Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen

Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences

médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 22 (1966)

Artikel: Grundlagen der Ausbildung physiologischer und pathologischer

Enzymaktivitäten von Organen

Autor: Wallenfels, K.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307635

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.12.2025

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

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.

Grundlagen der Ausbildung physiologischer und pathologischer Enzymaktivitäten von Organen

K. Wallenfels

Es ist mir klar, daß mir mit diesem Thema die Aufgabe gestellt ist, einen Überblick über die molekularen Grundlagen der Differenzierung höherer Zellen zu geben. Wir wissen, daß dieses Gebiet noch weitgehend unbekannt ist, daß es aber als das wichtigste und interessanteste Forschungsgebiet für Biochemie und Molekularbiologie der Zukunft erscheint.

Um mir das Problem etwas zu erleichtern, möchte ich zwei Postulate an den Anfang stellen:

- 1. Zwei Zellen sind dann als gegeneinander differenziert zu betrachten, wenn sie trotz gleichem Genom unterschiedliche Proteingehalte aufweisen.
- 2. Diese unterschiedlichen Proteingehalte (Protein- oder Enzymmuster) sind in überwiegendem Maße die Folge einer differenzierten Bildungsgeschwindigkeit (nicht etwa eines differenzierten Abbaues)¹.

Die in diesen 30 Minuten zu beantwortende Frage heißt also: Wie erklärt man die differenzierte Geschwindigkeit der Proteinsynthese bei Zellen gleichen Genoms? Wenn man diese Frage beantworten will, muß man die Faktoren kennen, welche die Geschwindigkeit der Proteinsynthese steuern.

Dies ist ein fundamentales biologisches Problem, und viele Gründe und experimentelle Ergebnisse sprechen dafür, daß der Prozeß der Proteinsynthese in allen lebenden Zellen prinzipiell gleichartig abläuft. Oder mit dem Axiom von Monod ausgedrückt: «What is true for E. coli, is also true for elephants». Es ist wichtig, dies Axiom nicht umzukehren. Über die speziellen Probleme des Elefantenrüssels z. B. wird man durch Versuche mit E. coli nichts erfahren.

Die Proteinsynthese findet in den Ribosomen statt, cytoplasmatischen Partikeln speziellen Baus. Der Zusammenhang zwischen der Synthese von RNS verschiedenen Typs und Protein einerseits, der Struktur von DNS andererseits ist in Abb. 1 gezeigt.

¹ Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß über den regulierten Abbau von Proteinen ebenfalls die Menge eines Enzymproteins kontrolliert werden kann. Dieses Prinzip scheint bei einigen induzierbaren Systemen in tierischen Zellen verwirklicht zu sein 1], 2].

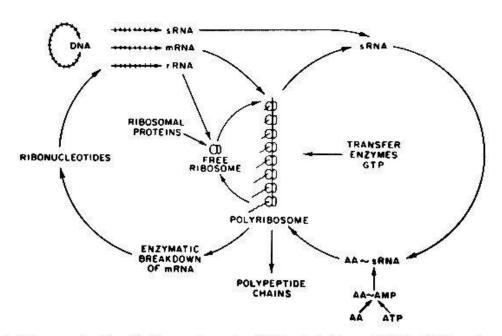


Abb. 1. Schema der Proteinbiosynthese in Abhängigkeit von DNS, RNS und verschiedenen enzymatischen Faktoren (nach J. D. Watson: Bull. Soc. Chim. biol. [Paris] 46 1399 (1964).

Mit der Proteinsynthese in Zusammenhang stehen also noch verschiedene andere Synthesen hochmolekularer Stoffe, die direkt an der Übermittlung der genetischen Botschaft vom Chromosom in die Ribosomen beteiligt sind, d. h. Messenger-RNS, Transfer-RNS und Ribosomen-RNS. Es gehört dazu auch das Protein der synthetisierenden Maschine, wie vor allem die spezifischen aminosäureaktivierenden Enzyme und die verschiedenen Ribosomenproteine, von denen es etwa 30 verschiedene gibt.

Alle diese Faktoren bestimmen die Geschwindigkeit der Proteinsynthese. Jeder Fehler in der Apparatur hat geringere Funktionsfähigkeit zur Folge. Setzt man aber einmal einen gleichartig und normal funktionierenden Syntheseapparat voraus, so gehört es zweifellos zu seiner normalen Funktion, für verschiedene Proteine verschiedene Geschwindigkeiten der Synthese zu entwickeln. Dies erfordert die Ökonomie der Zelle und ist von hohem selektivem Wert im Sinne Darwins. Nicht nur, daß je nach Nährsubstrat und sonstigen Wachstumsbedingungen verschiedene Mengen an einzelnen Enzymen gebraucht werden: Es laufen auch einzelne Stoffwechselreaktionen in verschiedener Molarität ab. Zum Beispiel werden, um eine einzige Peptidbindung an definierter Stelle zu knüpfen, eine sehr große Zahl von ATP-Äquivalenten benötigt, und entsprechend viele müssen synthetisiert werden. Weiterhin handelt es sich bei den verschiedenen, durch Proteine katalysierten Reaktionen oft um grundsätzlich verschiedene Katalyseprobleme, so daß die absolute Aktivität der Katalysatoren – die Wechselzahl – sich von Protein zu Protein um mehrere Größenordnungen unterscheiden kann. So unterscheiden sich zwei aus E. coli in reiner oder nahezu reiner Form gewonnene Enzyme, welche, wie wir glauben, beide an der Verwertung der Galaktose beteiligt sind – die β -Galaktosidase und die Mutarotase – in der

Wechselzahl etwa um den Faktor 1000, wenn man Lactose bzw. Galaktose als Substrate annimmt. Das gesunde – ich möchte sagen «erbgesunde» – Bakterium trägt diesem physiologischen Bedarf offenbar weitgehend Rechnung. Das ungefähr 1000mal aktivere Enzym wird in ungefähr 1000mal kleinerer Menge produziert. Auch in den Zellen höherer Organismen hat man eine weitgehende Anpassung der Synthesegeschwindigkeit einzelner Proteine an den Bedarf anzunehmen. Dies spiegelt sich dann in dem Phänomen, welches das Problem meines Vortrages bildet. Der chemische Ablauf dieser Synthese ist in Abb. 2 schematisch wiedergegeben. Sie erkennen hier besonders auch den Fluß der Information von dem codierenden Triplett der DNS im Chromosom mit 2maliger Benützung des Komplementaritätsprinzips in die Aminosäure in Peptidbindung im Protein. Von diesem Prozeß sind nun viele Einzelheiten bekannt; wir wissen z. B., daß Synthese und Ablesung des Messengers vom 5-OH-Ende her erfolgt und die Synthese der Polypeptidkette mit dem Aminoende beginnt [3-6].

Auf welche Weise gelingt es nun, die Geschwindigkeit der Proteinsynthese so weitgehend zu variieren. daß so unterschiedliche Mengen von einzelnen

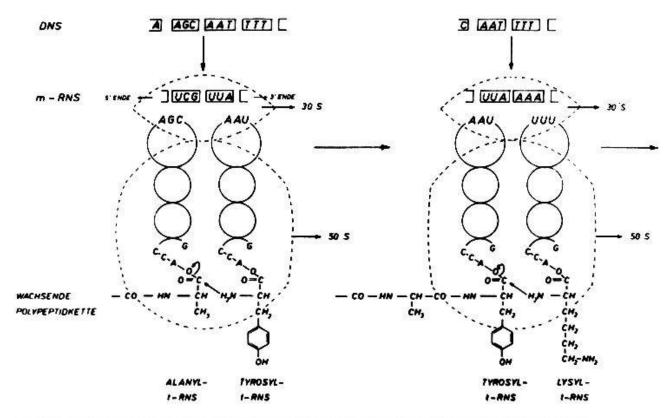


Abb. 2. Schematische Darstellung des schrittweisen Wachstums einer Polypeptidkette. Die wachsende Polypeptidkette ist über die terminale Transfer-RNS (hier Alanyl-tRNS) an einer Bindungsstelle des Ribosoms gebunden. An einer zweiten Bindungsstelle ist die folgende aktivierte Aminosäure (hier Tyrosyl-tRNS) fixiert. Die neue Poptidbindung wird zwischen der Carboxylgruppe des Alanins und der Aminogruppe des Tyrosins geknüpft. Die um eine Aminosäure verlängerte Polypeptidkette, die nun über die TyrosyltRNS die Bindungsstelle der aktivierten Aminosäure besetzt, wird anschließend wieder auf die erste Bindungsstelle übertragen. Damit kann der Synthesezyklus von neuem ablaufen (hier mit Lysin als nachfolgender Aminosäure).

Tabelle 1

Regulationsmöglichkeiten für die Proteinbiosynthese. Die Geschwindigkeit der Proteinsynthese kann auf dem Niveau der DNS, der Messenger-RNS, Transfer-RNS und der Ribosomen kontrolliert werden

$\frac{d [E]}{dt}$ = f ([spez. DNS], [mRNS]	, [tRNS], [rRNS])		
1. $\frac{d [E]}{dt} = f_1 \text{ ([spez. DNS])}$	Effekt (Vermehrungs- faktor)	Beispiel	
Bakterien:			
Transduktion durch Phagen und Episomen, Konjugation	Nachgewiesen 3 evtl. bis 10	E. coli F Lac [7]	
Höhere Zellen:	Dim DNO		
Differenzielle Reduplikation von Chromomeren	Differenzierter DNS- Gehalt der Chromo- meren im Chromosom (Faktor unbekannt)		
2. $\frac{d[E]}{dt} = f_2 ([mRNS])$			
Bakterien:			
Induktion und Repression	1000	E. coli-Lac-System [14]	
Höhere Zellen:			
Induktion und Repression	20	Tryptophanpyrrolase [21]	
3. $\frac{d[E]}{dt} = f_3 ([tRNS])$			
Steuerung durch die Degene-			
ration des genetischen Codes			
Bakterien:			
Modulation, Polarisation	25	E. coli-Lac-System [19, 20]	
Höhere Zellen:			
?	?		
4. $\frac{d[E]}{dt} = f_4 ([rRNS])$			
Steuerung durch die Menge			
und Struktur der Ribosomen			
Bakterien:			
Übersetzung	0-1	Seeigel [22]	
Höhere Zellen:	FQ0 15		
Übersetzung	0-1	Hela-Zellen [23]	

Proteinen, wie man sie in Zellen verschiedener Entwicklungsstufen und Differenzierungsgrade antrifft, erklärbar sind?

Die Variation der Syntheserate betrifft offenbar so viele Niveaus, wie sie der geschilderte Übertragungsmechanismus der Strukturinformation aufweist. Ich habe versucht, die Vielfalt der publizierten Ergebnisse entsprechend zu ordnen. In Tabelle 1 ist gezeigt, daß bereits auf dem Niveau der genetischen Information – dem der DNS des Chromosoms – eine Regulation möglich ist, indem eine Vervielfachung der Gendosis eine entsprechende

Zunahme der Enzymsyntheserate zur Folge hat. Wird einer Lac+F--Zelle von E. coli mit Hilfe des episomalen F-Faktors eine zweite extrachromosomale genetische Lac-Ausrüstung einverleibt, so daß eine Zelle der genetischen Charakteristik Lac+/F Lac+ entsteht, so werden Zellen gebildet, welche etwas mehr als doppelt soviel β -Galaktosidase produzieren [7]. Andererseits tritt durch Verluste einer episomalen Kopie des Lac-Abschnitts wieder die entsprechende Reduktion der Synthese ein. Man hat weiterhin Mutanten erhalten können, bei denen eine Multiplikation des Lac-Abschnittes auf dem Chromosom eingetreten ist. Bei diesen Stämmen stellt die β -Galaktosidase etwa 25% des gesamten synthetisierten Proteins dar [8, 9].

Vielleicht hat man es bei diesen β -Galaktosidase-Superstämmen, welche nur unter abnormen Kulturbedingungen rein zu erhalten sind, mit mikrobiellen Modellen für differenzierte Zellen zu tun, welche bestimmte einzelne Proteine in weit überwiegendem Maße produzieren. Man erkennt jedenfalls, daß die gleiche genetische Information Lac⁺ in mehreren operativen Einheiten im Chromosom bzw. Episom vorliegen kann, welche nebeneinander replizierbar und transskribierbar sind und dann auch in entsprechendem Maße in die Proteinstruktur übersetzt werden.

Fragt man nun, in welcher Weise bei der Differenzierung höherer Organismen von diesem Multiplikationsprinzip der genetischen Information Gebrauch gemacht werden mag, so drängt es sich auf, vor allem an die differenzierte Aktivität verschiedener Chromomeren in den Chromosomen zu denken. Im DNS-Gehalt entsprechen einzelne Chromomeren etwa dem ganzen Bakterienchromosom, Auch sind, wie von Beerman kürzlich betont wurde, nicht die Chromosomen, sondern Chromomeren in den Chromosomen die operativen Einheiten der Replikation und auch der Transkription [10]; sie entsprechen also in dieser Hinsicht Bakterienchromosomen und -episomen. Auf dem Niveau der Transkription in m-RNS finden wir bei den Bakterien jedoch die stärkste Variationsmöglichkeit. Diese beruht auf einer Gliederung des bakteriellen Chromosoms in untergeordnete operative Transskriptionseinheiten, deren Funktionsrate in hohem Maße differenziert und regulierbar erscheint [7]. In diesen Transkriptionseinheiten – Operons genannt - vollzieht sich - mit ebensovielen autonomen Startpunkten - die differenzielle Messenger-RNS-Synthese. Auf dieser Variabilität der RNS-Synthese in den einzelnen operativen Abschnitten des Bakterienchromosoms beruht die Anpassungsfähigkeit dieser Systeme an die Verhältnisse des Nährmediums. Zwei genau gegensätzlich wirksame Faktoren werden für die Anpassung verantwortlich gemacht: Substrate, wie z. B. Lactose für E. coli haben, wenn man sie als Nährstoff anbietet, zur Folge, daß die β -Galaktosidaseaktivität der E. coli-Zellen ansteigt; sie werden daher als Induktoren bezeichnet, und Enzyme, deren Syntheseapparat in dieser Weise anspricht, nennt man induzierbar. Diese induzierbaren Enzyme sind solche, die in größerer Menge nur dann sinnvoll erscheinen, wenn Substrat da ist. Entsprechend ist Substrat induzierend wirksam. Beim Fehlen des Substrats hört die Synthese auf.

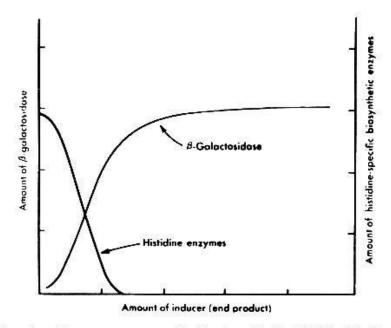


Abb. 3. Variation der Enzymmenge pro Bakterienzelle in Abhängigkeit von der Menge eines Induktors (β-Galaktosidase) oder eines Corepressors (Histidinenzyme) im Kulturmedium (nach J. D. Watson: Molecular biology of the gene. W. A. Benjamin, New York/Amsterdam 1965).

Andererseits gibt es Enzyme, welche der Synthese von wichtigen Bausteinen oder Coenzymen dienen. Diese haben natürlich nur Bedeutung, wenn diese Stoffe nicht da sind; sie werden entsprechend auch nur dann in nennenswerter Menge synthetisiert, und die Synthese hört auf, wenn man die betreffenden Stoffe dem Nährmedium zufügt. Derartige Enzyme nennt man reprimierbar [11]. Bei langen Sequenzen von Synthesen wirkt oft nur das Endprodukt in dieser Weise regulierend auf die Synthese des ersten Enzyms der Sequenz. Diese Verhältnisse sind in Abb. 3 für die Induktion der β -Galaktosidase und die Repression der Histidinenzyme dargestellt.

Die Variation der Enzymmenge als Antwort auf die An- oder Abwesenheit definierter Substanzen im Nährmedium entspricht einer Variation in der Geschwindigkeit der Enzymsynthese, und diese steht wiederum – wenigstens zum Teil – in Beziehung zur Menge an RNS-Molekülen, welche für die Übersetzung bereitgestellt werden. Wiederum wurde der Beweis hierfür am Lac-System der Colibakterien erbracht [12, 13] (Abb. 4).

Jacob und Monop haben auf dieser Basis ein Modell entwickelt, das erlaubt, die beiden gegensätzlichen Typen der regulierbaren Enzymsynthese – die induzierbaren und reprimierbaren Systeme – einheitlich zu verstehen [14]. Es wird postuliert, daß die operative Einheit der Transskription, das Operon in jedem Fall reprimierbar ist, und zwar durch das Produkt eines definierten Abschnitts im Operon, den Repressor. Der Repressor hat noch nie isoliert werden können. Man hat aber eine ziemlich genaue «Personenbeschreibung», so daß es möglich ist, mit etwas Phantasie sein Bild zu zeichnen [15]. Vielleicht wird es mit Hilfe dieses aus vielen Einzelheiten zusammengesetzten Bildes gelingen, des Repressors wirklich habhaft zu werden.

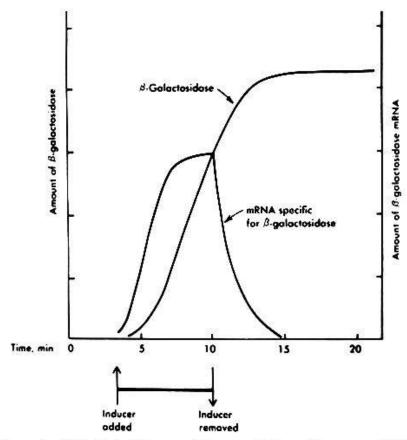


Abb. 4. Synthese der β -Galaktosidase und der zugehörigen Messenger-RNS nach Zugabe und Entfernung eines Induktors (nach J. D. Watson: Molecular biology of the gene. W. A. Benjamin, New York/Amsterdam 1965).

Man darf gespannt sein, wie das heute gezeichnete Bild dann mit der Wirklichkeit übereinstimmt.

Die beiden scheinbar grundsätzlich verschieden funktionierenden Synthesesysteme unterscheiden sich nach dieser Vorstellung nur durch den funktionellen Zustand der in beiden wirksamen Repressoren. Im induzierbaren System ist der Repressor in Abwesenheit des Induktors wirksam, d. h. die Transkription ist stillgelegt; im reprimierbaren System ist der Repressor in Abwesenheit des zu synthetisierenden Endprodukts – des sogenannten Corepressors – unwirksam: Die Transkription läuft; in Anwesenheit des Endprodukts ist der Repressor aber wirksam: Die m-RNS-Synthese ist stillgelegt. Das Modell eines induzierbaren Systems läßt sich danach am Beispiel des Lac-Systems in E. coli wie in Abb. 5 wiedergegeben darstellen.

Das Schema enthält noch eine weitere wichtige Feststellung: Der gleiche Repressor kontrolliert die Synthese von mehr als einem Protein. Dies gibt zugleich die Basis für die Definition des Operons: Es ist die operative Einheit der kontrollierten Transkription, d. h. es umfaßt die Gene, welche unter Kontrolle eines Repressors stehen, die Strukturgene sowie dasjenige, welches für den Repressor codiert, das Regulatorgen.

Der Repressor übt seine Wirkung in einem relativ kleinen Bereich des Chromosoms aus, der unmittelbar vor dem Beginn des ersten Strukturgens steht. Dieses wird Operatorgen genannt. Die Kontrollierbarkeit kann durch

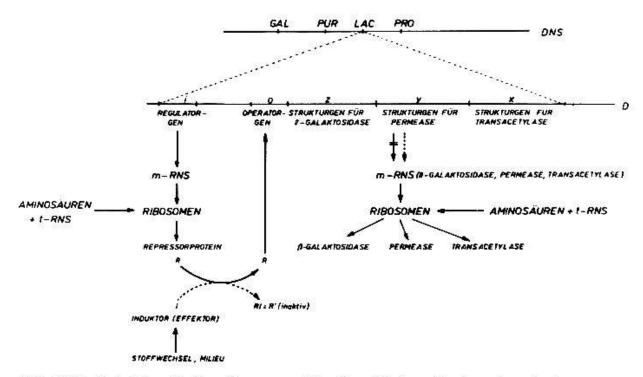


Abb. 5. Die Induktion des Lac-Systems. – Die obere Linie stellt einen Ausschnitt aus der Genkarte von E. coli dar. In der Nachbarschaft der Lac-Region befinden sich die Gene der Enzymsysteme, die für die Verwertung der Galaktose (Gal) und für die Biosynthese der Purinbasen (Pur) und der Aminosäure Prolin (Pro) verantwortlich sind. Die untere Linie zeigt eine «Vergrößerung» der Lac-Region mit den Strukturgenen, dem Operator und dem Regulatorgen. Die Strukturgene bilden zusammen mit dem Operator das Operon. Das Regulatorgen determiniert die Struktur des Repressors, der wahrscheinlich ein Protein ist. Der Repressor blockiert durch Einwirkung auf den Operator die Transkription der Strukturgene. Damit ist die Enzymsynthese unterbunden. Die Wechselwirkung des Repressors mit dem Operator wird aufgehoben, wenn dem Kulturmedium ein Induktor zugesetzt wird. Die Bildung der Messenger-RNS ist dann freigegeben und die Synthese der Enzyme an den Ribosomen kann ablaufen.

Mutation entweder im i-Gen oder im o-Gen verlorengehen. Man erhält in jedem Fall sogenannte konstitutive Mutanten, die unabhängig von der Anwesenheit von Induktor oder Corepressor hohe Transkriptionsraten aufweisen.

An dieser Stelle ist es wichtig, ein Wort über die Spezifität der Induktorwirkung zu sagen. Biologisch sinnvoll erscheint, daß das Substrat, zu dessen Verwertung das Operon dient, allein induktionswirksam ist. Dies ist jedoch nicht so. Offenbar hat die Zelle in der Aufteilung des Prozesses der Verwertung des Substrates in Einzelreaktionen – Induktion, Permeation (Acetylierung). Hydrolyse – es vermocht, auf weniger kostspielige Weise nahezu absolute Spezifität der Verwertung zu erreichen, ohne daß einer der Teilschritte hohe Spezifität aufzuweisen braucht. Dies nenne ich das Prinzip der Systemspezifität (Tab. 2).

Welches der wirkliche chemische Mechanismus der Induktion ist, ist bis heute noch unklar. Untersuchungen der letzten Zeit haben gezeigt, daß eine «basic level»-Aktivität an β -Galaktosidase offenbar dafür entscheidend ist,

Tabelle 2 Substrat- und Induktoreigenschaften einiger β -Galaktoside für die Enzyme des Lac-Systems (Systemspezifität)

Galaktosid	meation acetylie-			Induktion		
~		β-Galakt.	Perm.	Acetyl.		
Isopropyl-β-D- thiogalaktosid	0	+	100	100	100	100
Lactose	30	+ + +	2	17		17
Phenyl-β-D- galaktosid	100	+	102	15		11
o-Nitrophenyl- ß-D-galaktosid	2000	1 <u>124</u>	<u> </u>	<u> </u>		
Galaktosyl- glycerin	37	+	<u>===</u> 8	100 (3×10 ⁻⁷ M)		100

daß Lactose induzierend wirkt. Wir wissen, daß die Spezifität der Induktion des Lac-Operons einen fundamentalen Unterschied zwischen Lactose und Allolactose aufzeigt [16].

Lactose ist nur in z⁺-Stämmen induzierend wirksam, während Allolactose, die durch eine enzymatische Transferreaktion aus Lactose entsteht, für z⁺- und z⁻-Stämme Induktor ist (Tab. 3). Beim natürlichen Substrat, der Lactose, wird offenbar die geringe Ausgangsaktivität der β -Galaktosidase im nicht-induzierten Zustand benützt, um den eigentlichen Induktor in der

Tabelle 3

Induktion des Lac-Operons bei galaktosidasepositiven und -negativen Stämmen. Die Induktionswirkung der geprüften β -Galaktoside wird bei Stamm ML 30 (i $^+z^+y^+$) durch die Zunahme der Galaktosidaseaktivität, bei Stamm W 2244 (i $^+z^-y^+$) durch die Zunahme der Permeaseaktivität getestet. Die durch Galaktosylglycerin induzierte Aktivität der Permease wird dabei gleich 100 gesetzt.

Induktor (10-3M)	Stamm ML 30 i ⁺ z ⁺ y ⁺	Stamm W 2244 i+z-y+	
Kein Induktor	10	10	
Laktose	2900	10	
Allolaktose	3000	93	
1→2 Galaktosylglucose	7000	11	
1→3 Galaktosylghicose	3000	20	
Laktotriose	6900	15	
Phenyläthylgalaktosid	4000	15	
Galaktosylglycerin 3 · 10 ⁻⁷ M · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	sehr gut	100	

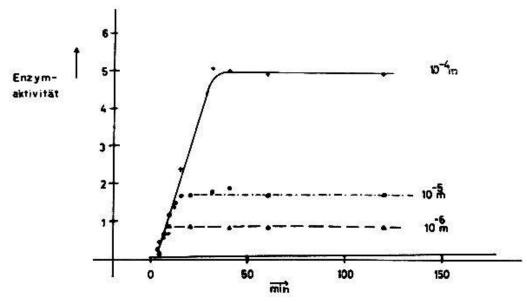


Abb. 6. Abhängigkeit der Enzymkonzentration an β -Galaktosidase in E. coli K12/3000 von der Zeit nach Zugabe von Galaktosylglycerin in verschiedenen Konzentrationen.

Zelle selbst herzustellen. Dieser könnte Allolactose oder ein anderes Transferprodukt sein. Jedenfalls scheint die «basic level»-Aktivität der β -Galaktosidasefür die Induktionswirkung einiger spaltbarer Induktoren notwendig zu sein.

Andererseits sorgt eine hohe induzierte Aktivität dafür, daß nach Hydrolyse des Induktors die spezifische Proteinsynthese wieder zum Stillstand kommt. Hierin unterscheiden sich die spaltbaren Induktoren von den sogenannten «inducteurs gratuits», zu denen die gut induzierenden Thiogalaktoside zählen, welche keine Substrate der β -Galaktosidase sind.

Von allen an Bakterien ausgeführten Modellreaktionen zum Problem der Differenzierung höherer Organismen erscheint mir das Induktionsexperiment nach Cohn-Monod die ergiebigste [17]. Dies gilt besonders für die Form, in der wir das Experiment nun ausführen. Wir verwenden einen Wildstamm von E. coli K₁₂ sowie einen hochaktiven Induktor, der gleichzeitig ein gutes Substrat für β -Galaktosidase ist, insgesamt also Bedingungen, welche als die natürlichen betrachtet werden können. Das Induktionsexperiment nimmt dann bei verschiedenen Induktorkonzentrationen den in Abb. 6 dargestellten Verlauf. Je nach Konzentration bricht die Induktion früher oder später, d. h. auf einem niederen oder höheren Niveau der β -Galaktosidaseaktivität sehr plötzlich ab. Einer gewissen Konzentration an Induktor entspricht eine bestimmte, gut reproduzierbare Antwort. Diese Antworten in Gestalt von gesteigerter Proteinsynthese sind additiv (Abb. 7). Wir haben das Induktionsexperiment auch mit radioaktiv indizierten Induktoren vorgenommen: Galaktosyl-glycerin-14C, 4-(Galaktosyl-1-14C)-D-glukose, 6-(Galaktosyl-1-14C)-D-glukose. Dadurch ist es möglich, festzustellen, in welchem Maße der Induktor gespalten wird, während die enzymatische Aktivität zunimmt, und bei welcher Induktorkonzentration der Abbruch der induzierten Enzymsynthese erfolgt. Die bisher ausgewerteten Versuche lassen noch keine endgültige Stellungnahme zu. In den meisten Experimenten, die ausgeführt wurden

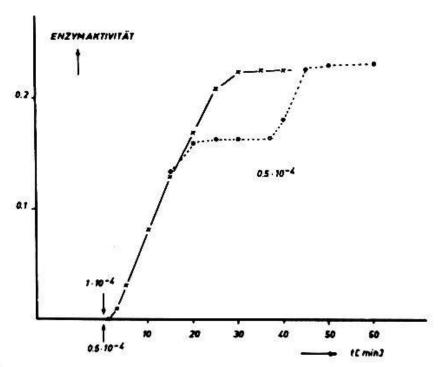


Abb. 7. Änderung der Enzymkonzentration der β -Galaktosidase in E. coli K12/3000 mit der Zeit nach zweimaliger Zugabe von $5 \cdot 10^{-5}$ M Galaktosylglycerin (o·····o····o). Daneben Verlauf der Enzymsynthese bei Zugabe von $1 \cdot 10^{-4}$ M derselben Verbindung (+--+-+).

[18], finden wir jedoch im Zeitpunkt des plötzlichen Aufhörens der induzierten Synthese (s. Abb. 6) wesentlich höhere Induktorkonzentrationen, als zur Induktion im nicht-induzierten Zustand notwendig sind. Worauf dies beruht, läßt sich noch nicht sagen. Es ist möglich, daß der Induktor als Folge der Induktion ganz oder teilweise in einen Hemmstoff derselben umgewandelt wird, es ist aber auch denkbar, daß mit zunehmendem innerem β -Galaktosidase-Niveau steigende äußere Induktorkonzentrationen notwendig sind, um die induzierte Synthese aufrechtzuerhalten. Induzierend wirkendes Substrat und induziertes Enzym scheinen jedenfalls durch einen Regelkreis miteinander verbunden zu sein.

Die Bakterien stellen also je nach Konzentration des Induktors im äußeren Medium die Synthese des Enzyms im Inneren der Zellen früher oder später ein. Offenbar dann, wenn Permease und Galaktosidase durch die Induktion ein Aktivitätsniveau erreicht haben, welches die Zelle mit genügend Nährstoff versorgt, aber auch nicht mehr davon hydrolysiert wird, als es im Stoffwechsel sinnvoll ist.

Wenn auch Repression und Derepression alle Proteine betreffen, welche in einem Operon codiert werden, so ist doch die Syntheserate der verschiedenen Proteine im Operon verschieden. Die β -Galaktosidase, deren Information als erste abgelesen wird, wird in etwa 4- bis 5facher normaler Menge hergestellt wie die Transacetylase, die als letzte an die Reihe kommt [19]. Ähnliche Beobachtungen wurden für die Enzyme des His-Operons sowie für die verschiedenen Proteine von Viren gemacht. Wenn wir oben festgestellt haben, daß sich die einzelnen Operons – die operativen Einheiten der Ablesung –

bis zu 1000fach in ihrer m-RNS-Syntheserate unterscheiden können, so stellen wir hier noch eine nächste Stufe der Differenzierung – eine polare Differenzierung innerhalb der einzelnen Operons – fest [20]. Überblickt man die verschiedenen Stufen der Differenzierungsmöglichkeiten sowie das Ausmaß der Variabilität auf jedem Niveau, so ergibt sich eine erhebliche Breite: Unterschiede von 1:100 000 und mehr erscheinen durchaus möglich.

Wenn man nun fragt, in welchem Maße bei höheren Organismen von diesen bei Bakterien erfahrenen Möglichkeiten Gebrauch gemacht wird, so heißt dies: Welche dieser Differenzierungsmöglichkeiten der Enzymsyn these wurde bei der Evolution ausgebaut und charakterisieren dann das regulierende System der höheren Zellen? Um diese Frage beantworten zu können, sind die einzelnen Mechanismen noch zu oberflächlich bekannt. Ich glaube, daß die genaue Analyse des Induktionsphänomens die besten Chancen hat, mehr Licht in dieses Dunkel zu bringen.

Zusammenfassung

In jeder lebenden Zelle wird unter allen Bedingungen jeweils nur ein größerer oder kleinerer Bruchteil der genetischen Potenz als Synthese verschiedener Proteine vollzogen. Die verschiedene Vollzugsrate ist einerseits bei verschiedenen Wachstumsstadien und Entwicklungsstufen konstant, andererseits kann sie je nach chemischen Außenbedingungen und innerem Entwicklungszustand variieren. Die Variation der Enzymmuster in sich entwickelnden oder pathologisch veränderten Zellen höherer Organismen kann teilweise auf der Basis der molekularen Deutung der Regulation der spezifischen Proteinsynthese bei Mikroorganismen verstanden werden. Sie wird für den Fall der Induktion des Lac-Operons bei E. coli erläutert. Zum anderen – vielleicht größeren – Teil muß die – verglichen mit der Potenz – sehr geringe und variable Verwirklichungsrate der Proteinsynthese höherer Organismen in anderer Weise gedeutet werden. Es wird versucht auf der Grundlage der im Bereich des Lebendigen offenbar universellen chemischen Mechanismen der gesteuerten Proteinsynthese, Ansatzprodukte für die Regelung zu finden, die der Zelldifferenzierung und Formbildung zugrunde liegt.

Résumé

Quelles que soient les conditions ambiantes, dans chaque cellule vivante ce n'est qu'une portion plus ou moins grande de la puissance génétique qui est engagée dans la synthèse des diverses protéines. Ces fractions actives sont constantes dans les différentes phases d'accroissement et de développement, elles peuvent toutefois varier selon les conditions chimiques extérieures et le degré de développement interne. Ces variations du tableau enzymatique des cellules en voie de développement ou altérées par des modifications pathologiques d'organisme à degré de développement élevé, peuvent trouver une explication partielle par l'étude de la régulation de la

synthèse des protéines spécifiques chez les microorganismes. Par exemple l'induction du lac-opéron chez l'Escherichia coli. D'autre part, on doit chercher une autre explication pour la fraction petite et variable de la synthèse des protéines dans les organismes supérieurs en regard des possibilités cellulaires. En se basant sur les mécanismes chimiques apparemment universels de la synthèse dirigée des protéines, l'on peut essayer de trouver des règles qui président à la différenciation cellulaire et à la création des formes.

Riassunto

In tutte le cellule viventi ed in qualsiasi condizione si forma sempre soltanto una frazione più o meno grande della potenza genetica quale sintesi di diverse proteine. La quantità formata rimane constante nei differenti stadi della crescita e dello sviluppo, d'altra parte però può anche variare a seconda delle condizioni chimiche esterne e dello stato di sviluppo interno. La variazione dei campioni enzimatici nelle cellule in via di sviluppo o nelle cellule patologiche degli organismi superiori può essere compresa in parte sulla base dell'interpretazione molecolare della regolazione riguardante la sintesi specifica delle proteine nei microorganismi. Essa viene spiegata nel caso d'induzione del cosidetto «Lac-Operons» nell'escherichia coli. Nel resto dei casi-forse il più grande- il tempo di realizzazione nella sintesi delle proteine degli organi superiori, molto ridotto e variabile in confronto con quello della potenza, deve essere interpretato differentemente. Sulla base dei meccanismi chimici della sintesi proteinica guidata, che per gli esseri viventi sembra di natura universale, si cercano di trovare prodotti complementari per la sistemazione che è alla base della differenziazione cellulare e della creazione delle forme.

Summary

In every living cell, under all conditions, it is always only a greater or smaller part of the genetic potential which makes the synthesis of different proteins. The different rates of synthesis are on the one side constant at different stages of growth and development, on the other side it can vary according to chemical external conditions and internal developmental states. The variation of enzyme sample in the developing or pathologically changed cells of higher organisms may be partly understood on the basis of molecular interpretation of the regulation of specific protein syntheses in micro-organisms. This is discussed for the case of induction of Lac-Operon in E. coli. To the other - perhaps greater - part, the very slight and variable actual rate of protein synthesis—in comparison with the potential—of higher organisms must be interpreted in another way. An attempt is made on the basis of the chemical mechanism, apparently universally valid for all living matter, of organised protein synthesis, to find the point of action of the rule governing the mechanism of cell differentiation and formation of structure.

- 1. SCHIMKE R. T., SWEENEY E. W. und BERLIN C. M.: An analysis of the kinetics of rat liver tryptophan pyrrolase induction: the significance of both enzyme synthesis and degradation. Biochem. biophys. Res. Commun. 15 214 (1964).
- 2. Schimke R. T.: The importance of both synthesis and degradation in the control of arginase in rat liver. J. biol. Chem. 239 3808 (1964).
- MAITRA U. und HURWITZ J.: The role of DNA in RNA synthesis: IV Nucleoside triphosphate termini in RNA polymerase products. Proc. nat. Acad. Sci. (Wesh.) 54, 815 (1965).
- 4. Bremer H., Konrad M. W., Gaines K. und Stent G. S.: Direction of chain growth in enzymic RNA synthesis.
- 5. THACH R. E., CECERE M. A., SUNDARARAJAN T. A. und DOTY P.: The polarity of messenger translation in protein synthesis. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 54, 1167 (1965).
- Salas M., Smith M. A., Stanley W. M., Wahba A. J. und Ochoa S.: Direction of reading of the genetic message. J. Biol. Chem. 240, 3988 (1965).
- Jacob F., Perrin D., Sanchez C. und Monod J.: L'opéron, groupe de gènes à expression coordonnée par un opérateur. C. R. Acad. Sci. (Paris) 250, 1727 (1960).
- 8. Novick A. und Horiuchi T.: Hyperproduction of β -galactosidase by Escherichia coli. Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol. 26, 239 (1961).
- Horiuchi T., Horiuchi S. und Novick A.: The genetic basis of hypersynthesis of β-galactosidase. Genetics 48, 157 (1963).
- Beermann W.: Operative Gliederung der Chromosomen. Naturwissenschaften 52, 365 (1965).
- Vogel H. J.: Repression and induction as control mechanisms of enzyme biosynthesis: the adaptive formation of acetylornithinase, in: The chemical basis of heredity, Herausgeber Mc Elroy W. D. und Glass B. John Hopkins Press, Baltimore 1957.
- HAYASHI M., SPIEGELMAN S., FRANKLIN N. und LURIA S. E.: Separation of the RNA message transcribed in response to a specific inducer. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 49, 729 (1963).
- 13. Guttman B. S. und Novick A.: A messenger RNA for β -galactosidase in Escherichia coli. Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol. 28, 373 (1963).
- JACOB F. und MONOD J.: Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. J. molec. Biol. 3, 318 (1961).
- JACOB F. und MONOD J.: Mécanismes biochimiques et génétiques de la régulation dans la cellule bactérienne. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 46, 1499 (1964).
- 16. MÜLLER-HILL B., RICKENBERG H. V. und WALLENFELS K.: Specificity of induction of enzymes of the Lac operon in Escherichia coli. J. molec. Biol. 10, 303 (1964).
- 17. Monod J. und Cohn M.: La biosynthèse induite des enzymes (adaption enzymatique). Advanc. Enzymol. 13, 67 (1952).
- 18. Wallenfels K. und Boos F.: unveröffentlichte Versuche.
- Zabin I.: Proteins of the lactose system. Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol. 28, 431 (1963).
- AMES B. und HARTMAN P. E.: The histidine operon. Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol. 28 349 (1963).
- 21. Feigelson P. und Greengard O.: Immunochemical evidence for increased titers of liver tryptophan pyrrolase during substrats and hormonal enzyme induction. J. biol. Chem. 237, 3714 (1962).
- Monroy A., Maggio R. und Rinaldi M.: Experimentally induced activation of the ribosomes of the unfertilized sea urchin egg. Proc. nat. Acad. Sci. (Wesh.) 54, 107 (1965).
- Salb J. M. und Marcus P. I.: Translational inhibition in mitotic cells. Proc. nat. Acad. Sci. (Wesh.) 54, 1353 (1965).
- Adresse des Autors: Prof. Dr. K. Wallenfels, Chemisches Laboratorium der Universität, Albertstraße 21, D-78 Freiburg i. Br.