

Zeitschrift: Bulletin / Vereinigung Schweizerischer Hochschuldozenten =
Association Suisse des Professeurs d'Université

Band: 12 (1986)

Heft: 2-3

Artikel: Biotechnologie im Aufwind der molekularen Genetik

Autor: Arber, Werner

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-894273>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 06.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Biotechnologie im Aufwind der molekularen Genetik

von

Prof. Dr. Werner Arber

Abteilung Mikrobiologie, Biozentrum der Universität Basel

Prof. Arber begrüsst als Rektor designatus der Universität Basel die Anwesenden im Namen des Rektorats. Da die neue Entwicklung der Biologie mehrere Wissenschaften betrifft, sei er dankbar, dass er von der Vereinigung, in der alle Disziplinen vertreten sind, zu einem Vortrag eingeladen wurde.

* * *

Biotechnologie ermöglicht dem Menschen eine gezielte Nutzung jener Stoffumwandlungen, welche lebende Zellen im Rahmen ihrer physiologischen Aktivitäten vollziehen. Biologische Stoffumwandlungen werden meistens von Enzymen geleitet und umfassen sowohl Aufbaureaktionen in der Synthese von biologisch wirksamen Molekülen als auch Abbaureaktionen. Letztere dienen der Zelle z.B. zur Bereitstellung von Ausgangsstoffen für neue Synthesen, zur Energiegewinnung, aber auch zur Entgiftung durch Beseitigung physiologisch schädlicher Stoffe.

Abgrenzung der Bereiche der Biotechnologie

Prinzipiell könnte man die Landwirtschaft zur Biotechnologie zählen, basiert sie doch auf der Synthese von Nahrungsmitteln pflanzlichen und tierischen Ursprungs. Doch versteht man unter Biotechnologie vornehmlich jene Prozesse, in denen zumeist Mikroorganismen oder isolierte pflanzliche oder tierische Zellen in Grosskulturen vermehrt werden mit dem Ziele, eine oder einige ihrer mannigfaltigen Aktivitäten zu nutzen. So werden gewisse Bakterien und Pilze zur Produktion von Antibiotika gezüchtet, andere im Hinblick auf die Isolierung von Aminosäuren. In diesen Fällen reinigt man die gewünschten Produkte aus den anfallenden Zellkulturen. Andererseits lassen sich gewisse Mikroorganismen auch direkt durch den Einsatz der lebenden Zellen nutzen, wie es

z.B. bei der biologischen Abwasserreinigung mittels Mischkulturen verschiedener Bakterienstämme praktiziert wird.

Zellen vermehren sich exponentiell

Der biotechnologische Einsatz von einzelligen Mikroorganismen und von pflanzlichen oder tierischen Zellkulturen profitiert von der Weise der Vermehrung von Zellen. In Kultur gezüchtete Zellen zeigen im allgemeinen ein exponentielles Wachstum. Das bedeutet, daß solange genügend Nährstoffe zur Verfügung stehen, die einzelnen Zellen nicht nur an Volumen zunehmen, sondern sich auch regelmässig nach einer sogenannten Generationszeit zweiteilen. Da jede der dabei entstehenden Tochterzellen in gleicher Weise wie ihre Mutterzelle wächst, werden sich nach einer weiteren Generationszeit auch die Tochterzellen zweiteilen. Nach zwei Generationen findet man somit vier Zellen vor, nach einer weiteren Generation acht, usw. Das führt dazu, dass jede Vermehrung über 10 Generationen eine Vermehrung der Zellzahl etwa um einen Faktor von 1000 bringt (Abbildung 1).

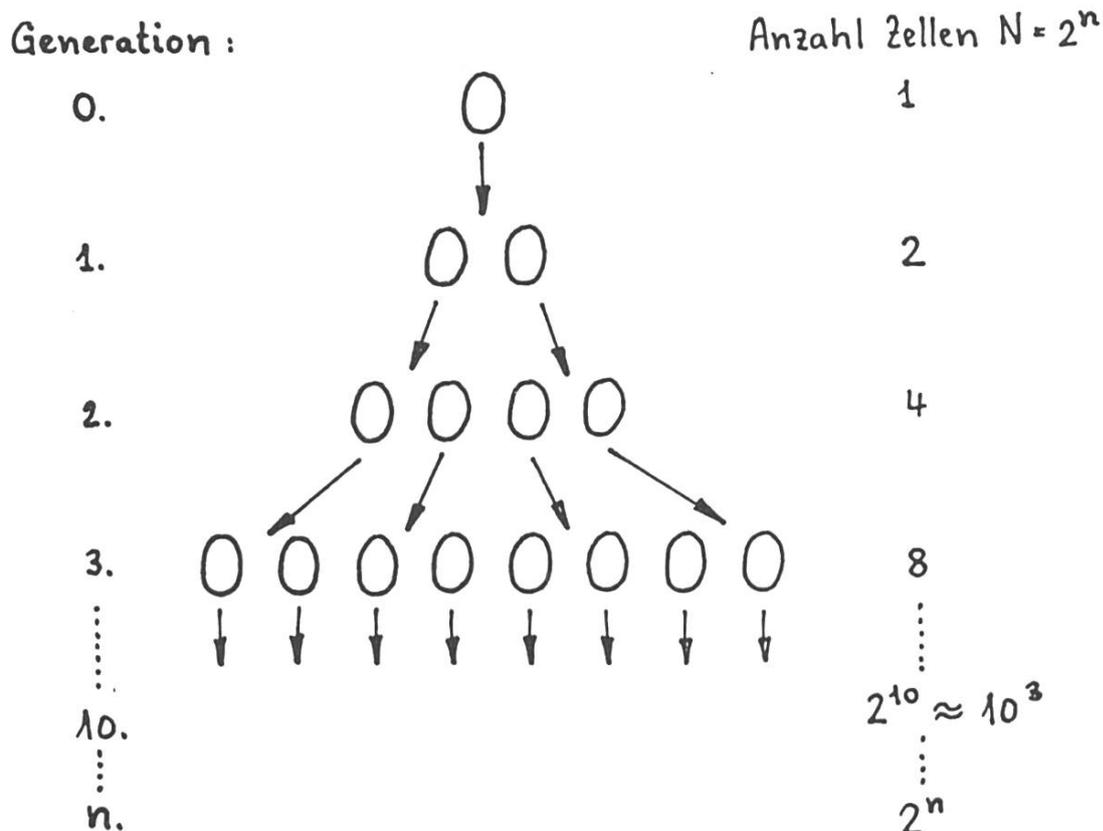


Abb. 1: Exponentielle Vermehrung von Zellen.

In jeder Generation entstehen aus jeder Zelle zwei Tochterzellen, so dass die Anzahl Zellen N nach n Generationen 2^n beträgt. Die Generationszeit ist die Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zellteilungen.

In Anwesenheit reichlicher Nahrung haben viele Bakterienstämme eine Generationszeit von etwa 30 Minuten. Man kann folglich erwarten, dass aus jeder Zelle im Laufe von nur 5 Stunden 1000 Nachkommzellen entstehen. Diese exponentielle Vermehrung geht weiter bis die Zellkultur eine solche Dichte erreicht hat, dass die Nahrungszufuhr schliesslich versiegt. Dies ist für Bakterien bei Konzentrationen zwischen 10^9 - 10^{10} Zellen pro Milliliter (= Kubikzentimeter) der Fall. Wird somit zur Zeit 0 ein 10'000 Liter fassender Grossfermenter mit einer dicht gewachsenen Bakterienkultur von 10 Milliliter Inhalt inokuliert, so erreicht die Kultur innert nur 10 Stunden wieder ihre ursprüngliche Zelldichte. Auf dieser starken Wachstumsgeschwindigkeit basiert ein Teil des grossen Potentials der Biotechnologie. Ausserdem kommt dazu, dass viele Bakterien sich mit sehr einfacher Nahrung zufrieden geben, ja sogar in einer Mischung verschiedener Mineralsalze und eines Zuckers leben können. Unter diesen Bedingungen ist allerdings die Generationszeit etwas länger als in einem reichhaltigen Nährmedium. Aber selbst bei einer Generationszeit von 2 Stunden verlängert sich die zur Züchtung benötigte Zeit nur um einen Faktor von 4 im Vergleich zu obigem Beispiel.

Zellen höherer Lebewesen vermehren sich in Kultur ebenfalls durch Zweiteilung, wobei allerdings die Generationszeit bedeutend höher ist als bei Bakterien. Eine mittlere Generationszeit pflanzlicher oder tierischer Zellen ist 15 Stunden. Eine weitere Erschwerung für den biotechnologischen Einsatz höherer Zellen liegt in den oft komplexen Nahrungsbedürfnissen, die sich darin begründen, dass diese Zellen gewisse biologisch wirksame Stoffe nicht selbst herstellen können und daher aus dem Nährmedium aufnehmen müssen. Dies verteuert in bedeutendem Masse den Einsatz höherer Zellen zu biotechnologischen Zwecken.

Begrenzung der Möglichkeiten herkömmlicher Biotechnologie

Die nun schon klassisch gewordenen biotechnologischen Nutzanwendungen beruhen meistens darauf, dass aus der Natur isolierte Mikroorganismen oder Zellen höherer Lebewesen unter bestmöglichen

Bedingungen in Kulturmedien gezüchtet werden. Nicht alle biotechnologisch interessanten Organismen (z.B. Pilze) vermehren sich dabei allerdings nach den soeben beschriebenen Regeln der Aufeinanderfolge von Zellteilungen. Ferner beschränken auch andere Faktoren oft die Züchtbarkeit von aus der Natur isolierten Organismen. In vielen Fällen ist es aber schon gelungen, die Ausbeute der gewünschten zellulären Produkte durch verschiedene Massnahmen entscheidend zu verbessern, sei es durch geschickte Wahl physiologischer Bedingungen, sei es durch Isolierung genetischer Mutanten der ursprünglich in der Natur vorgefundenen Form. Voraussetzung für solche Verbesserungen ist zumeist ein Verständnis der einer gegebenen Reaktion zu Grunde liegenden biologischen Mechanismen. Eine weitere wichtige Komponente ist die Adaptation der in der Züchtung angewandten Verfahrenstechnologie an die naturgegebenen Randbedingungen des verwendeten Organismus'. Allgemein kann man feststellen, dass die biotechnologische Nutzanwendung enorm von einer vertieften Kenntnis der Biologie des verwendeten Lebewesens profitiert. Die in den letzten Jahrzehnten entwickelte Methodologie der mikrobiellen Genetik bietet eine willkommene Basis für die Erarbeitung der hier geforderten Grundlagen.

Biologische Stoffumwandlungen sind genetisch programmiert

Bekanntlich sind physiologische Aktivitäten jeder Zelle von der Anwesenheit und dem korrekten Funktionieren von Erbinformation abhängig. Infolgedessen setzt der biotechnologische Einsatz von Zellen eine relativ grosse genetische Stabilität voraus. Diese ist für viele uns interessierende Prozesse der Stoffumwandlung gegeben, muss aber von Fall zu Fall überprüft werden.

Es ist seit über 30 Jahren bekannt, dass die Erbinformation aller Zellen in Desoxyribonukleinsäuremolekülen enthalten ist. Dieser allgemein als DNA bekannte Erbträger ist prinzipiell aus vier verschiedenen Bausteinen zusammengesetzt. Die lineare Abfolge dieser Bausteine entlang des fadenförmigen Makromoleküls der DNA (Abb. 2) bestimmt den Informationsgehalt der Erbmoleküle.

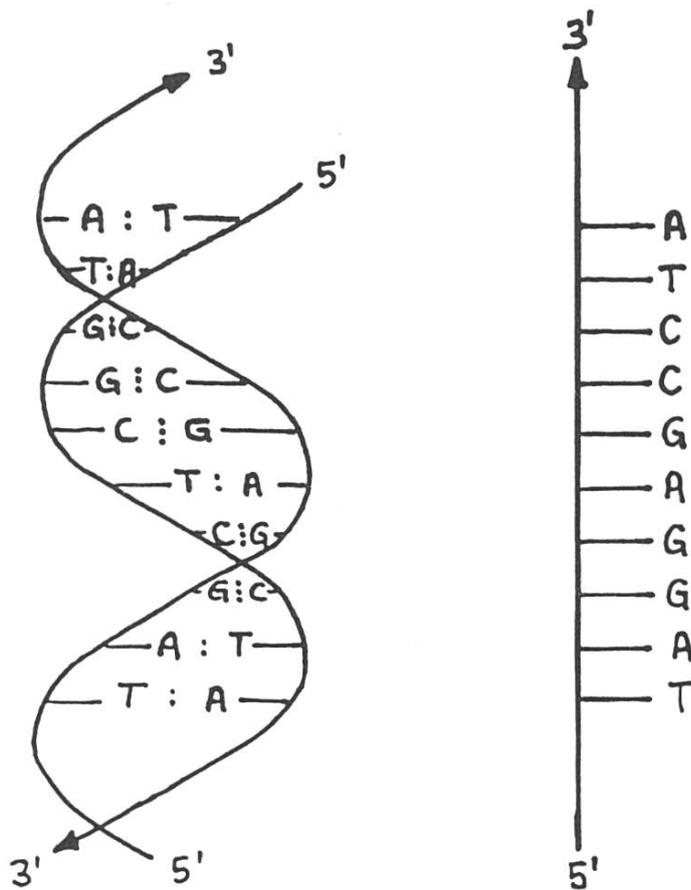


Abb. 2: Kurzer Abschnitt eines DNA-Fadenmoleküls. Links ist schematisch die Wendeltreppen-förmige Doppelhelix mit ihren zwei komplementären Strängen dargestellt. Die Buchstaben A, T, G und C sind Kurznamen der 4 möglichen Nukleotidbausteine. Die Komplementarität der zwei DNA Stränge beruht darauf, dass A nur mit dem Nachbarn T eine Stufe der Treppe bilden kann, G nur mit C. Durch die Polarität (angedeutet mit 5' und 3' und mit Pfeilen) der Moleküle ist die Leserichtung gegeben. Im rechts gezeichneten Einzelstrang liest sich die Information von unten nach oben.

Informationsgehalt des Erbgutes

Abb. 3 veranschaulicht die Fülle an Erbinformation, wie sie sich in jeder Zelle vorfindet. Von den einfachsten einzelligen Lebewesen, den Bakterien, weiss man, dass die Erbinformation etwa 4 Millionen Buchstaben (Nukleotidpaare) umfasst, welche alle in einem einzigen, fadenförmigen, zu einem Ring geschlossenen DNA-Makromolekül, dem bakteriellen Chromosom, enthalten sind. Im Vergleich dazu ist das Erbgut der menschlichen Zelle erwartungsgemäss komplexer. Hier finden sich in den 46 Chromosomen des Zellkerns etwa 6 Milliarden Nukleotidpaare. Zwar ist der menschliche Zellkern wie der Zellkern anderer höherer Lebewesen

	Anzahl Buchstaben:	Vergleich mit Druckschrift:
Bakterielle Zelle	4'000'000	1 Band (Bibel)
Menschliche Zelle (diploid)	6'000'000'000	1500 Bände
Virus, Plasmid	10'000-100'000	einige Seiten
Gen (funktionelle Einheit)	100 - 5'000	einige Zeilen bis 2 Seiten

Abb. 3: Informationsgehalt der DNA.

Für den Vergleich der Erbschrift mit der Druckschrift wird hier ein Nukleotidpaar der Doppelstrang-Form der DNA einem Buchstaben gleichgesetzt.

diploid, d.h. die Gesamtheit der Erbinformation findet sich prinzipiell doppelt vor, aber die vom Vater und von der Mutter stammenden Hälften sind nicht vollkommen identisch, sondern unterscheiden sich in mannigfaltiger Weise in ihrem exakten Erbgehalt. Im Gegensatz dazu sind Bakterien haploid und tragen somit nur einen Satz ihrer Erbinformation.

Ein Vergleich zwischen der Erbschrift und unserer Druckschrift, in dem für ein Nukleotidpaar ein Buchstabe unseres Alphabetes gezählt wird, zeigt uns, dass der Erbinformation der Bakterienzelle etwa der Informationsgehalt der Bibel entspricht. Dem menschlichen diploiden Chromosomensatz entspricht somit eine Bibliothek von 1500 Bänden des Inhaltes der Bibel. Dabei ist allerdings wegen der Diploidie der Inhalt der einen Hälfte der Bibliothek demjenigen der andern Hälfte sehr ähnlich.

In vielen Fällen finden sich neben den Chromosomen noch kleinere, in ihrer Vermehrung unabhängige DNA-Moleküle. Dazu gehören die Plasmide und die Erbträger von Viren. Deren Grösse fällt oft in den Bereich zwischen 10'000 und 100'000 Nukleotidpaaren, was in der genannten Bibliothek einigen Seiten entspricht.

Die funktionelle Einheit des Erbgutes ist das Gen. Jedes Gen hat seine spezifische Grösse. Kleine Gene mögen nur etwa 100 Nukleotidpaare enthalten, grosse Gene einige 1000 Nukleotidpaare. Dies

entspricht in der erwähnten Bibliothek je nachdem einigen Zeilen oder einer bis zwei Seiten.

Methodische Fortschritte eröffnen neue Wege zum Studium von Struktur und Funktion der Gene

Angesichts der Fülle an Erbinformation stellt sich die Frage, wie die molekulare Genetik gezielt ein ausgewähltes Gen in dessen Strukturen und Funktionen untersuchen kann. Dies kann in diesem Zusammenhang nur oberflächlich diskutiert werden. Pionierarbeit in der Entwicklung neuer Methodik wurde vor allem im Zusammenhang mit der Untersuchung kleiner DNA-Moleküle geleistet, wie wir sie in Viren und als Plasmide vorfinden.

Willkommene Helfer zur systematischen Fragmentierung der langfädigen DNA-Moleküle findet der Forscher in den Restriktionsenzymen. Restriktionsenzyme werden durch viele Bakterienstämme synthetisiert, wo sie die Aufgabe haben, die Zelle vor eindringendem fremdem Erbgut zu schützen. Sie erfüllen diese Funktion, indem sie fremde Erbgutmoleküle auch als fremd erkennen und in der Folge durch Aufspalten in Fragmente zerstören. Viele bakterielle Restriktionsenzyme vollziehen die Spaltung der DNA-Moleküle an spezifischen, präzise ausgewählten Stellen, so dass homogene, populationspezifische Fragmente entstehen. Die Spezifität der Spaltorte basiert auf dem Erkennen einer für jedes gegebene Restriktionsenzym einzigartigen Reihenfolge von Nukleotidbausteinen. Folglich wird ein ringförmiges DNA-Molekül in so viele Fragmente gespalten, wie spezifische Erkennungssequenzen vorliegen. Deren Vorkommen und Verteilung entlang eines DNA-Fadens haben natürlich nichts mit dem Abwehrmechanismus der infizierten Bakterienzelle direkt zu tun, sondern hängen vom Inhalt an Erbinformation der DNA ab.

DNA-Fragmente, die aus einer im Reagenzglas mittels Restriktionsenzymen vollzogenen Spaltung resultieren, können auf Grund ihrer verschiedenen Länge unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes in einem Gel aufgetrennt werden (Elektrophorese). Dies ermöglicht sowohl die Reinigung spezifischer Fragmente, als auch das Erstellen sogenannter Restriktionsspaltungskarten, aus denen hervor-

geht, von welcher Stelle der ursprünglichen, langfädigen DNA-Moleküle die erhaltenen Fragmente stammen. Solche Karten können für beliebig viele Restriktionsenzyme verschiedener Spezifität hergestellt werden, und sie bilden die Basis für weitere strukturelle Analysen der DNA.

Zu diesen strukturellen Analysen gehört die Nukleotidsequenzanalyse, welche sich zum Ziel setzt, die Reihenfolge der Nukleotidbausteine entlang der linearen DNA-Moleküle zu erkunden. Seit bald 10 Jahren sind zu diesem Zweck gute Methoden verfügbar, welche erlauben, prinzipiell vom Ende eines Restriktionsfragmentes her die Reihenfolge der Nukleotidbausteine über eine Distanz von einigen 100 Nukleotiden zu lesen. Zur Erkundung der Primärstruktur längerer Gensegmente sind entsprechend überlappende Sequenzanalysen von verschiedenen Restriktionsspaltorten her notwendig. So ist es heute möglich, die komplette Nukleotidsequenz von viralen DNA-Molekülen und von Plasmiden zu bestimmen.

Das Gen als funktionelle Einheit des Erbgutes

Die Kenntnis der primären Struktur des Erbgutes bildet eine gute Basis für das Verständnis genetischer Funktion. Wie in Abbildung 4 schematisch dargestellt, setzt sich das Gen im allgemeinen aus folgenden zwei Bereichen zusammen:

1. Der zentrale Teil eines Gens umfasst jene Information, die in der Genexpression mit Hilfe des genetischen Codes übersetzt wird. Die resultierenden Proteine als eigentliche primäre Genprodukte enthalten in genetisch spezifizierter Reihenfolge Aminosäuren als Bausteine, von denen 20 verschiedene zur Wahl stehen. Obwohl zunächst wie die DNA linear angeordnet, falten sich Proteine spontan zu dreidimensionalen Gebilden und erhalten in dieser Form und oft erst nach weiterer biochemischer Modifikation ihre funktionelle Aktivität. Spezifität von Faltung und Modifikation und damit die Eigenschaften eines Proteins werden im wesentlichen durch die lineare Abfolge seiner Aminosäure-Bausteine bestimmt. Die meisten Proteine können als Enzyme spezifische Stoffumwandlungsreaktionen leiten. Gewisse Proteine dienen auch als Bauelemente zellu-

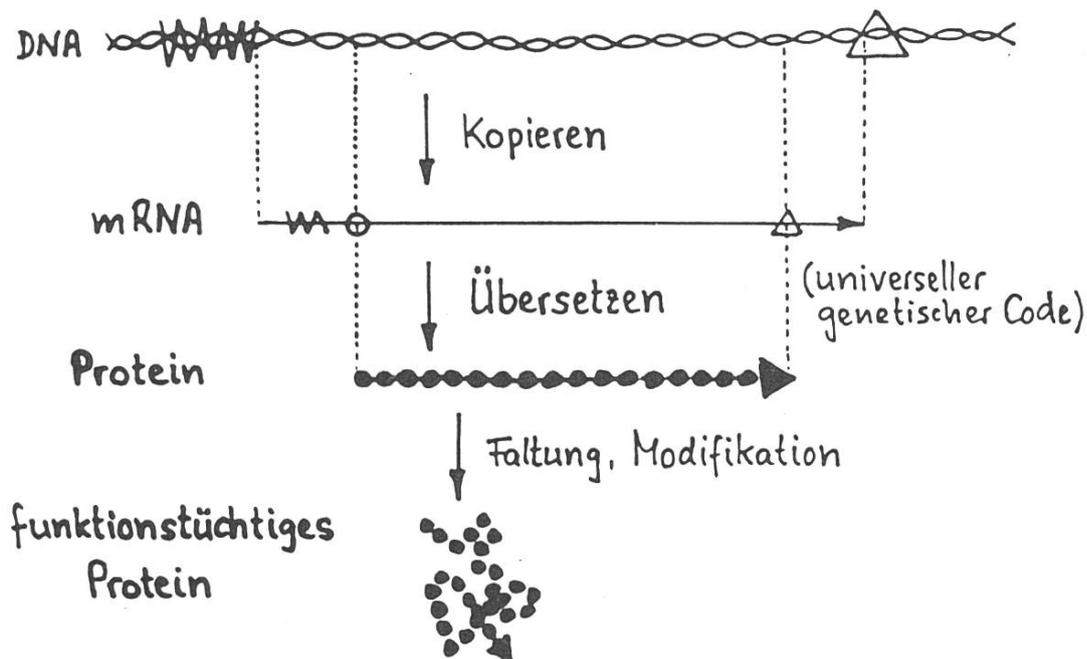


Abb. 4: Schematische Darstellung des Gens und dessen Expression. Das Gen enthält die für die Herstellung eines Proteins notwendige Information. Dazu gehören zunächst die mittels des universell gültigen genetischen Codes zu übersetzende Information, dann aber auch die auf der DNA und dem Zwischenprodukt mRNA (Botschafter-Ribonukleinsäure) durch verschiedene Zeichen angedeuteten Signale, die den Prozess der Expression des Gens regulieren.

lärer Strukturen wie Membranen. Zum Bau einer biologischen Membran sind oft sehr viele identische Proteinmoleküle notwendig. Zur enzymatisch geleiteten Katalyse eines Stoffumwandlungsprozesses genügen oft einige wenige Proteinmoleküle, da diese ihre Enzymfunktion mehrmals hintereinander ausführen können.

2. Wie wir soeben gesehen haben, benötigt die Zelle nicht von jedem ihrer Gene die gleiche Anzahl Produkte. Ausserdem bringt die Zelle nicht ständig alle ihre Gene zum Ausdruck, sondern beschränkt sich auf die Synthese jener Genprodukte, die zur Erfüllung ihrer Aufgaben nötig sind. Zudem haben vielzellige Lebewesen eine geschickte Arbeitsteilung unter den Zellen spezifischer Gewebe gefunden. Die Regulation der Genexpression wird durch spezifische Nukleotidsequenzen ermöglicht, welche sich auf beiden Seiten des Gens vorfinden. Diese Regelsignale bestimmen Zeitpunkt und Wirksamkeit der Genexpression.

Meistens wirken diese Signale dank spezifischer Wechselwirkungen mit wiederum spezifischen Produkten anderer Gene. Dies macht verständlich, dass die Regulation der Genexpression das Resultat komplexer Verflechtungen von biologischen Aktivitäten darstellt. Zu erwähnen ist noch, dass die Mechanismen der Regulation der Genexpression in ihren Einzelheiten nicht universellen Charakter haben. Dagegen ist der bei der Uebersetzung der Erbinformation dienende genetische Code, abgesehen von unbedeutenden Ausnahmen, von universeller Natur. Er hat somit für alle Lebewesen Gültigkeit.

In vitro Neukombination ermöglicht das Studium chromosomaler Gene
Wegen der grossen Fülle an Erbinformation, die in Chromosomen enthalten ist, lässt sich die mit kleinen DNA-Molekülen mögliche Detailanalyse kaum direkt auf chromosomale Gene anwenden, es sei denn, diese Gene könnten vom Rest des Erbmaterials sauber getrennt und in genügender Menge präpariert werden. Ein Durchbruch in dieser Richtung erfolgte vor etwa 15 Jahren, als die Forscher nach dem Vorbild damals bereits gut bekannter Naturprozesse dazu übergingen, kurze, ein bis wenige Gene umfassende DNA-Fragmente in als "Vektoren" dienende, kleine DNA-Moleküle einzubauen. Als geeignete Vektoren erwiesen sich die schon erwähnten Plasmide und viralen DNA-Moleküle. Die auf dieser Strategie basierende in vitro Neukombination ist in Abbildung 5 erklärt. "Donor-DNA" ist die Erbinformation jenes Lebewesens, die das den Forscher interessierende Gen enthält. Fragmente der Donor-DNA lagern sich unter günstigen Bedingungen spontan an das in linearer Form geöffnete Vektor-DNA-Molekül an. Der sich in der Folge zu einem nun leicht vergrösserten Ringmolekül schliessende Vektor kann unter geeigneten experimentellen Bedingungen in eine Wirtszelle eingeschleust werden. Als Wirtszellen dienen häufig Bakterien. Selbstverständlich nimmt der Forscher in Bedacht, dass der verwendete Vektor sich in der infizierten Wirtszelle auch gut vermehren soll. Dies ist auch nach Neukombination mit inseriertem fremdem Erbgut meistens noch der Fall, so dass bei Vermehrung der infizierten Wirtszelle sich auch das zum weiteren Studium bestimmte Erbgut der Donor-DNA vermehrt. Diese kann anschliessend

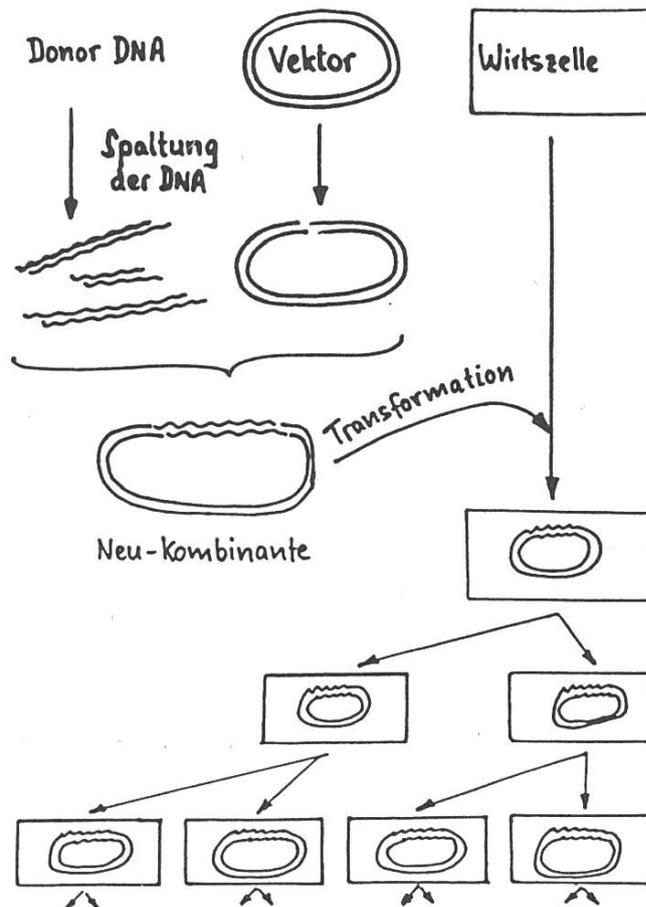


Abb. 5: Schematische Darstellung der in vitro Neukombination von DNA-Molekülen.

Die chromosomale DNA der Wirtszelle ist hier nicht eingezeichnet und die in der Wirtszelle sich vermehrende Neukombinante vereinfacht nur als eine Kopie.

aus der aufgewachsenen Zellkultur als Teil des Vektor-DNA-Moleküls relativ leicht herauspräpariert und gereinigt werden.

Mittels dieser Methodik ist es prinzipiell möglich, ein beliebig ausgewähltes Gen als Teil eines Vektors zu vermehren und mit der bereits beschriebenen Analysenmethodik strukturell aufzuklären. Allerdings soll hier erwähnt werden, dass eines der grössten Hindernisse der beschriebenen Gentechnologie darin besteht, aus der Fülle der Donor-DNA das zu studierende Gen auch zu finden. Von Fall zu Fall müssen dazu verschiedene Strategien entwickelt werden, die hier nicht alle beschrieben werden sollen. Gelingt es, das bei der Genexpression anfallende Zwischenprodukt mRNA (Abbildung 4) zu isolieren, so ist ein erster Schritt zur Ueber-

windung des erwähnten Hindernisses getan. Mit Hilfe von Enzymen kann die in der RNA steckende Information wieder in DNA kopiert werden, die dann als Donor-DNA dienen kann.

Erkunden von Zusammenhängen zwischen Geninformation und biologischer Funktion von Genprodukten

Weitere Schwierigkeiten können sich dem Forscher bieten, wenn er nach Bestimmung der Primärstruktur des isolierten Gens auch dessen funktionelle Eigenschaften erkunden möchte, was für spätere Nutzenanwendungen oft bedeutungsvoll sein kann. Auch hier wurden bereits verschiedenartige Strategien erprobt, aber trotzdem muss für die Erkundung funktioneller Eigenschaften neuer Gene häufig noch Neuland beschritten werden. Diese Hinweise mögen verdeutlichen, dass trotz der prinzipiellen Verfügbarkeit allgemeiner Methodik für das Studium jeden neuen Gens sehr viel durch Neuentwicklungen befruchtete Kleinarbeit notwendig ist.

Allerdings darf man aber auch feststellen, dass sich der Aufwand lohnt. Bereits in der doch relativ kurzen Zeit der Anwendung der Gentechnologie wurden viele zum Teil recht spektakuläre Erkenntnisse über Genstruktur und Genfunktion erzielt. Besondere Aufmerksamkeit wird dabei der Erforschung der zur Kontrolle der Genexpression dienenden Signale gegeben. Auch werden laufend bisher unbekannte Gene beschrieben und deren funktionelle Eigenschaften der weiteren Erkundung eröffnet. Von besonderem medizinischem Interesse sind z.B. die sogenannten Onkogene, deren Produkte in Krebszellen offenbar permanent synthetisiert werden, während diese Gene in normalen Zellen nur in bestimmten Entwicklungsphasen zum Ausdruck kommen. Mit Sicherheit darf man aber feststellen, dass die schon jetzt vorliegenden Resultate über Genstruktur und Genfunktion nur eine Vorahnung der reichhaltigen Möglichkeiten geben, die der zukünftigen Grundlagenforschung im Bereiche der molekularen Genetik und darüber hinaus der Molekularbiologie im weiteren Sinne und der Zellbiologie vorbehalten bleiben. Dazu gehört die interdisziplinäre Bearbeitung von Fragen über biologische Funktionsmechanismen, insbesondere der Wechselwirkung zwischen verschiedenartigen, biologisch wirksamen Makromolekülen.

Eine sehr fruchtbare Strategie im Studium der Beziehung zwischen primärer Genstruktur und Funktion eines Genproduktes bedient sich der sogenannten ortsspezifischen Mutagenese. Hier werden ein oder mehrere Nukleotide eines Gens ausgetauscht oder in anderen Fällen entfernt. Erfolgt diese Mutation im Innern der für die Proteinstruktur verantwortlichen genetischen Information, so können durch vergleichende Studien des mutierten Produktes mit dem ursprünglichen Produkt unter Umständen die für die Funktion wesentlichen Genabschnitte identifiziert werden. In Analogie gelingt es manchmal auch, in den der Genregulation dienenden Signalen wesentliche von unwesentlichen Elementen zu unterscheiden.

Eine langfristige Zielsetzung dieser Forschungsvorhaben liegt im Erkennen gesetzmässiger Regeln, welche die Konformation von Proteinen - und allenfalls auch Enzymfunktion - mit der spezifischen Reihenfolge der Aminosäure-Bausteine der Proteine, und damit auch der spezifischen Reihenfolge der Nukleotid-Bausteine der Gene, in Verbindung bringen könnten. Die auf diesen Zusammenhängen basierenden Möglichkeiten der Nutzanwendung fallen in den Bereich des "Protein-engineering".

Weshalb gibt die Molekularbiologie der Biotechnologie Aufwind?

Im Titel dieses Beitrages wird behauptet, Fortschritte der Molekularbiologie bedeuteten für die Biotechnologie Aufwind. Diese Feststellung beruht auf folgenden drei wesentlichen Aspekten:

1. Dank der in Abbildung 5 geschilderten Methodik der in vitro Neukombination ist es möglich, Gene beliebigen Ursprungs zu isolieren, in ihrer Struktur zu charakterisieren und schliesslich in eine für die Expression ihrer Funktionen bestgeeignete Produzentenzelle zu transplantieren. War die Biotechnologie noch bis vor kurzem darauf angewiesen, jene Zellen im Hinblick auf biotechnologische Nutzwendungen zur Züchtung zu verwenden, welche schon von Natur her das für das erwünschte Produkt zuständige Gen trugen, so kann der nach Nutzanwendung trachtende Forscher heute eine ihm geeignet erscheinende

Wirtszelle seiner eigenen Wahl für die Synthese des zu produzierenden Genproduktes benutzen. So werden z.B. schon seit einiger Zeit menschliches Insulin und Interferon in *Escherichia coli* Bakterien produziert.

Es ist dank der Transplantationsmöglichkeit von Genen auch möglich, in einer gegebenen Zelle mehrere wünschbare Eigenschaften zu vereinen, die sich vorher in verschiedenen Zellen befanden. Ein bereits in Bearbeitung sich befindendes Beispiel betrifft die Möglichkeit, durch ein und dasselbe Bakterium mehrere Schritte im biologischen Abbau von Erdölprodukten zu katalysieren.

2. Die bereits erwähnte ortsspezifische Mutagenese erlaubt es dem Forscher, in Kenntnis der Genstruktur und der Funktion des Genproduktes gezielt gewisse Eigenschaften des Proteins zu verändern. Häufig führen Proteine mehr als eine Funktion aus. Unter Umständen könnte eine dieser Funktionen beispielsweise bei einem als Medikament eingesetzten Genprodukt unerwünschte Nebenwirkungen erzeugen. Theoretisch erscheint es möglich, solche Nebenwirkungen in gewissen Fällen durch ortsspezifische Mutagenese zum Verschwinden zu bringen.

Eine bedeutende Rolle kann der ortsspezifischen Mutagenese auch zur Verbesserung der Ausbeute an Genprodukten zugeschrieben werden, dies, indem entweder gezielt Mutationen in den Regulationssignalen der Genexpression gemacht werden, oder aber durch Ersetzen angestammter Signale durch stark wirksame Signale anderer Gene.

3. Ein weiterer sehr wichtiger Faktor für den Aufwind der Molekularbiologie für die Biotechnologie basiert auf der Tatsache, dass biotechnologische Nutzenanwendung weitgehend auf zuvor erlangten biologischen Grundlagenkenntnissen basiert. Es geht hier um die Frage, welche Genprodukte uns wo und wie nützlich sein könnten. Aus der Betrachtung einer Blume oder eines Schmetterlings lässt sich die Nutzenanwendung eines ihrer Genprodukte nicht erahnen. Erst eine vertiefte Erkundung der

Mechanismen, mit welchen die biologischen Wirkstoffe eines Lebewesens ihren Einfluss ausüben, eröffnet uns den Zugang zu allfälligen Nutzenanwendungen. Aus diesem Grunde ist es denn auch heute sehr schwer vorauszusagen, in welchen speziellen Bereichen die Biotechnologie längerfristig die für den Nutzen der Menschheit wertvollsten Anwendungen wird entwickeln können.

Woher ist Innovation für biotechnologische Nutzenanwendungen zu erwarten?

Aus den gemachten Aussagen wird ersichtlich, dass das eigentliche Geheimnis der Innovation für biotechnologische Nutzenanwendungen in der Erarbeitung neuen Grundlagenwissens liegt. Da diese Forschungen aber sehr arbeitsaufwendig und entsprechend langwierig sind, wird auch klar, warum wir hier behaupten, dass die moderne Biotechnologie nicht von einem Sturmwind angetrieben werde, sondern von einem sanften, doch stetig wirkenden Aufwind. Versteht es der Mensch, diesen Aufwind geschickt zu nutzen, so darf er für seine angestrebten Nutzenanwendungen einen ruhigen und steten Höhenflug erwarten. Allerdings muss er sich bewusst sein, dass die entsprechende Geduld notwendig ist.

Auch im Bereiche der verfahrenstechnischen Aspekte befindet sich die Biotechnologie heute sicher noch in einer Frühphase. Die heute verwendeten Fermenter und Abwasserreinigungsanlagen dürften wohl in 50 Jahren als Oldtimer angesehen werden. Wiederum erfordert die Verbesserung der Verfahrenstechniken viel Innovation. Auch diese Innovation wird sich durch ein vertiefteres Verständnis des biologischen Geschehens sicher sehr fruchtbar beeinflussen lassen.

Interdisziplinarität der biotechnologischen Arbeitsweise

Das hier Gesagte hat auch seine Relevanz für die Ausbildung und für die Arbeitsweise der in biotechnologischen Projekten beschäftigten Wissenschaftler und Ingenieure. Bereits jetzt und sehr wahrscheinlich auch in Zukunft werden biotechnologische Projekte am erfolgreichsten im Teamwork bearbeitet. Im Team

sollte der zell- und molekularbiologisch ausgebildete Partner zusätzlich wenigstens eine Idee über die sich in der Verfahrenstechnik stellenden Fragen und deren Lösungsmöglichkeiten haben. Ebenso muss von dem für die verfahrenstechnischen Aspekte zuständigen Ingenieur erwartet werden können, dass er für die Besonderheiten des biologischen Geschehens in Zellpopulationen Einsicht zeigt. Von der Hochschule muss somit gefordert werden, dass sie im Hinblick auf die biotechnologischen Anwendungen konzipierte Studiengänge für Zell- und Molekularbiologen einerseits und für Verfahreningenieure andererseits anbietet und dass sie dabei darauf bedacht ist, den für die Praxis notwendigen Dialog zwischen den Absolventen der zwei Ausbildungsgänge bereits während des Studiums vorzubereiten. Es ist aber beispielsweise nicht nötig, dass der Verfahreningenieur selbst eine ortsspezifische Mutagenese ausführen kann, ebensowenig wie man vom Molekularbiologen erwarten sollte, dass er die zu einer guten Durchlüftung einer im Grossfermenter wachsenden Bakterienkultur notwendige Installation entwerfen kann.

Biotechnologische Nutzenanwendungen berühren mannigfaltige Bereiche unserer Zivilisation

Es ist vorauszusehen, dass sehr viele Bereiche der menschlichen Tätigkeit von biotechnologischen Nutzenanwendungen sowohl im engeren wie im weiteren Sinne berührt werden können. Einige dieser Bereiche sollen hier sehr summarisch gestreift werden, wobei nochmals in Erinnerung gerufen werden soll, dass heute wohl noch niemand die in Zukunft als fruchtbarsten Entwicklungen sich erweisenden Projekte nennen kann.

Im Bereiche der Human- und Tiermedizin werden sicher Therapie, Diagnose und auch Prophylaxe in grossem Masse von der Biotechnologie profitieren. Hier werden gezielt eingesetzte biologische Wirkstoffe als neue Medikamente dienen und gentechnisch gewonnene Antigene werden in vermehrtem Masse als Impfstoffe zur Verhütung heute noch schwer bekämpfbarer Infektionskrankheiten Verwendung finden.

Im Bereiche der Ernährung kann man an die Verbesserung des Nährwerts pflanzlicher Proteine denken, deren Gene durch ortsspezifische Mutagenese gezielt so verändert werden, dass der Gehalt der Proteine an essentiellen Aminosäuren erhöht wird. Andererseits wird schon jetzt angestrebt, weiteren unserer Nutzpflanzen die Fixierung von Stickstoff aus der Luft zu ermöglichen, sei es direkt oder in Symbiose mit Mikroorganismen, die zur Stickstoff-Fixierung von der Natur her befähigt sind. Dadurch könnten Nutzpflanzen vermehrt von Stickstoffdünger unabhängig werden.

Auch im Kampfe um die Reinheit der Umwelt, sei es von Luft, Wasser oder Boden, können biotechnologische Verfahren sicher vermehrt ergänzend zu anderen Massnahmen eingesetzt werden. Zu den anzustrebenden biotechnologischen Verfahren gehört auch die enzymatische Katalyse chemischer Prozesse, die bekanntlich nicht nur energiesparender abläuft als klassische Synthesen, sondern auch den Vorteil mit sich bringt, dass die anfallenden Nebenprodukte wiederum biologisch abbaubar sind. Andere biotechnologische Verfahren berühren die Biokonversion biologischer Stoffe in direkt einsetzbare Energieträger, oder auch den Einsatz von Mikroorganismen zur Mineralerzförderung und in Prozessen zur Wiedergewinnung natürlicher Rohstoffe aus Abfällen.

Birgt die Transplantation von Genen Risiken?

Schon in der Frühzeit der Entwicklung der Methodik der in vitro Neukombination stellten sich die Forscher selbst die Frage, ob in dieser Methodik gewisse Risiken verborgen lägen. Könnte die ein fremdes Gen aufnehmende Wirtszelle sich z.B. plötzlich als pathogen erweisen und das Laborpersonal infizieren? Oder könnten fremde Gene tragende Lebewesen, z.B. Bakterien, nach Freisetzung in die Umwelt längerfristig ökologisch unerwünschte Effekte hervorrufen? Um solche Risiken nach Möglichkeit einzudämmen, wurden Arbeitsrichtlinien eingeführt, die sich von der Arbeitsweise der medizinischen Mikrobiologie inspirierten. Weltweit einflussreiche wissenschaftspolitische Dachorganisationen empfahlen bald eine Angleichung, Harmonisierung der Arbeitsweise der Forscher aller Länder.

Inzwischen vermehrte sich auch unser Grundlagenwissen über natürliche Prozesse des Austausches von Erbgut zwischen Lebewesen verschiedener Arten, besonders im Bereiche der Mikroorganismen. In der Tat ist - wie bereits gesagt - die Methode der in vitro Neukombination nicht eine reine Innovation der Forscher, sondern eine Nachahmung von bereits zuvor bekannten natürlichen Prozessen. Allerdings ist noch nicht bekannt, wie weite Distanzen der genetischen Verwandtschaft der sogenannte horizontale Genaustausch in der Natur gehen kann, in dem einzelne Gene mittels natürlicher Genvektoren auf andere Lebewesen übertragen werden.

Natürlicher horizontaler Genaustausch unter verschiedenartigen Bakterien

Für Bakterien ist bekannt, dass folgende Mechanismen Anlass zur Aufnahme fremder Gene in den bestehenden Satz der zellulären Erbinformation geben können. Der Transformation, d.h. der Aufnahme freier DNA Fragmente, sind wir in Abbildung 5 schon begegnet. In der bakteriellen Konjugation können bei Kontakt zwischen zwei verschiedenartigen Bakterienzellen ein Plasmid, und unter Umständen auch chromosomale Gene, von einer auf eine andere Zelle übertragen werden. In dem als Transduktion bekannten Phänomen können bakterielle Viren mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit bakterielle Gene der ihnen zur Reproduktion dienenden Wirtszelle in virale Partikel abpacken und bei Infektion an neue Wirtszellen einer anderen Art von Bakterien weitergeben. Schliesslich hat man auch das bei höheren Zellen bekannte Phänomen der Zellfusion, welches biotechnologisch zur Produktion von monoklonalen Antikörpern genutzt wird, bei gewissen Bakterienstämmen beobachtet. Dabei durchmischt sich das Erbgut zweier verschiedener Bakterienstämme.

Normalerweise wehren sich Bakterien gegen die Aufnahme fremder Gene. Die bereits besprochenen Restriktionsenzyme tragen wirksam zu dieser Abwehr bei. Doch auch diese Schutzmechanismen wirken nie vollkommen, so dass die Aufnahme fremden Erbgutes in einer kleinen Proportion einer bakteriellen Population toleriert wird.

Natürliche Verpflanzung von Erbgut mittels Transposition

Man hat auch begonnen zu verstehen, wie chromosomale Gene in natürliche Genvektoren eingebaut werden und wie sie diese nach Uebertragung in eine andere Bakterienzelle allenfalls wieder verlassen können und ihren Weg in das angestammte zelluläre Erbgut finden. Einer der gut studierten Mechanismen ist die Transposition, wie sie schematisch in Abbildung 6 erklärt ist. Sogenannte IS-Elemente (IS steht für Insertions-Sequenz) und Transposonen gehören zu der Klasse der mobilen genetischen Elemente, die unter enzymatischer Leitung hin und wieder ihren Platz auf den langfädigen DNA-Molekülen wechseln können. Diesen Prozess nennt man Transposition. Transposition kann nicht nur von einem Platz auf einen anderen auf dem gleichen Molekül erfolgen,

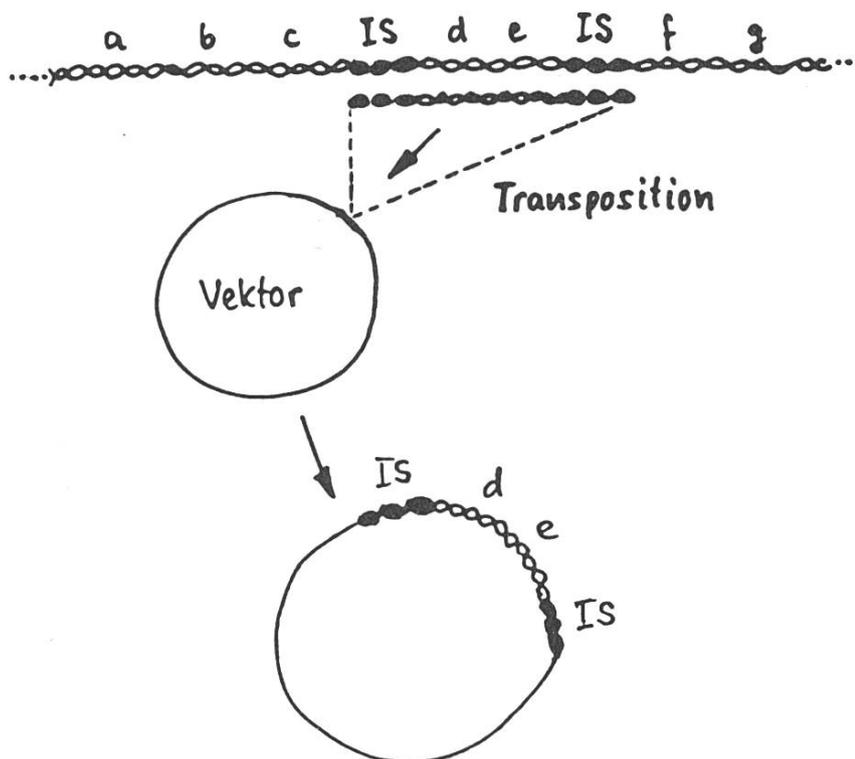


Abb. 6: Vereinfachte Darstellung der Transposition.

Das von zwei identischen IS-Elementen eingerahmte Segment mit den Genen d und e eines Chromosoms bildet gesamthaft ein Transposon. Mit tiefer Frequenz kann sich dieses Segment als Einheit an einer neuen Stelle des gleichen oder eines anderen DNA-Moleküls einbauen (inserteren). Hier erfolgt dieser Einbau in ein natürliches Vektor-DNA-Molekül. Nach Infektion einer anderen Bakterienzelle durch diesen beladenen Vektor kann das Transposon unter Umständen mittels des gleichen Mechanismus der Transposition in das ansässige Chromosom inserieren und so Teil des Chromosoms werden.

sondern das mobile genetische Element kann sich auch in ein in der Zelle anwesendes Plasmid oder virales Genom einbauen. Der bereits beschriebene Prozess des horizontalen Gentransfers bewirkt dann die Streuung der derart mobilisierten Gene auf andere Bakterienstämme.

Diese Mechanismen sind wissenschaftlich sehr gut dokumentiert durch das Studium der in den letzten Jahrzehnten in vermehrter Masse aufgetretenen Gene für Antibiotikaresistenzen. In der Tat finden sich viele dieser Gene heute noch auf natürlichen Genvektoren und sehr oft als Teil eines Transposons. Dies ist ein deutlicher Hinweis dafür, dass diese Gene wie wohl auch andere mikrobielle Gene mit gewissen, allerdings relativ tiefen Frequenzen schon immer hin und wieder horizontal ausgetauscht wurden. Seit dem weltweiten Einsatz von Antibiotika für human- und tiermedizinische Zwecke in den letzten 40 Jahren hat der Mensch die Selektionsbedingungen für im Körperinnern sich vermehrende Bakterien grundlegend geändert. Dies verschaffte jenen seltenen Bakterien einen selektiven Vorteil, die zufällig zuvor in horizontalem Genaustausch ein Resistenzgen erhalten hatten, welches diesen Bakterien erlaubte, das Antibiotikum zu inaktivieren.

Die biologische Evolution der Mikroorganismen bedient sich des horizontalen Genaustausches

Der hier geschilderte horizontale Genfluss bereichert in entscheidendem Masse die Möglichkeiten der biologischen Evolution der Mikroorganismen. Während sich in der vertikalen Evolution durch Akkumulation von Mutationen von Generation zu Generation Veränderungen im Erbgut feststellen lassen, kann in einem gegebenen Moment durch Aufnahme eines oder mehrerer fremder Gene aus einem anderen Lebewesen das genetische Potential wirksam erweitert werden. In diesem Lichte kann der Evolutionsbaum als eigentliches Netzwerk angesehen werden (Abb. 7). Konsequenterweise ist die weitere biologische Entwicklung eines gegebenen Bakterienstammes nicht nur vom Informationsgehalt seines heute benutzten Erbgutes abhängig, sondern eigentlich vom gesamten Genpool all jener Lebewesen, die durch horizontalen Austausch von Genen allenfalls zu Weiterentwicklungen beitragen können.

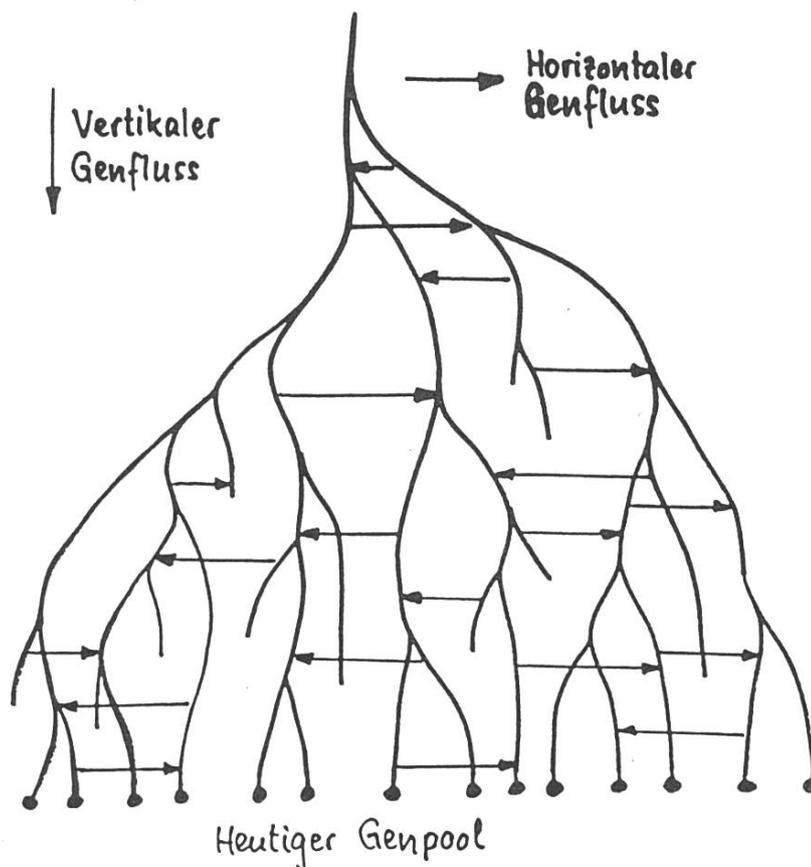


Abb. 7: Mikrobielle Evolution als Netzwerk.

Im vertikalen Genfluss diversifiziert sich das Erbgut durch Akkumulation von verschiedenartigen Mutationen im Laufe der Zeit. Der resultierende "Evolutionbaum" ist von oben (Frühzeit) nach unten (heute) gezeichnet. Hin und wieder kann ein oder können mehrere Gene zwischen verschiedenartigen Bakterien horizontal ausgetauscht werden, was zur evolutionären Diversifizierung entscheidend beitragen kann.

Erinnern wir uns aber daran, dass wir noch nicht wissen, über wie weite Distanzen Gene horizontal normalerweise ausgetauscht werden können, während diesem Austausch in der *in vitro* Neukombination keine prinzipiellen Grenzen gesetzt sind. Verantwortungsvolle Vorsicht besonders in Projekten der willentlichen Freisetzung von Organismen mit eingepflanzten Fremd-Genen in die Umwelt ist deshalb nach wie vor angezeigt.

Möglichkeit der Therapie menschlicher Erbkrankheiten durch Transplantation von Genen

Nur am Rande sollen hier noch kurz die prospektiven Möglichkeiten der Transplantation isolierter menschlicher Gene zum Zwecke der

Heilung von Erbkrankheiten erwähnt werden. Diese am Horizont sich abzeichnenden medizinischen Anwendungen gehören nicht zur Biotechnologie. Sie basieren aber auf den Erkenntnissen der molekulargenetischen Analyse von Struktur und Funktion spezifischer Gene und der Möglichkeit des Transfers der isolierten Gene in menschliche Zellkerne, wo sich eingebrachte DNA Segmente unter Umständen in das zelluläre Erbgut einbauen können. Die Hoffnung besteht, dass dabei Erbkranken fehlende biologische Funktionen ersetzt und diese Menschen damit von ihren Erbkrankheiten geheilt werden könnten. Wegen der vom ethischen Standpunkte her speziellen Natur des Menschen als biologisches Wesen muss bei diesen hier geschilderten Anwendungsmöglichkeiten, der sogenannten "Gentherapie", dringend gefordert werden, dass schon vor geplanten Therapieversuchen am Menschen der ethischen Vertretbarkeit besondere Beachtung geschenkt werde. Missachtung dieser Forderung könnte allenfalls aus gesellschaftspolitischen Gründen negative Folgen auch auf Bereiche biotechnologischer Nutzenanwendungen haben, auch wenn letztere prinzipiell keinen direkten Anlass zu ethischen Bedenken geben würden.

Berührungspunkte der Biotechnologie mit vielen anderen Wissensgebieten

Im Lichte der hier geschilderten Verflechtungen erscheint uns die Biotechnologie als in hohem Masse interdisziplinäre Tätigkeit des Menschen. Neben den eindeutigen Belangen der Biologie, der Medizin und der Ingenieurwissenschaften berührt die Biotechnologie auf der Seite der Geisteswissenschaften sicher die Ethik, dann aber auch die Jurisprudenz, insofern es um das Befolgen von politisch festzulegenden Verhaltensregeln geht. Wegen der ökonomischen Bedeutung der Biotechnologie berührt diese auch wichtige Bereiche der Wirtschaftswissenschaften. Aus diesen Gründen ist es auch wichtig, dass Möglichkeiten und Grenzen zukünftiger Entwicklungen der Genetik und der Biotechnologie kritisch und in für alle Beteiligten zugänglicher Weise diskutiert werden. Der vorliegende Beitrag möge als in dieser Richtung gehender Versuch aufgefasst werden.

Ausblick

Abschliessend soll aber nochmals auf die Gunst eines stetig wirkenden Aufwindes hingewiesen werden. In Anbetracht der grossen Fülle des in der Biosphäre zur Verfügung stehenden Erbgutes mögen uns sehr mannigfaltige Möglichkeiten der Nutzung vor den Türen stehen. Erinnern wir uns aber, dass die Türen sich nur langsam öffnen, in dem Masse, als in mühsamer Kleinarbeit einzelne Genfunktionen verstanden werden. Vergessen wir auch nicht, dass es noch keinem Forscher gelungen ist - und es wohl auch noch lange nicht gelingen dürfte - zu verstehen, wie alle Gene einer vorgegebenen Zelle harmonisch miteinander das Leben der Zelle gestalten. Noch schwieriger dürfte es wohl sein, zu verstehen, wie die Vielzahl aller Zellen verschiedener Gewebe zur harmonischen Entfaltung vielzelliger Lebewesen beitragen. Und schliesslich bleibt uns auch das Verständnis der gegenseitigen Wechselwirkungen verschiedenartiger Lebewesen in oekologischen Lebensgemeinschaften weitgehend verschlossen. Weitere biologische Grundlagenforschung dürfte uns nur allmählich weitere Geheimnisse aufdecken, aber viele Grundlagen der Schöpfung werden uns wohl auch längerfristig unzugänglich bleiben. Nutzen wir aber den Aufwind des langsamen Fortschrittes unserer Erkenntnisse mit Vernunft und Verantwortung, unter besonderer Rücksichtnahme auf die Erhaltung der biologischen Vielfalt auf unserem Planeten, so kann die menschliche Gemeinschaft sicher von der steten Bereicherung unseres Wissens über Lebensprozesse für ihr Gemeinwohl profitieren, während gerade dieses vermehrte Wissen auch immer wieder auf die Grenzen des Möglichen in Anbetracht der Komplexität von Lebensäusserungen hinweisen dürfte. Erinnern wir uns doch nochmals daran, dass detaillierte Kenntnis über Struktur und Funktionen eines menschlichen Gens nur den Einblick in die Geheimnisse einer einzigen Seite aus der 1500 Bände umfassenden Bibliothek des menschlichen Erbgutes jeder Zelle bedeutet.

Der vorliegende Beitrag ist das Resultat der Ueberarbeitung eines am 18. Januar 1986 vor der Vereinigung Schweizerischer Hochschuldozenten in Basel gehaltenen Vortrages.