

Gentechnologie in der Grundlagenforschung

Unter dem Begriff der Gentechnologie versteht man Methoden zur Bildung rekombinanter DNA (Desoxyribonukleinsäuren) sowie zu ihrer Wiedereinführung und Vermehrung in neuer Umgebung. Es profitiert von diesem Arbeitsgebiet daher das gesamte Spektrum der Biowissenschaften. Man kann die neue Situation mit der der Physik in der Zeit um die Jahrhundertwende vergleichen. Es fällt deshalb schwer, besondere Bereiche aus den Biowissenschaften hervorzuheben. Die folgenden Beispiele geben daher nur einen exemplarischen Überblick über die heutigen Schwerpunkte. Insgesamt sollen fünf Arbeitsgebiete angesprochen werden: a) die Dynamik der Gene; b) die Hierarchie der Gene; c) Strukturaufklärung der Gene; d) Synthetische Biologie; e) Anwendungen in der Virusforschung

Dynamik der Gene

Die Gentechnologie befaßt sich heute nicht nur mit der Analyse von einzelnen Genen sondern auch mit der Charakterisierung komplexer Genfamilien. In diese Kategorie fallen die *Gene der Immunglobuline*. Eine bestimmte Klasse der Immunglobuline, die Antikörper, bestehen aus zwei kurzen (leichten) und zwei längeren (schweren) Eiweißketten. Sie werden von den sog. B-Lymphozyten als Antwort auf einen Stimulus von außen, z. B. eine Impfung, gebildet. Man schätzt, daß der menschliche Körper insgesamt 1 000 000 verschiedene Antikörper zu produzieren in der Lage wäre; er besitzt aber insgesamt nur höchstens 150 000 Gene. Dieser Widerspruch hat sich dadurch geklärt, daß die Antikörper verschiedene funktionelle Bereiche besitzen, die nun nicht, wie bei anderen Proteinen, von einem *einzigem*, sondern von mehreren Genen kodiert werden. Diese verschiedenen Bereiche sind als kurze Genabschnitte auf verschiedenen Regionen eines der 23 Chromosomen des Menschen repräsentiert. Zur Bildung eines biologisch aktiven Antikörpers holt sich die B-Zelle verschiedene dieser Abschnitte in enge Nachbarschaft zusammen. Vergleichsweise wenige Genabschnitte können dabei zu beliebigen Kombinationen zusammengesetzt werden, so daß die gesamte Zahl von 1 Million Antikörpern leicht zustande kommen kann.

Neben der Bildung von Antikörpern gibt es eine Reihe von anderen Phänomenen in der Biologie, in der die *Beweglichkeit von Genen* eine Rolle spielt. Ein bekanntes Beispiel sind die genetischen Instabilitäten bei Mais und bei bestimmten Parasiten. Insbesondere bei wildem Mais (dem sog. „indian corn“) sind diese Phänomene auch makroskopisch erkennbar, indem die Maiskolben Körner unterschiedlicher Farbe enthalten. Dies beruht auf der Inaktivierung bestimmter Gene, die für die Farbstoffentwicklung verantwortlich sind, durch sog. transponible Elemente. Dies sind Genabschnitte, die die Eigenschaft haben, sich aus angestammten Lokalisationen aus dem Genom zu entfernen und in neue Bereiche zu springen.

In diesen neuen Bereichen werden durch den neu hereingesprungenen Genabschnitt die vorher vorhandenen Aktivitäten unterbrochen, so daß z. B. ein dort vorher vorhandenes Gen nicht mehr abgelesen werden kann. Diese Veränderung betrifft selbstverständlich nicht nur die Gene für die Farbstoffbiosynthese, wo sie so deutlich sichtbar werden, sondern auch andere Gene des Mais, z. B. solche, die für die Zuckerbiosynthese verantwortlich sind.

Dank der Untersuchungen von *B. McClintock* ist heute klar, daß sich diese springenden Elemente im Mais in ihrer Struktur von ähnlich wirkenden Elementen, die wir bei Bakterien kennen, wo sie für die schnelle Übertragung von Antibiotikaresistenzen verantwortlich sind, nicht unterscheiden. Ein ähnlicher Mechanismus erlaubt auch dem *Erreger der afrikanischen Schlafkrankheit* die ständige Veränderung seiner Oberfläche. Immer wenn sich ein befallener Organismus immunologisch an die Anwesenheit des Parasiten angepaßt hat, verändert dieser mittels eines Gensprunges die Struktur und damit auch die antigenen Eigenschaften seiner Oberfläche. Der Organismus ist dadurch wieder völlig ungeschützt und muß sich erst im Laufe längerer Zeit an die neuen Verhältnisse anpassen. Das Phänomen der springenden Gene ist insgesamt in der Biologie so weit verbreitet, daß wir es hier wohl mit einem wichtigen Werkzeug der Evolution von Organismen zu tun haben.

Hierarchie von Genen

Gene haben für einen Organismus ganz unterschiedliche Bedeutung. Insbesondere gibt es eine Reihe von Genen, deren Anwesenheit ganze Kaskaden anderer Gene beeinflusst und die daher das Verhalten einer ganzen Zelle oder gar eines ganzen Organismus beeinflussen können. Hierzu zählen die sog. *Onkogene*. Es handelt sich hier um eine Gruppe von Genen (ca. 20–30), die in allen unseren Körperzellen vorkommen, allerdings in einer inaktiven Form. Erst durch eine sog. Aktivierung erwerben sie die neue Eigenschaft, eine normale Zelle in eine Tumorzelle umzuwandeln. Die Aktivierung erfolgt durch unterschiedliche Mechanismen, z. B. durch Mutation oder durch Amplifikation. Ein bekanntes Beispiel ist das *Onkogen ras*, das Onkogen des menschlichen Blasenkarzinoms. Dieses kodiert für die Bildung eines ca. 150 Aminosäure langen Proteins, das bei der Aktivierung bestimmter Enzyme, die die Hormonwirkung steuern, beteiligt ist. In seiner normalen nicht onkogenen Form enthält es an der Position 12 der Polypeptidkette die Aminosäure Glycin, in seiner aktivierten Form die Aminosäure Valin. Dieser kleine Unterschied, der z. B. durch Strahlung induziert werden könnte, entscheidet hier zwischen normalem und „transformiertem“ Zustand. Ein Beispiel für Genamplifikation, d. h. Onkogenese durch eine erhöhte Kopienzahl eines Onkogens, ist das *Onkogen N-myc*. Seine verstärkte Expression, verursacht eben durch die von 2

auf 500–1000 erhöhte Kopienzahl, ist charakteristisch für späte Stadien des menschlichen Neuroblastoms. Hier wird also das Produkt des Onkogens nicht verändert, sondern nur in größerer Konzentration angeboten.

Es ließen sich noch viele andere Beispiele für die Aktivierung von Onkogenen diskutieren. Wichtig ist es, daß es die Gentechnologie zunächst erlaubt hat, diese Gene überhaupt zu identifizieren. In der Zukunft wird es dadurch möglich sein, auch die enzymatischen Eigenschaften ihrer Produkte zu verstehen und dadurch vielleicht einen Beitrag zum Krebsproblem zu leisten.

Auch in der Differenzierung, der Entwicklung eines Organismus, gibt es Beispiele für Hierarchien von Genen. Diese betreffen Gene, die die *entwicklungsbiologischen Wege* spezifizieren und steuern, die ein Organismus beim Übergang eines Embryos zum Erwachsenen hin zu durchlaufen hat. Die Taufliege *D.melanogaster* ist ein segmentierter Organismus, dessen insgesamt 11 Segmente, z. B. für die Entwicklung der Antennen, der Flügel oder der diversen Beine, verantwortlich sind. Mutation in wenigen einzelnen Genen können nun die Entwicklung eines gesamten Segments beeinflussen. Sie manifestieren sich durch die Ausbildung von Organismen, die zwei Paar statt ein Paar Flügel enthalten oder Beine statt Antennen am Kopf tragen. Für jedes der 11 Segmente scheint es ein einziges solches essentielles Gen zu geben, wobei diese in ihrer Struktur sehr unterschiedlich sind. Sie haben jedoch alle ein bestimmtes Stück DNA gemeinsam, daß nun auch in anderen Organismen, z. B. beim Menschen, gefunden wurde. Durch die Charakterisierung dieser Gene ist man also der biologischen Musterbildung auf der Spur und wird wohl in absehbarer Zeit auch wichtige Ereignisse in der Entwicklung von Säugern erkennen.

Strukturaufklärung von Genen

Ein wichtiges Problem in der Molekularbiologie ist nach wie vor die Frage nach der Struktur von Genen, insbesondere der *genetischen Struktur ganzer Organismen*. So sind von den 700 bekannten genetischen Defekten beim Menschen nur eine Handvoll wirklich auf der Ebene der Gene selbst charakterisiert, wie z. B. die sog. Thalassämien oder die Sichelzellanämie. Diese lassen sich heute entsprechend leicht diagnostizieren, indem man eine Probe des bekannten, intakten Gens mit dem erkrankten Gen vergleicht. Dies geschieht etwa durch die Methode der DNA/DNA-Hybridisierung, ein Verfahren, das die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Nukleinsäuremolekülen auswertet. In der doppelsträngigen, natürlichen DNA ist jeder einzelne Baustein einer Kette mit einem Baustein im anderen, komplementären Strang durch sog. Basenpaarung verbunden. Unterscheiden sich nun die beiden Stränge durch eine falsche nicht komplementäre Base, so ändert sich das Schmelzverhalten des DNA-Moleküls. In der pränatalen Diagnostik werden solche Verfahren heute sehr vorteilhaft angewendet, da sie äußerst weniger Moleküle bedürfen und so schon in einem frühen

Stadium der Schwangerschaft angewandt werden können.

Schwieriger ist es natürlich bei der Analyse der Mehrzahl der Defekte, bei denen die molekularen Ursachen nicht bekannt sind. Hier hilft im Prinzip natürlich die *Strukturaufklärung des gesamten Genoms* des fraglichen Organismus. Bei insgesamt 3×10^9 Bausteinen (Basenpaaren) beim Menschen ist dies jedoch ein schwieriges Unterfangen. Es wird wohl noch weitere 30–100 Jahre gehen, bis dies wirklich geschehen ist. Ein einfacherer Weg ist die Analyse sog. Polymorphismen. Polymorphe Gene sind Gene, die in unterschiedlichen Individuen einer Spezies, z. B. des Menschen, am gleichen chromosomalen Ort mit identischer Funktion aber leicht modifizierter Struktur vorkommen. Auch dem Laien sind diese Phänomene wohl bekannt, z. B. bei den Blutgruppen.

Die erwähnte, leicht veränderte Struktur drückt sich natürlich in unterschiedlichen DNA-Sequenzen aus und damit gelegentlich auch in unterschiedlichen Schnittmustern bei der Verdauung mit Restriktionsendonukleasen. Polymorphismen scheinen regelmäßig über das ganze Genom verteilt, kommen also nicht nur in den wenigen schon bekannten Fällen vor (Blutgruppen, Histokompatibilitätsantigenen). Man kann nun versuchen, die Vererbung eines der polymorphen Marker in einer Familie mit dem Auftreten eines genetischen Defekts zu korrelieren. Da nur sehr nahe beieinanderliegende Gene zusammen vererbt werden, kann man davon ausgehen, daß beim Auffinden einer Korrelation in einem Stammbaum der gesuchte Defekt in der Nachbarschaft des untersuchten polymorphen Markers liegen muß. Auf diese Weise ist kürzlich ein Nachweis für das Gen gefunden worden, dessen Defekt für das Auftreten von Veitstanz (Huntington's chorea) verantwortlich ist (vgl. Science 225, 1320 [1984]). Andere Analysen dieser Art werden folgen, so daß mit einer schnellen Aufklärung weiterer genetischer Defekte des Menschen zu rechnen ist.

Daß diese Technologie im Prinzip, wie jede andere Technologie, zum Nachteil des Menschen mißbraucht werden kann, liegt auf der Hand. Hier entsteht zweifellos ein Problem des Datenschutzes, der zu garantieren hat, daß Informationen dieser Art auf den Arzt und seinen Patienten beschränkt bleiben.

Synthetische Biologie

Die ersten kommerziellen Produkte der Gentechnologie sind hochwirksame Hormone, wie z. B. Insulin, die Interferone und die Lymphokine gewesen. Die zugehörigen Gene wurden aus entsprechenden menschlichen Quellen isoliert und in Bakterien, Hefen oder sogar Säugerzellen zur Expression gebracht. Heute lassen sich die Gene für solche Peptidhormone auch chemisch synthetisieren, wobei dieses Verfahren, solange die Aminosäuresequenz bekannt ist, oft schneller abläuft als die Isolierung aus den oft nur schwer zugänglichen, natürlichen Quellen. Überdies ist die Codonverwendung oft nicht optimal; be-

stimmte Codewörter werden von Bakterien, andere von Säugerzellen bevorzugt. Man kann daher dieselbe Information durch ganz unterschiedliche Nukleinsäuresequenzen darstellen, je nach dem Wirtsorganismus. Schließlich erlaubt die chemische Synthese auch *gezielte* Veränderungen in einer Sequenz; man kann auf diese Weise Hormone mit veränderten biologischen aber auch physikalischen Eigenschaften, z. B. erhöhter Stabilität, herzustellen versuchen.

Produkte von Genen sind nicht nur Peptidhormone, wie Insulin, sondern auch die Enzyme. Diese stellen die Katalysatoren einer lebenden Zelle dar und steuern die zahllosen chemischen Umwandlungen, die eine Zelle am Leben und Wachsen erhalten. Die Substrate der Enzyme sind niedermolekular, so daß die Enzyme das gesamte Spektrum der hochwirksamen Sekundärmetaboliten, wie Antibiotika, Alkaloide etc., erschließen.

Die *Biosynthese* dieser oft komplexen Stoffe erfordert viele enzymatische Schritte. Einer von diesen ist oft limitierend, so daß hier gentechnische Methoden zu beträchtlichen Ausbeutesteigerungen führen. Es lassen sich auch ganze Biosyntheseketten, z. B. für Antibiotika, von einem auf den anderen Organismus übertragen, z. B. innerhalb der wichtigen Spezies *Streptomyces*; auf diese Weise kann es dann auch zur Bildung ganz neuer Antibiotika kommen, indem im neuen Organismus nun eine neuartige Kombination von Enzymen zur Wirkung kommt. Natürlich können über chemische DNA-Synthesen auch Enzyme in ihrer Eigenschaft verändert werden. Diese neue Wissenschaft, das sog. Enzyme- oder Protein-Engineering, wird nicht nur zur Aufklärung von Enzymmechanismen, sondern auch zur *Synthese von Enzymen mit neuen katalytischen Eigenschaften* führen.

Erste Arbeiten hierzu sind im Gange. So hat eine englische Arbeitsgruppe durch eine gezielte Punktmutation die Bindungskonstanten eines bestimmten Enzyms für eines seiner Substrate, ATP, um den Faktor 100 senken können.

In der Anwendung braucht man nun $100 \times$ weniger dieser

kostbaren Verbindungen, eine kostensparende Entwicklung. Im Prinzip sollten sich Enzyme auch auf dem Reißbrett konstruieren lassen, um bestimmte, interessante Substrate zu erkennen und abbaufähig zu machen. Diese Arbeiten stecken jedoch erst in den Anfängen, da die Zusammenhänge zwischen der Primärstruktur und der räumlichen Struktur der Proteine kaum bekannt sind.

Anwendungen in der Virusforschung

Traditionelle Impfstoffe sind oft problematisch, da sie infektiöse Nukleinsäuren enthalten können. Ein bekanntes Beispiel sind die *Unfälle bei den Polioimpfungen* aus den spätern 50er Jahren und deren Verunreinigungen mit dem damals unbekanntem Tumovirus SV 40. Die neuen sog. Subunitvaccinen beruhen auf der Isolierung der Gene für die Hauptstrukturproteine der Viren, die dann in entsprechende Vektoren exprimiert und in reiner, nukleinsäurefreien Form isoliert werden können. Die erste Zulassung dieser Art ist seit Herbst 1984 für eine Hepatitis B-Vaccine gegeben; aussichtsreiche Anwendungen erkennt man für *Maul- und Klauenseuche* sowie für die klassische *Influenza*.

Es sieht heute so aus, als benötige man für eine solche sichere Vaccine nicht einmal das gesamte, oft recht große und labile Strukturprotein. Vielmehr scheint es ausreichend, nur die antigenen Determinanten der Proteine zu synthetisieren. Dies läuft dann auf eine Synthese von nur sehr kurzen Peptiden hinaus, die sogar rein chemisch hergestellt werden könnten. Dies erlaubte z. B. eine sehr schnelle Reaktion auf die Influenza-Pandemien, die gelegentlich mit neuen antigenen Determinanten und bislang oft schwerwiegenden Folgen um die Welt zieht.

Diese Übersicht über Anwendungen der Gentechnologie in der Grundlagenforschung ist nur fragmentarisch. Sie zeigt jedoch, welch große Fortschritte die neue Technik in den verschiedensten Themen aus der Biologie erlaubt hat. Dabei ist ganz klar festzuhalten, daß wir hier erst am Anfang stehen, auch was die Anwendung betrifft.

Ernst-L. Winnacker

Genetische Eingriffe und menschliche Personalität

Wenn die Wissenschaften uns die Methoden der Macht gelehrt haben, soll die Ethik uns zur Verantwortung der Macht bringen. Je mehr uns Wissenschaft und Technik instand setzen, zu erreichen, was wir wollen, um so hilfloser stehen wir vor der Frage: Was wir eigentlich wollen. Je mehr mögliche Zukünfte machbar werden, um so weniger scheinen Menschen sich auf eine gemeinsame, wünschbare Zukunft einigen zu können. „Weil aber aus einer von Werten abstrahierten, ‚wertfreien‘ Wissenschaft keine

Werte deduziert werden können, geraten die Werte, nach denen wissenschaftliche Ergebnisse verwertet werden, in die Beliebigkeit schon vorhandener sozialer, ökonomischer und politischer Interessen oder des persönlichen Geschmacks“ (Jürgen Moltmann). Solchen Tendenzen gegenüber sind wir herausgefordert, die neuen Möglichkeiten der Gentechnik an unserem christlichen Grundverständnis von der Würde des Menschen sowie an den Rechten und Pflichten des Menschen zu prüfen.