichen, den Kern nicht bloß seiner Masse sondern auch der Masse und Beschaffenheit seiner einzelnen Qualitäten nach zu theilen . . . Es muß aus den complicirten Verrichtungen des scheinbar homogenen organischen Substrats mit Sicherheit eine complicirte Struktur gefolgert werden.“

Diese prophetischen Einsichten bezogen sich auf Beobachtungen, die gerade

erst durch den sprunghaften Fortschritt in der mikroskopischen Technik möglich geworden waren. Sie zeigten, daß sich bei der Teilung des Zellkerns das Chromatin zu Fäden (Chromosomen) ordnet, deren Zahl und relative Größe konstant und für jede Spezies charakteristisch ist, und zwar als Folge der identischen Verdopplung jedes Chromosoms vor der Verteilung der Spalzhälften auf die Tochterzellen.

In den paradiesischen Zeiten vor der Doppelhelix hat die klassische Zytologie Beobachtungen und Versuchsergebnisse genug beibringen können, um die Chromosomentheorie der Vererbung fest zu etablieren, obwohl man von den biochemischen Grundlagen kaum eine Vorstellung hatte. Unter den zahlreichen Methoden der Kern- und Chromosomenfärbung für mikroskopische Präparate wurde von dem Chemiker *R. J. W. Feulgen* (1924) ein Verfahren zur spezifischen Färbung von Desoxyribonukleinsäure (DNS) entwickelt, bei dessen Anwendung einzig und allein die Chromosomen positiv reagierten. Da diese Reaktion stöchiometrisch verläuft, konnte sie zur photometrischen Bestimmung des DNS-Gehalts einzelner Zellkerne und Chro-

mosomen verwendet werden: Dabei erwies sich der DNS-Gehalt des Chromosomensatzes für jede Spezies als konstant. Die naheliegende Annahme, daß die DNS die eigentliche Erbsubstanz sein muß, konnte allerdings erst durch die Transformation von Bakterien mit fremder DNS beziehungsweise durch Untersuchungen über den Vermehrungszyklus der Bakteriophagen bewiesen und durch die Strukturaufklärung der DNS als Doppelhelix auch theoretisch begründet werden.

Mit der Einsicht, daß die DNS bei allen Organismen die Erbinformation, also das gesamte Entwicklungsprogramm der Spezies, verschlüsselt in sich trägt, sind noch nicht alle Fragen zur Struktur und Funktion der Chromosomen beantwortet: Während das Genom primitiver Organismen, wie der Bakterien und Blaualgen (Prokaryonten), ein einziges ringförmig geschlossenes DNS-Molekül darstellt, ist das Genom höherer Organismen (Eukaryonten) auf mehrere Chromosomen verteilt, in denen je ein durchlaufender DNS-Faden mit Eiweißkörpern (Histonen und Nicht-Histonen) in bestimmter Weise in Verbindung tritt. Dies führt zu dem im Mikroskop beobachteten so charakteristischen Formwandel der Chromosomen in den Teilungsstadien. Zu den weiteren Requisiten des Eukaryonten-Genoms gehören die Kontrolle des Faktorenaustausches in den Reifeteilungen vor der Bildung der Keimzellen, der Aufbau eines Verteilungsapparats in Form der „Teilungsspindel“, die Bildung eines Nukleolus und einer das ganze Genom einschließenden Kernmembran. Dies alles gilt, von seltenen Ausnahmen abgesehen, für sämtliche Eukaryonten, woraus man folgern kann, daß die Entwicklung des

Eukaryonten-Genoms die entscheidende Voraussetzung für die Eukaryonten-Evolution gewesen sein muß.

Bei soviel Übereinstimmung in den Bau- und Funktionsprinzipien nimmt eine früher wenig beachtete Eigentümlichkeit der Eukaryonten-Genome Wunder: Dies sind die fast unglaublichen Unterschiede in der Genomgröße, also des DNS-Gehalts des einfachen Chromosomensatzes, bei verschiedenen, auch nahe verwandten Arten. Die Werte erstrecken sich von 0,1 bis etwa 100 Pikogramm ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$) und variieren beispielsweise bei verschiedenen Amphibien, Strudelwürmern oder in einigen Pflanzenfamilien (*Droseraceae*) um den Faktor 10, bei gleicher Chromosomenzahl; das heißt, in diesen Fällen ist jedes Chromosom des einen Satzes bis zu zehnmal so groß wie sein Pendant im anderen. Seitdem vor einigen Jahren unterschiedliche Polynemie (Vielfädigkeit) als Deutung des „DNS-Paradox“ ausgeschlossen wurde, sind wir nun mit der Tatsache konfrontiert, daß in ihrer Organisationshöhe vergleichbare Organismen drastische Unterschiede in der Genomgröße, also im potentiellen Informationsgehalt ihrer DNS, aufweisen. Dies Paradox kann letzten Endes nur durch sorgfältige Analyse der Verteilung, des Feinbaus und der Funktion von kodierenden und nicht-kodierenden, einfachen und vielfach wiederholten DNS-Sequenzen in den Chromosomen aufgelöst werden.

Wie die folgenden Beispiele zeigen sollen, läßt sich jedoch eine Reihe von Fragen zur strukturellen und funktionellen Gliederung der Chromosomen ohne großen molekularbiologischen Aufwand, mit den Methoden der klassischen Zytogenetik vorklären. Hierzu bieten sich besonders solche Situationen an, in

denen eine Gliederung der Chromosomen licht- und elektronenoptisch direkt erfassbar ist. Dies ist der Fall bei den polytären Riesenchromosomen, von denen hier hauptsächlich die Rede sein wird. Daß aber auch das Studium „gewöhnlicher“ Chromosomen interessante

Aufschlüsse zur Frage der Genomgröße liefern kann, zeigt das abschließend behandelte Beispiel von Kleinkrebsen der Gattung *Cyclops*. Im übrigen sind nur solche Fragen angeschnitten, an deren Beantwortung in der jetzigen Besetzung der Gruppe weitergearbeitet wird.

Struktur- und Funktionseinheiten von Riesenchromosomen

Das Querscheibenmuster und die Lokalisation von Erbfaktoren

Polytänie kommt regelmäßig nur in der Insektenordnung der Dipteren (Zweiflügler) vor, zu der zum Beispiel die oft untersuchten Fliegen der Gattung *Drosophila* oder Mücken aus den Familien der Chironomiden und Sciariden gehören. Polytänie entsteht durch die wiederholte Verdopplung der Chromosomen in den Kernen schnell wachsender Zellen und den festen Zusammenschluß der Verdopplungsprodukte zu Bündeln von bis zu 2^{14} Einzelelementen. Mit fortschreitender Polytänie werden die Riesenchromosomen nicht nur dicker, sondern auch immer länger. Dabei kommt eine für jedes Chromosom charakteristische und artspezifische Querstreifung zum Vorschein, in der sich Hunderte stark kondensierter Querscheiben unterschiedlicher Dicke mit ebenso vielen schwach kondensierten Zwischenscheiben (Interbanden) abwechseln. Unabhängig von dem allgemeinen Interesse, das eine derartige Gliederung beansprucht, bildet das Querscheibenmuster der Riesenchromosomen ein ideales Referenzsystem, das die Zuordnung

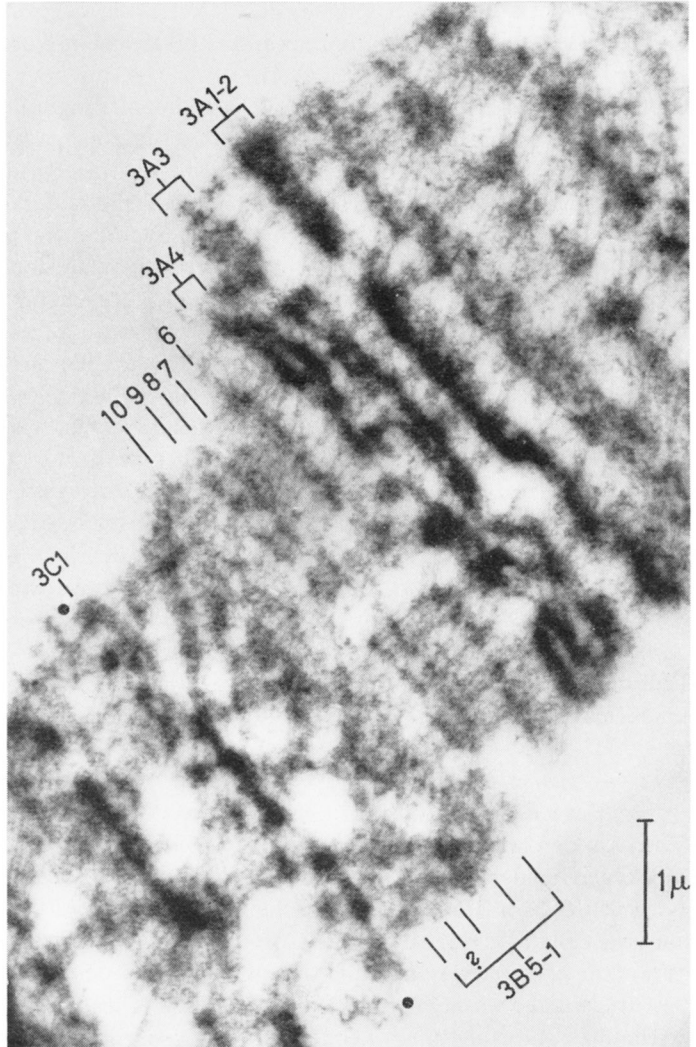
genetischer Funktionen zu einigen Tausend (bei *Drosophila* etwa 5000) einzeln identifizierbarer Untereinheiten der Chromosomen erlaubt.

Schon den ersten Untersuchern der Riesenchromosomen hatte sich die Möglichkeit aufgedrängt, daß die beobachteten Strukturelemente (Querscheiben und/oder Zwischenscheiben) das materielle Korrelat der Mendelschen Erbfaktoren, der Gene, darstellen. Um die postulierte Beziehung zwischen Querscheiben und Genen zu prüfen, erzeugt man in definierten Teilbereichen der Chromosomen eine möglichst große Anzahl von Mutationen (Erb-Änderungen). Durch gegenseitiges Auskreuzen der Mutationen läßt sich dann ermitteln, wie vielen Genen sie angehören. Mutationen gehören demselben Gen an, wenn sie einander nicht „komplementieren“. In allen bisher unternommenen Komplementations-Versuchen hat sich eine annähernde Übereinstimmung in der Anzahl der Komplementations-Einheiten und der Anzahl der im zugehörigen Bereich der Riesenchromosomen erkennbaren Querscheiben ergeben. Abweichungen gehen nicht über den Faktor 2 hinaus. Von besonderem Interesse ist, daß die 1:1-Beziehung in der Regel für

dicke Querscheiben ebenso zu gelten scheint wie für die dünnen. Große Anteile der DNS in den dickeren Querscheiben scheinen also informatorisch und regulatorisch bedeutungslos und jedenfalls entbehrlich zu sein.

Betrachten wir beispielsweise die Querscheiben 3C1 und 3C2-3 im X-Chromosom von *Drosophila melano-*

gaster. In ihrem Bereich liegen die Gene „sa“ (sparse arista) und „w“ (white). In einem Mutationsstamm, „64b9“, ist die Bande 3C2-3 durch eine Inversion (Umkehrung eines Chromosomen-Abschnitts) von 3C1 getrennt und anscheinend vollständig in die Region 12 verlagert. Das für die Augenausfärbung essentielle Gen *white*⁺, das nach früheren Befunden in



Längsschnitt der Bereiche 3 A bis 3 C des X-Chromosoms der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* im Mutationsstamm 64b9. Das unmittelbar an 3C1 angrenzende Restsegment der durch Umkehrung eines Chromosomen-Abschnitts (Inversion) verlagerten Querscheibe 3C2-3 ist durch Punkte gekennzeichnet.

den Bereich von 3 C2 fallen sollte, müßte also durch die Inversion miterfaßt und nach Region 12 verlagert worden sein. Die Untersuchung von strahleninduzierten Stückverlusten hat gezeigt, daß dies nicht zutrifft. Die *white*⁺-Funktionen sind mit einem nur elektronenoptisch erkennbaren, dünnen Restsegment vom linken Rand von 3 C2-3 assoziiert. Band 3 C1, dem die genetischen Daten das Gen *sparse arista* (*sa*) zuordnen, kann seinerseits ebenfalls ohne Beeinträchtigung der *sa*⁺-Funktion ganz oder zum größten Teil entfernt werden. Die Querscheiben 3 C1 und 3 C2-3 müssen also große Anteile von DNS-Sequenzen enthalten, deren Verlust keine drastischen Folgen hat und deren eventuelle Bedeutung deshalb experimentell schwer zu fassen ist.

Es stellt sich damit die Aufgabe, die Sequenz-Organisation der DNS in den Querscheiben (und den Zwischenscheiben) daraufhin zu untersuchen, ob und wie weit in ihnen essentielle und weniger essentielle DNS-Sequenzen zu größeren Struktur- und Funktionseinheiten vereinigt sind. Einen Ansatzpunkt für die Untersuchung dieser Fragen bietet das Phänomen des „Puffing“.

Balbiani-Ringe: Riesenpuffs und Riesengene

Der Entdecker der riesigen „Kernfäden“ in den Speicheldrüsen von roten Mückenlarven der Gattung *Chironomus*, *Edouard Gérard Balbiani* (1881), hat auch als erster die ringwulstartigen Anschwellungen der Riesenchromosomen beschrieben, die wir heute unter der Bezeichnung „Balbiani-Ringe“ kennen und

die besonders große „Puffs“ darstellen. Puffs – aus dem Englischen übernommen, bedeutet „Aufgeblasenes“ – sind aufgelockerte, angeschwollene Chromosomenorte, die in der Regel aus einzelnen Querscheiben hervorgehen. Sie enthalten Ribonukleinsäure (RNS) und Nicht-Histon-Proteine. Das Puffing als Zustand ist reversibel und variiert in Abhängigkeit zum Differenzierungs- und Entwicklungszustand der Zellen. So ist die Aufteilung der Dipteren-Speicheldrüsen in Bereiche mit unterschiedlicher Funktion stets mit dem Auftreten spezifischer Balbiani-Ringe in den verschiedenen Drüsenlappen verbunden. Biochemisch gesehen, besteht die Funktion der meisten Puffs in der Transkription, also in der Synthese von Boten-RNS und deren Vorstufen, und unter Umständen auch in der „Verpackung“ der Transkripte mit Proteinen.

Die Zellen der Speicheldrüsen von *Chironomus*-Larven sind auf die Produktion eines Sekrets spezialisiert, das unter Wasser klebt und beim Bau der Wohnröhren verwendet wird. Das Sekret enthält eine Mischung von wenigen, außerordentlich großen Proteinen mit Molekulargewichten von 700 000 bis 820 000 Dalton und drei weiteren Fraktionen mit Molekulargewichten von 230 000 bis hinab zu 20 000 Dalton. Es lag nahe, die Gene, die diese Proteine kodieren, in den wenigen Riesenpuffs, den Balbiani-Ringen, zu vermuten, und diese Vermutung hat sich mit fortschreitender Technik zur Gewißheit gesteigert. Schon vor zwanzig Jahren gelang es, in den Speicheldrüsen-Chromosomen von *Chironomus* eine Mutation zu lokalisieren, die den Verlust eines bestimmten Sekret-Bestandteils bewirkt. Der Mutationsort deckt sich mit dem Entstehungs-



Speicheldrüsen der Fruchtfliege Drosophila werden von der brasilianischen Gastwissenschaftlerin Prof. Eliana Dessen präpariert und ihre Zellkerne anschließend isoliert. Diese Drüsen enthalten Riesenchromosomen. Beide Geschlechter werden dabei getrennt behandelt. Männchen-spezifische X-Chromosomen erbringen die doppelte Transkriptionsleistung wie die Weibchen-spezifischen X-Chromosomen. Die Wissenschaftlerin trennt die Proteine der Zellkerne elektrophoretisch auf und sucht in den männlichen Zellkernen nach Faktoren, die für die erhöhte Leistung der X-chromosomalen Gene verantwortlich sind.

ort eines Balbiani-Ringes, der in den Chromosomen der Mutante fehlt. Analoge Situationen sind inzwischen mehrfach für Dipteren der Gattungen *Chironomus*, *Drosophila* und *Rhynchosciara* beschrieben worden.

Man kann das Puffing auch experimentell beeinflussen. Füttert man *Chironomus*-Larven einige Tage mit Galaktose oder anderen Zuckern, so hat dies die Rückbildung eines Balbiani-Ringes (BR2) und gleichzeitig die Expansion eines anderen BR (BR1) zur Folge. Zudem wird ein neuer Balbiani-Ring,

BR6, induziert. Parallel zu den Änderungen auf dem Niveau der Chromosomen ergeben sich nun, wie erwartet, solche in der Speichelprotein-Synthese. Diese betreffen bestimmte Komponenten der Fraktion mit den höchsten Molekulargewichten, so daß die Anwesenheit der einen Komponente die Aktivität von BR1, die Anwesenheit einer weiteren die Aktivität von BR2 und die einer dritten die Aktivität von BR6 voraussetzt.

Wie J. E. Edström, B. Daneholt und Mitarbeiter in Stockholm schon vor Jahren herausfanden, erhält man bei der

Struktur und Funktion biologischer Membranen	46
Die Lipiddoppelschicht als Barriere	47
Beta-Galaktosidtransport im Darmbakterium <i>Escherichia coli</i>	49
Endozytose und Membran-Recycling in der Amöbe <i>Dictyostelium discoideum</i>	51
Chromosomenforschung an höheren Organismen	54
Struktur- und Funktionseinheiten von Riesenchromosomen	56
Übergeordnete Struktur- und Funktionsprinzipien bei eukaryontischen Chromosomen	63
Allgemeine Einrichtungen	68
Arbeitsbereiche des Instituts	70

Auftrennung der aus Speicheldrüsen isolierten Ribonukleinsäure tatsächlich eine Fraktion von übergroßen RNS-Molekülen, die nach ihrem Sedimentationsverhalten in der Ultrazentrifuge als „75 S“-RNS bezeichnet wird. Läßt man radioaktiv gemachte 75 S-RNS unter bestimmten Bedingungen auf Chromosomenpräparate einwirken, so binden sie sich unter Bildung von DNS/RNS-„Hybriden“ an Chromosomenorte mit homologer Nukleotidsequenz. Die gebundene RNS kann mit Hilfe der Autoradiographie geortet werden. Das Ergebnis – ausschließliche und intensive Hybridisierung der 75 S-RNS an die Balbiani-Ringe BR 1, BR 2 und BR 6 – ist in seiner Eindeutigkeit überraschend: Die 75 S-Moleküle sind so „hybridisierungsfreudig“, wie man es sonst nur von DNS-Fractionen gewohnt ist, in denen sich kurze Nukleotidsequenzen einige hundert- bis einige tausendmal identisch wiederholen. Derartige repetitive DNS-Bereiche sind in der Regel keine Träger von Struktur-Information. Bei der 75 S-RNS handelt es sich aber um Moleküle mit Längen von 35 000–40 000 Nukleotiden, von denen bekannt ist, daß sie als Boten für die Synthese der extrem langen Speichelproteine dienen. Die elektronenmikroskopische Untersuchung zeigt, daß das transkribierte DNS-Segment in den großen Balbiani-Ringen der *Chironomus*-Speicheldrüsen-Chromosomen etwa 8 µm mißt. Die repetitive Struktur dieser Gene (BR 1, BR 2 und BR 6) ist also „intern“: Jedes Gen scheint neben Anfangs- und Endsequenzen ein Mittelstück zu enthalten, das aus zahlreichen identisch wiederholten Kopien ein- und derselben Nukleotidsequenz besteht, das aber trotzdem in einem Stück transkribiert wird.

Über Länge und Aufbau der repetitiven Sequenz (basic repeat) geben Experimente mit Restriktions-Enzymen und klonierten Balbiani-Ring-Sequenzen Aufschluß: Bei diesen Arbeiten macht man sich die Fähigkeit der genannten Enzyme zunutze, die DNS an spezifischen, für jedes Enzym charakteristischen, Schnittstellen zu unterteilen. Diese sind an sich zufällig über die Chromosomen verteilt. Bei repetitiven Sequenzen jedoch wiederholt sich eine Schnittstelle, wenn vorhanden, über die ganze Länge der repetitiven Region. Wenn dagegen die Basis-Sequenz keine Schnittstelle enthält, so bleibt der gesamte repetitive Abschnitt unversehrt.

Nach dem Einbau von *Chironomus*-DNS-Fragmenten in geeignete Vektoren (Plasmide, Bakteriophagen) und deren Klonierung wurden einige DNS-Sequenzen entdeckt, die mit Balbiani-Ring-DNS von BR 1 oder BR 2 spezifisch hybridisieren. Die repetitierte Einheit besteht bei BR 1 aus 240 Basenpaaren, deren Sequenz (in einem der beiden Stränge der Doppelhelix) dem erwarteten Code für die (unabhängig ermittelte) Aminosäuren-Zusammensetzung der Speichelproteine entspricht. Ähnlich verhält es sich im Prinzip bei BR 2 und wahrscheinlich bei BR 6. Die tatsächlichen Nukleotid-Sequenzen der Repeats – die im selben Chromosom mehrfach vorkommenden genetisch identischen Chromosomen-Segmente – in den verschiedenen BR-Genen weisen dabei nur geringe Homologien auf.

Wie stellt sich nun die Situation auf der Ebene des Querscheibenmusters der Riesenchromosomen dar? Die Längen der Transkriptionseinheiten in BR 1, BR 2 und BR 6 werden, wie schon erwähnt, auf etwa 40 000 Basenpaare beziehungs-

weise im Zustand des Puffing auf 7 bis 8 μm geschätzt. Diese Längen wären ohne weiteres in einzelnen Querscheiben mittlerer Dicke unterzubringen. Bei dem Versuch einer Zuordnung der BR-Gene zu bestimmten Querscheiben stößt man jedoch auf Komplikationen, die eine Interpretation im Sinne einer eindeutigen 1:1-Beziehung von BR-Genen und Querscheiben erschweren: So kann BR1 sich aus zwei verschiedenen, durch drei Querscheiben voneinander getrennten Querscheiben bilden. Es mag sich dabei um duplizierte, aber nicht mehr ganz identische Gene handeln (BR1a und BR1b), die nach neueren Befunden unabhängig reguliert werden. BR2 wiederum entsteht in einem Bereich, der eine Zwischenscheibe und eine relativ dicke Querscheibe umfaßt. Man kann die Länge dieses Bereichs auf annähernd 500000 Basenpaare schätzen, also auf mehr als das Zehnfache des transkribierten DNS-Segments. Im lichtmikroskopischen Bild des BR2 erscheint aber der gesamte Bereich dekondensiert. Hier liegt als Deutung die passive Einbeziehung von Nachbar-Segmenten in das Puffing nahe. Im BR6, einem dritten Gen mit Riesentranskripten, ist es unzweideutig die Dekondensation einer einzelnen Bande mittlerer Dicke, die zur Ausbildung eines Balbiani-Ringes führt. Dies hilft allerdings nicht weiter in der eingangs gestellten Frage nach der Bedeutung der eventuell links und rechts an den transkribierten Bereich anschließenden DNS-Sequenzen und erfordert weitere Untersuchungen.

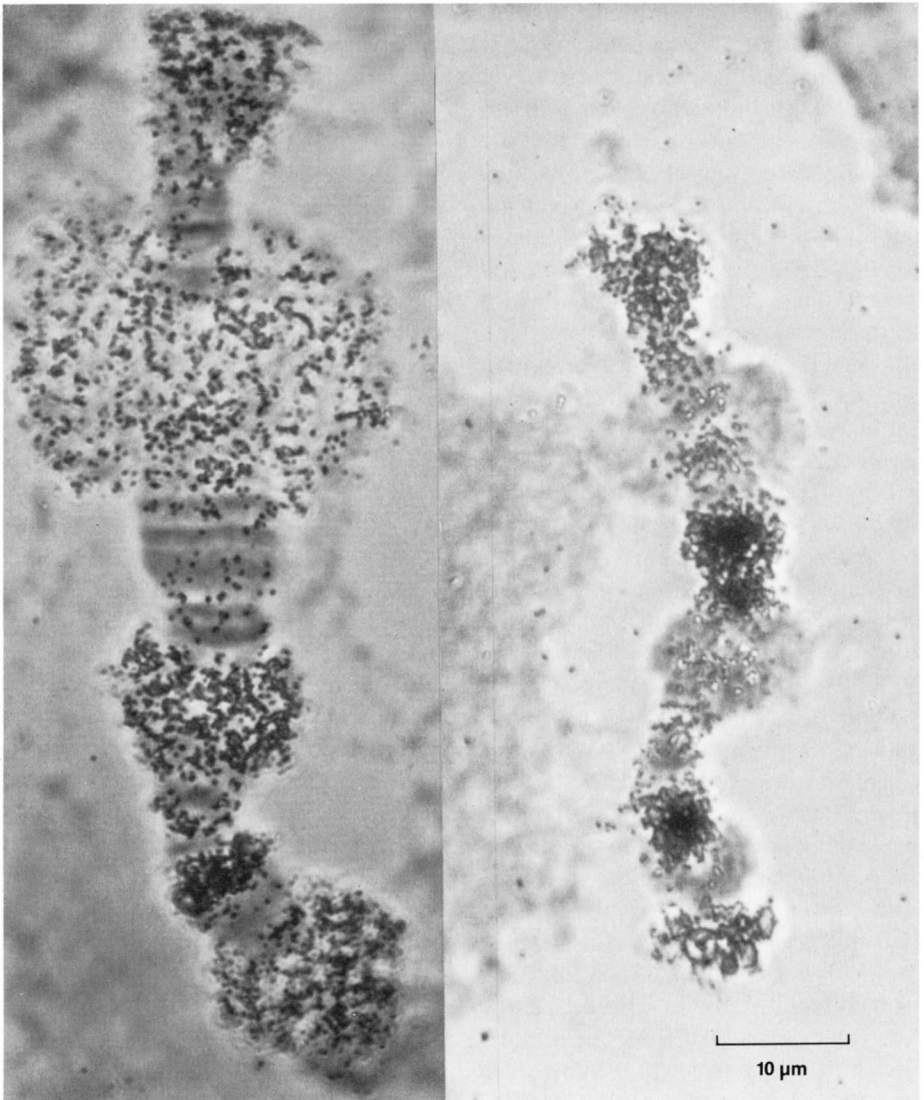
Es ist sicher kein Zufall, daß die RNS-Transkripte in allen drei BR-Genen zu einheitlich 400 \AA großen Partikeln verpackt werden. Sie müssen als Vehikel der 75 S-RNS betrachtet wer-

den. Keiner von den bekannten Puffs in den Speicheldrüsen, auch nicht der kleine BR 3, weist derartig große Transkriptgrana auf. Dagegen findet man die Grana in zwei selteneren Balbiani-Ringen, BR 4 und BR 7, deren Expression genetisch variiert. Es wäre reizvoll, der Frage nachzugehen, ob die Protein-Komponente der 400 \AA -Grana in den fünf aufgeführten Balbiani-Ringen identisch ist und auf gleiche Erkennungssequenzen in den Transkripten anspricht.

DNS-Replikation und Replikationseinheiten in Riesenchromosomen

Ähnlich wie in der Frage der Transkription ist man versucht, auch bei der Replikation (DNS-Verdopplung) eine 1:1-Beziehung von Struktur- und Funktionseinheiten, also Querscheiben (Banden) und Replikons, zugrunde zu legen. Autoradiographien von Riesenchromosomen, die zuvor mit radioaktivem Thymidin inkubiert worden waren, zeigen zwar, daß einzelne Banden im Rahmen eines Verdopplungszyklus zeitlich unabhängig von ihren Nachbarn die DNS-Replikation vollziehen können. Aber die Möglichkeit, daß nur Teilsegmente der markierten Banden ^3H -Thymidin eingebaut haben, ist wegen der unzureichenden Auflösung der Tritium-Autoradiographie nicht auszuschließen. Die 1:1-Relation scheint auch insofern durchbrochen zu sein, als Gruppen von mehreren markierten Banden mit unmarkierten Stücken blockweise abwechseln können.

Um die Verhältnisse auf der molekularen Ebene zu klären, wurde die Technik



Mit radioaktivem (^3H -) Thymidin pulsmarkierte Chromosomen 4 aus Speicheldrüsen der Larven von *Chironomus pallidivittatus*. Die Autoradiographie zeigt links ein Chromosom im Anfangs- und rechts eines im Endstadium der DNS-Synthesephase. Als erste Chromosomenorte beginnen und beenden die Replikation die drei Balbiani-Ringe (oben: BR 2, voll expandiert; Mitte: BR1, wenig expandiert; unten: BR3, mäßig expandiert). Auffällig früh markiert ist auch eine Querscheibengruppe zwischen BR1 und BR3 im Bild links. Eindeutig spät markiert erscheinen im Bild rechts zwei Gruppen von Querscheiben zwischen BR2 und BR1, ein Block unmittelbar oberhalb von BR3 und das untere Chromosomenende. Das obere Chromosomenende läßt keine Markierungsdifferenzen erkennen und stellt wahrscheinlich ein Gemenge von früh und spät replizierten Elementen dar.

der Faden-Autoradiographie eingesetzt: Hierbei isoliert man aus mit ^3H -Thymidin pulsmarkierten Zellen nicht die Chromosomen, sondern direkt die chromosomale DNS. Die DNS-Fäden werden auf einer geeigneten Unterlage aufgefangen und dann autoradiographiert. Mit diesem Verfahren lassen sich über Verteilung und Größe von Replikationseinheiten (Replikons) folgende Aussagen machen: In DNS-Fäden aus Riesenchromosomen von *Drosophila virilis* kommen Replikons von 5 bis zu 200 μm Länge vor, bei einem Mittelwert von 47 μm , was deutlich über dem Mittelwert der geschätzten DNS-Länge pro Querscheibe und Chromatide (13 μm bei 5000 Querscheiben, 26 μm bei 2500 Querscheiben) liegt. Entweder ist also die Anzahl der Banden zu hoch angesetzt oder aber ein Teil der Replikons erstreckt sich tatsächlich über mehr als eine Querscheibe. Es erschwert die Interpretation, daß derselbe Chromosomenabschnitt je nach der Anzahl aktivierter Startstellen in ungleich viele Replikons unterteilt sein könnte. Der Zusammenhang von Repli-

kation und Querscheibengliederung ist hier alles andere als eindeutig.

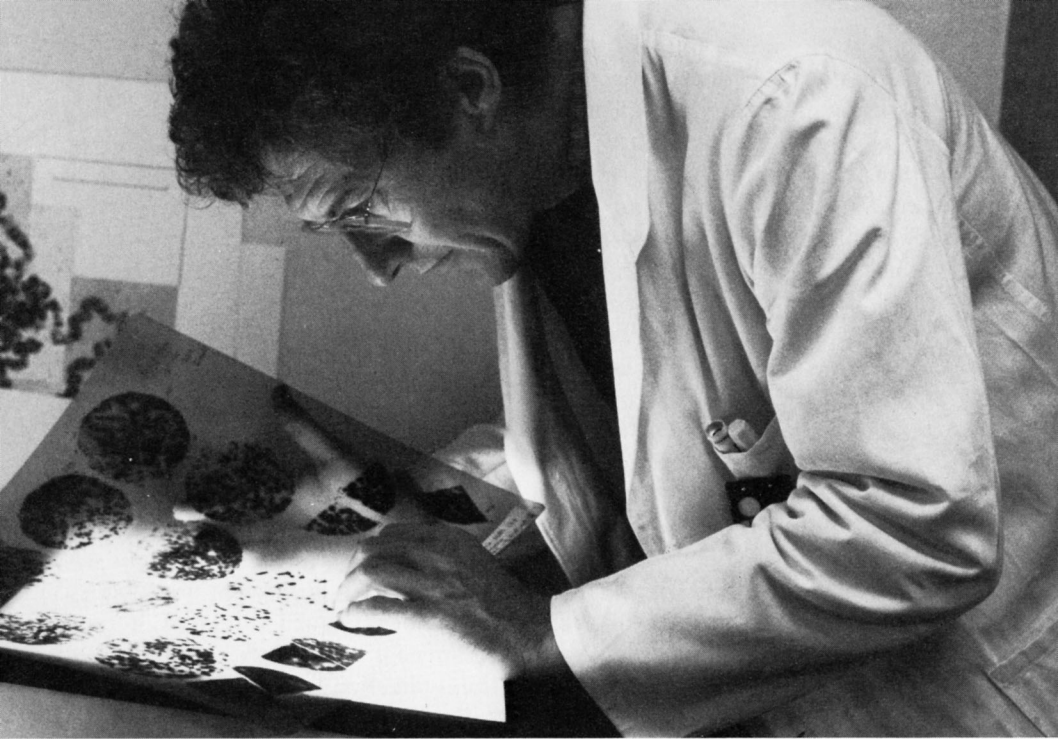
Es wurde versucht, die Replikation, insbesondere ihre zeitliche Abfolge in verschiedenen Chromosomenbereichen, auch mit der Transkriptionsaktivität in Verbindung zu bringen: In Riesenchromosomen beginnt jeder Replikationszyklus selektiv an wenigen, gut definierten Orten, darunter auffälligerweise einer Reihe von Puffs. So fallen in diese Kategorie die Balbiani-Ringe des Chromosoms 4 in den Speicheldrüsen von *Chironomus* und *pallidivittatus* (BR1, BR2, BR3). Da Kerne in der Initialphase des Replikationszyklus bei *Chironomus* selten sind, ist es noch nicht gelungen zu entscheiden, ob ein direkter, kausaler Zusammenhang zwischen Puffing und Frühreplikation besteht, oder ob dieses Verhalten entweder genetisch oder epigenetisch fixiert ist, wofür einiges spricht. Im übrigen bedeutet dieser Befund ein positiver Hinweis auf die Existenz definierter Replikons in der Größenordnung von transkribierenden Querscheiben.

Übergeordnete Struktur- und Funktionsprinzipien bei eukaryontischen Chromosomen

Geschlechts-Chromosomen

Aus der klassischen Zytologie und Zytogenetik kennt man zahlreiche Beispiele dafür, daß ganze Chromosomen oder Chromosomenarme in ihrer Struktur deutlich von den übrigen Chromosomen abweichen. In mitotischen und meiotischen Chromosomen äußert sich

dies als stärkere oder schwächere Färbung und Kondensation (Heteropyknose, Allozyklie). Betroffen sind in erster Linie die Geschlechts-Chromosomen, und hier wiederum die Y-Chromosomen, die durch Kopplung an geschlechtsbestimmende Faktoren in einen fortwährenden Rückkreuzungs-Erbgang nach dem Modus XX x XY einbezogen sind. In der überwiegenden Zahl der Arten mit Ge-



*Röntgenfilmmarkierungen werden von Dr. Manfred Steinemann zu den entsprechenden Phagenplaques auf Agarplatten zugeordnet. Filterabdrücke dieser Agarplatten wurden mit Phosphor 32-markierten Desoxyribonukleinsäure-Proben hybridisiert. Rekombinante Phagen, die ähnliche oder identische DNS-Sequenzen enthalten, binden auf den Filterabdrücken diese Proben und schwärzen nach Exponierung Röntgenfilme an den entsprechenden Stellen. Aus Tausenden auf einer Agarplatte aufgetragenen verschiedenen rekombinanten Phagen einer Genbank von *Drosophila miranda*, einer Fruchtfliegenart, werden so die gewünschten Phagen auf der Agarplatte lokalisiert. Durch anschließendes Ausstechen und Vermehren der Phagen bekommt man gezielt große Mengen eines rekombinanten Phagen, der ein gewünschtes Fliegen-DNS-Fragment enthält.*

schlechts-Chromosomen steht dem euchromatischen X-Chromosom ein heterochromatisches Y-Chromosom gegenüber, das keine oder ganz wenige Erbfaktoren trägt und dessen DNS in wechselndem Ausmaß einfache, hochrepetitive Sequenzen enthält. In Zellkernen mit Riesenchromosomen bleibt das Y (wie auch andere heterochromatische Teile des Genoms) heteropyknotisch und nimmt an der DNS-Replikation nicht

oder nur unvollständig teil. Es zeigt keine Bandenstruktur. Nach klassischer Vorstellung ist dies alles das Ergebnis einer Degeneration, die primär durch den verminderten Selektionsdruck auf Mutationen im Y zustandekommt: Solche Mutationen bleiben auf eines der beiden Geschlechter – zudem ausschließlich im heterozygoten Zustand – beschränkt und könnten deshalb toleriert werden.

Der Ausfall der Genfunktionen im Y wird durch die Präsenz des X zunächst nur qualitativ kompensiert. Zum Ausgleich der unterschiedlichen Dosierung der X-chromosomalen Gene ($2A + XX$ gegenüber $2A + XY$) mußten besondere Mechanismen geschaffen werden. Bei Säugern wird der Ausgleich durch die Inaktivierung des einen der beiden X im Weibchen bewirkt, so daß nun beide Geschlechter nur ein aktives X besitzen. Die Insekten sind den entgegengesetzten Weg gegangen: die Überaktivierung der Gene im hemizygoten X der Männchen. Diese äußert sich bei *Drosophila* und vielen anderen Dipteren im polytären Zustand als generelle, über die Norm hinausgehende Dekondensation. Die allgemeine Transkriptionsrate im X ist entsprechend erhöht. Wie im Fall des Y sieht man auch hier gewöhnlich nur den Endzustand eines langen Evolutionsprozesses. Reizvoller und aufschlußreicher sind Zwischenstufen der Evolution: Einen solchen Fall hat *McKnight* (1939) erstmalig beschrieben.

Bei *Drosophila miranda*, einer mit *D. pseudoobscura* verwandten Art, befindet sich ein Arm des Y in einem interessanten Zwischenzustand der Heterochromatisierung. Dieser „neo-Y“ genannte Arm entspricht dem Chromosom 3 von *D. pseudoobscura*. Sein Partner, das „X2“, ist bei *D. miranda* äußerlich unverändert erhalten. Die Chromosomenformel von *D. miranda* wäre also $2A + X_1 X_1 X_2 X_2$ in Weibchen und $2A + X_1 X_2 Y$ neo-Y in Männchen. Das neo-Y zeigt viele Abschnitte mit noch erkennbarer Bänderung neben ganz ungegliederten Segmenten. Auch enthält es neben stillgelegten noch aktive Gene. Im ganzen erscheint das neo-Y als Riesenchromosom kompakter und geknäulter als

das X2, mit dem es sich zudem nicht mehr paart. Welcher Art ist die hier im Gang befindliche „Degeneration“?

Durch die Hybridisierung von radioaktiv markierten DNS-Sequenzen mit Chromosomen *in situ* läßt sich wahrscheinlich machen, daß repetitive DNS-Sequenzen noch unbekannter Herkunft in das neo-Y eingewandert sind (und vielleicht noch weiter einwandern) und daß dies zur beobachteten Inaktivierung und Pyknotisierung führt – ein Hinweis auf die Allgegenwart von „nomadisierender“ DNS in Form von übertragbaren Sequenzen (Transposons), die im Normalfall der Selektion ausgesetzt sind, sich aber in den sozusagen auf's tote Gleis geschobenen Genen des neo-Y anhäufen. Was die homologen Segmente des X2 betrifft, so sollten sie Zug um Zug mit der Degeneration immer weiterer Bereiche des neo-Y zu erhöhten Transkriptionsraten übergehen. Dafür gibt es auch Hinweise, doch fehlt dem X2 noch ganz der allgemein aufgelockerte Aspekt des viel älteren, völlig dosis-kompensierten X1 (das seinerseits aus zwei ungleich alten Armen besteht).

Chromatin-Diminution

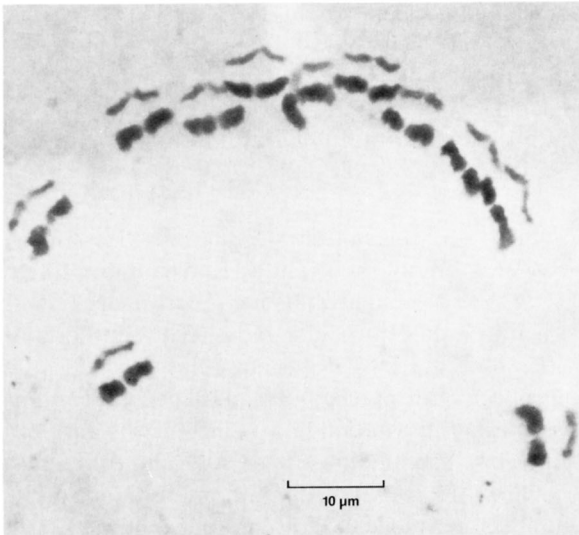
Das älteste Dogma der klassischen Zytogenetik ist die Konstanz von Chromosomen-Zahl und -Form in der Individualentwicklung, das später im Postulat der DNS-Konstanz seine biochemische Entsprechung fand. Die Chromatin-Diminution bildet eine ebenso lange bekannte drastische Ausnahme von der Regel: Bestimmte, heterochromatische Anteile der Chromosomen in den Zellen

der Keimbahn von Spulwürmern der Gattung *Ascaris* und von Kleinkrebsen der Ordnung Copepoda werden im Zusammenhang mit der Differenzierung zwischen Keimbahn und Soma aus den Chromosomen der Ur-Somazellen herausgelöst und in das Zytoplasma abgestoßen. Das eliminierte Chromatin kann über die Hälfte des Keimbahn-Genoms ausmachen. Die entwicklungsbiologischen und funktionellen Implikationen des Vorgangs sollen hier nicht erörtert werden. Zwei Fragen sind im Hinblick auf den Aufbau und den Formwechsel eukaryontischer Chromosomen von Interesse: 1. Wie ist das zu eliminierende Chromatin in den Chromosomen angeordnet, und woran wird es erkannt? 2. Wie funktioniert die Diminution? Die folgenden Aussagen beziehen sich auf Copepoden der Gattung *Cyclops*.

In den ersten drei bis vier Mitosen der Frühentwicklung ist eine Gliederung im Aufbau der Mitose-Chromosomen nicht zu erkennen. Die Chromosomen sind vor

der Diminution aber wesentlich länger als danach. In der vierten bis fünften Furchungsteilung treten die zu diminuierenden Abschnitte als stark kondensierte Heterochromatin-(H)-Segmente deutlich hervor. Ihre Verteilung entspricht derjenigen in der Prophase der Reifeteilungen wachsender Oozyten und ist von Art zu Art verschieden (*Cyclops divulsus*: lange terminale H-Segmente; *C. furcifer*: terminale und kinetochornahe H-Segmente; *C. strenuus*: zahlreiche, über die ganze Länge verteilte H-Segmente).

Der Fall *C. strenuus* ist zweifellos der interessantere, nicht nur wegen der Frage nach dem Diminutions-Mechanismus: Die Existenz von *C. strenuus*-Lokalrassen mit weitgehend heterochromatin-freien Keimbahn-Chromosomen weist auf die Möglichkeit hin, daß der H-freie Zustand der ursprüngliche ist. Die Anreicherung mit Heterochromatin könnte dann als fortwährende Invasion von Insertionssequenzen in die Chromosomen der Keimbahn aufgefaßt werden. Der Zuge-



Gleichsinnige Anordnung der auf Distanz gepaarten homologen Chromosomen kurz vor der Reifeteilung in Oozyten des Kleinkrebse *Cyclops strenuus*, Lokalrasse „Reusten 3“. In dieser Population besitzen die meisten Weibchen einen kompletten Satz von elf dünnen und einen von elf dicken Chromosomen. Der Unterschied beruht auf unterschiedlichem Gehalt an interkalarem Heterochromatin und bleibt auf die Keimbahn beschränkt, weil das Heterochromatin in den prospektiven Somazellen vollständig durch einen Diminutions-Vorgang eliminiert wird.

winn an Keimbahn-Chromatin manifestiert sich in den Furchungsmitosen als reiner Längenzuwachs der Chromosomen. Dagegen erscheinen in den Prophase- und Metaphase-Stadien der Reifeteilungen in den Oozyten die gepaarten H-reichen und H-armen Homologen gleich lang, aber ungleich dick. Die H-Segmente werden anscheinend in der meiotischen Paarung unter Schleifenbildung überbrückt.

Die Diminution der interstitiellen H-Segmente in den präsumptiven Körperzellen führt nicht zur Fragmentierung oder zum Verlust der Individualität der

Chromosomen. Dies erfordert einen Mechanismus ähnlich dem für die Exzision von Prophagen oder Transposons postulierten Modell, nach dem das herauszuschneidende Element zunächst eine Schleife bildet und dann durch Rekombination als Ring abgegliedert wird. Solche Chromatin-Ringe lassen sich in den in Frage kommenden Stadien elektronenoptisch nachweisen. Diese Untersuchungen werden fortgesetzt mit dem Ziel, eine bessere Vorstellung von den Strukturprinzipien und Wandlungsmöglichkeiten eukaryontischer Chromosomen zu erhalten.

Allgemeine Einrichtungen

Jede der räumlich getrennten Abteilungen unterhält kleine Werkstätten, die für den Bau und die Wartung von Geräten, Schreiner- und Elektroarbeiten, Garten- und Gebäudepflege verantwortlich sind. Ein Zeichner fertigt Graphiken für Veröffentlichungen und Tagungen. Die Kompetenz und Hilfsbereitschaft

dieses technischen Personals trägt in entscheidender Weise zum reibungslosen Ablauf der Institutsarbeit bei.

Mit der Einrichtung der Abteilung für Immungenetik wurde mit erheblichem finanziellem Aufwand ein modernes Anforderungen genügendes Tierhaus gebaut, das von allen Abteilungen genutzt





Ohne den Einsatz und die Hilfsbereitschaft des technischen Personals und den Mitarbeitern in der Verwaltung, den Werkstätten, dem Tierhaus und anderen Bereichen könnte das Institut nicht erfolgreich tätig sein. Aus den dort anfallenden Arbeiten werden hier nur zwei Gebiete bildlich herausgegriffen: Salvatore Geraci und Rolf Florian am Käfigwaschbad (links) und Feinmechanikermeister Horst Reinmuth an der Drehmaschine (oben).

wird. Die Pflege der Tiere ist in der Obhut einer Gruppe geschulter Tierpfleger.

Personal- und Finanzwesen des Instituts liegen in den Händen eines Verwaltungsleiters und seiner Mitarbeiter. Im Rahmen eines immer dichter werdenden Netzes von Richtlinien gelingt es der Institutsverwaltung, in unbürokratischer Weise Mitarbeitern und Institutsleitung mit Rat und Tat zur Seite zu stehen.

Zusammen mit den Max-Planck-Instituten für Virusforschung und für biologische Kybernetik betreibt das Institut für Biologie das Max-Planck-Haus. Hier befindet sich die jederzeit zugängliche

Bibliothek, die etwa 338 Fachzeitschriften hält und eine umfangreiche Sammlung von Monographien und Serienwerken besitzt. Ein Hörsaal dient regelmäßigen Vortragsveranstaltungen mit anschließendem gemütlichem Beisammensein bei Wein und Bier in einem Klubraum. In der Mensa bereiten ein Koch und seine Mitarbeiter einen schmackhaften Mittagstisch. Schließlich bietet das Max-Planck-Haus in- und ausländischen Gästen preiswerte Übernachtungsmöglichkeiten in Zimmern mit Blick auf die Schwäbische Alb.

Arbeitsbereiche des Instituts

Abteilung Henning

Direktor: Professor Dr. Ulf Henning

Struktur und Synthese der Zellwandmembranen von Bakterien. Struktur sowie Funktionen der Membranproteine dieser Zellwand bei Zell-Zell- und bei Zell-Virus-Wechselwirkungen.

Abteilung Immungenetik

Direktor: Professor Dr. Jan Klein

Immungenetik des Haupthistokompatibilitäts-Komplexes (Mhc) der Maus (H-2), Polymorphismus von H-2 und H-2 gekoppelten Loci. Mechanismus der Immunantwort von T-Lymphozyten *in vivo* und *in vitro*. Genetik des T-Komplexes.

Abteilung Overath

Direktor: Professor Dr. Peter Overath

Struktur und Funktion von Membranlipiden und Membranproteinen. Mechanismus des aktiven Transports. Membranfluß bei der Endozytose. Parasitologie afrikanischer Trypanosomen.

Wissenschaftliches Mitglied

Professor Dr. Wolfgang Beermann
(bis 30. Juni 1982 selbständige Abteilung)

Struktur und Funktion des Genoms der Eukaryonten, untersucht am Modell der Polytän-Chromosomen. Formwechsel und Evolution des Heterochromatins. Chromatin-Diminution.

Em. Wissenschaftliches Mitglied

Professor Dr. Georg Melchers

Somatische Hybridisierung durch Fusion von Protoplasten, vor allem von Tomaten und Kartoffeln.

Personalübersicht

Wissenschaftler	23
Technisches Personal	40
Mitarbeiter in Verwaltung, Werkstatt und sonstige Dienste	31
Doktoranden, Diplomanden, Stipendiaten, Gastwissenschaftler	<u>30</u>
	124

Bildnachweis:

Abbildungen Seite 10, 13 links: Privatbesitz Prof. Georg Melchers, Tübingen

Abbildungen Seite 11, 12, 13 rechts: MPG-Archiv

Abbildungen Seite 29, 39, 43, 59, 64, 69: Peter Blachian, München

Abbildung Seite 57: Dr. V. Sorsa, Helsinki

Alle anderen Abbildungen: Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen