

Viren – unsere Helfer

Obwohl ich selbst kein Mediziner bin, habe ich als Biochemiker und Molekularbiologe mein ganzes Arbeitsleben lang mit Viren gearbeitet. Auf den ersten Blick klingt das merkwürdig. Denn wie können Viren hilfreich sein, wenn sie uns derart viele Probleme machen wie Pandemien, Epidemien, Krebserkrankungen? Was bleibt da noch Gutes übrig? Eine ganze Menge, wenn man sich überlegt, wo überall und wie sie der biologischen Grundlagenforschung als Hilfsmittel und Modellsysteme gedient haben.

Meine wissenschaftliche Einführung in die Welt der Viren hat über einige Umwege geführt. Angefangen hat alles mit meiner Doktorarbeit am Institut für organische Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich bei Albert Eschenmoser. Zürich war damals das Mekka der Forschung an Naturstoffen wie Cortison, Geschlechtshormonen, diversen Riechstoffen und Vitaminen. Die Synthese des Vitamins B₁₂, des kompliziertesten aller Vitamine, war das vielleicht ehrgeizigste Projekt der synthetischen organischen Chemie in den Jahren ab 1960. Ich war einer von an die 100 Doktoranden und Postdoktoranden, denen es unter Leitung von Albert Eschenmoser gelang, das Vorhaben nach gut zehn Jahren zu einem guten Ende zu bringen.

Das endgültige Ziel war allerdings erst 1972 erreicht, da war ich schon ein paar Jahre in Berkeley. Ich fuhr wie viele von uns, die über die Jahre daran gearbeitet hatten, nach Zürich, ins Zunfthaus zur Schmi-

den, um die ersten der so lange ersehnten Kristalle zu bewundern. Praktische Bedeutung hatte das Mammutprojekt nicht, denn das Vitamin B₁₂ konnte schon damals in großem Maßstab aus Mikroorganismen hergestellt werden. Aber es hob die synthetische organische Chemie auf eine bis dahin kaum vorstellbare Stufe. Und noch viel wichtiger: Die chemische Synthese bewies, dass die hergeleitete Struktur richtig war, weil sie zu einem Molekül führte, dessen Eigenschaften mit denen seiner natürlichen Variante identisch waren. Ich selbst habe bei meiner Doktorarbeit mit ihren Höhen und Tiefen gelernt, keine Angst zu haben und auch vor den kniffligsten Problemen, wie eben dieser Aufgabe, nicht zurückzuschrecken.

Nach Berkeley war ich gegangen, weil am dortigen Institut für Biochemie der Universität von Kalifornien Horace Albert Barker lehrte, von seinen Vertrauten »Nook« genannt. Er hatte die natürlichen Kristalle des Vitamins B₁₂ geliefert, mit denen 1961 Dorothy Hodgkin dessen Raumstruktur bestimmt und gelöst hatte. Es war eine in vieler Hinsicht ungewöhnliche Atomanordnung, die Hodgkin ermittelt hatte und ohne deren Kenntnis die rein chemische Synthese gar nicht möglich gewesen wäre. Wir kannten Nook also aus der Literatur.

Nook Barker war ein bescheidener, kluger Forscher und höchst angesehener Betreuer, der auf den verschiedensten Gebieten der Mikrobiologie und des Stoffwechsels von Mikroorganismen brilliert hatte. Er war nicht nur ein bedeutender Mikrobiologe, sondern auch ein großartiger Angler. Am Rande des Lassen-Nationalparks in Nordkalifornien besaß er eine einfache Hütte an einem der vielen kleinen Seen, wo er mir das Fliegenfischen beibrachte. Manchmal aber mietete er auch ein Boot am Hafen von Berkeley, um zum Lachsfang unmittelbar hinter dem Golden Gate auszufahren. Seine einzige Schwäche, wenn überhaupt, war sein Ehrgeiz, bei solchen Expeditionen immer den ersten Fisch an seiner Angel zu haben. Meist gelang ihm das auch.

Für mich war es eine gänzlich neue Welt, die sich in Berkeley eröffnete, nicht zuletzt wegen der vielen neuen Bekanntschaften, die sich durch die Arbeit mit Barker erschlossen. Einer seiner Freunde war Arthur Kornberg, Professor für Biochemie an der Stanford-Universität.

Alle 14 Tage samstags fuhren wir gemeinsam nach Stanford, auf der anderen Seite der Bucht von San Francisco, um Kornberg, seine Familie und Kollegen zu treffen. Kornberg hatte 1957 Furore gemacht, als es ihm gelang, zum allerersten Mal ein Enzym aus dem Darmbakterium *Escherichia coli* (*E. coli*) zu isolieren, das im Reagenzglas die Bildung von DNA aus seinen Vorläufern katalysieren konnte. Er nannte es DNA-Polymerase. *E. coli* ist ein beliebtes Modellsystem in der Molekularen Biologie, weil harmlos, leicht zu züchten und detailliert untersucht. Mit der Isolierung »seiner« DNA-Polymerase eröffnete Kornberg das Zeitalter der synthetischen Biologie, wofür er 1959 den Nobelpreis für Medizin erhielt.

In der Folge gelang es ihm, mithilfe dieser DNA-Polymerase ein biologisch aktives DNA-Molekül zu synthetisieren. Ausgangspunkt dieses Experiments war das Erbgut eines Bakterienvirus namens PhiX174, das Jahre vorher in Paris im Laboratorium von Félix d'Hérelle, dem Entdecker der Bakterienviren, isoliert worden war. Sein vergleichsweise kleines ringförmiges Genom besteht aus einzelsträngiger DNA. In Gegenwart von Kornbergs Polymerase kann daraus in Gegenwart geeigneter biochemischer Vorläufer doppelsträngige DNA entstehen, die sich in der Tat als infektiös herausstellte. Die Medien haben damals von einer »allerersten Synthese von Leben im Reagenzglas« geschwärmt.

1977 konnten Frederick Sanger und sein Team das Genom dieses Virus sequenzieren, mit anderen Worten die Reihenfolge seiner DNA-Bausteine bestimmen. Insgesamt waren es 5386 Nukleotide. Sanger erhielt für diese Meisterleistung den Nobelpreis für Chemie für das Jahr 1980, seinen zweiten, nachdem er schon gut 20 Jahre zuvor, 1958, ausgezeichnet worden war, damals für die Strukturaufklärung von Insulin. Heute ist die Sequenzierung von DNA Routine, damals war es eine Meisterleistung, ein Genom von knapp 5400 DNA-Bausteinen zu entschlüsseln. Man brauchte anfangs für 150 Bausteine ein Vierteljahr, damals eine Leistung in der Größenordnung einer Diplomarbeit. Wie in Kapitel 1 beschrieben, war es deswegen so zeitraubend, weil die für die enzymatische DNA-Synthese benötigten Vorläufer damals noch nicht kommerziell erhältlich waren. Seit dieser erfolgreichen Sequenzbestimmung

durch Sanger wird das PhiX174-Genom bis heute als positive Kontrolle für die Einstellung und Kalibrierung neuer Sequenzen und Sequenzierungsmethoden verwendet.

Im Jahre 2003 gelangte PhiX174 noch einmal zu Weltruhm, als es Craig Venter gelang, das PhiX174-Genom aus rein synthetisch hergestellten DNA-Stücken zusammenzubauen. Natürlich hatte auch dies keine praktische Bedeutung, aber die erfolgreiche chemische Synthese ist ein Beweis, um nicht zu sagen der Beweis dafür, dass das künstliche Molekül dieselbe Struktur hat wie das echte. Auch in der klassischen synthetischen Chemie war und ist immer noch die chemische Synthese der endgültige Beweis dafür, dass man die richtige Struktur vor Augen hat, so wie beim Vitamin B₁₂.

Von Craig Venter sollte die Welt in den kommenden Jahren immer wieder hören. Im Mai 1995 publizierten er und seine Kollegen aus dem von ihm gegründeten »The Institute for Genome Research« (TIGR) die erste Sequenz eines Bakteriums, nämlich von *Haemophilus influenzae*, auch *H. flu* genannt. Er hatte zu diesem Zweck eine neue Technologie entwickelt, das sogenannte »shot-gun« oder auf Deutsch Schrottschuss-Sequenzieren. Man zerlegt ein Genom in Tausende kleine Fragmente, die als Gemische sequenziert werden und deren Sequenzen man anschließend mithilfe einer geeigneten Software wieder zu einem Genom zusammenbaut. Wenige Jahre später, genauer gesagt im Juni 2000, präsentierte Venter zusammen mit Präsident Bill Clinton und seinem Konkurrenten Francis Collins, dem heutigen Direktor der US-Gesundheitsinstitute (National Institutes of Health), auf einer Pressekonferenz im Weißen Haus eine erste, wenn auch nur vorläufige Sequenz des menschlichen Genoms. Bei *H. flu* waren es 1,8 Millionen Bausteine, genauer 1830137, beim menschlichen Genom an die drei Milliarden. An diesen Zahlen wird deutlich, dass man in der Anfangsphase nicht gleich mit der DNA bakteriellen oder gar menschlichen Ursprungs arbeiten konnte, sondern sich erst einmal mit kleineren Modellsystemen begnügen musste.

Bei allem Erfolg dieser Phagen-DNA-Modelle war schon Ende der 60er-Jahre klar, dass es auf Dauer hierbei nicht bleiben konnte. Stattdes-

sen begann man zunehmend auf Modelle zu setzen, die sich in höheren Zellen vermehren und dort ihre Wirksamkeit entfalten, mit dem Ziel, dabei auch etwas über die Funktion und Arbeitsweise höherer Zellen zu lernen. Insofern war es eine glückliche Fügung, dass zu den Treffen bei Arthur Kornberg immer auch andere Wissenschaftler stießen, dazu gehörte Paul Berg. Berg hatte lange mit Kornberg in St. Louis zusammengearbeitet und ging dann mit ihm nach Stanford, um ihm dort beim Aufbau des Departments zu helfen. Dort angekommen entschied er sich bald, im Umfeld der Biologie höherer Zellen zu arbeiten. Zu diesem Zweck ging er für ein paar Monate zu Renato Dulbecco, damals am Salk Institute for Biological Studies in La Jolla, Kalifornien, um dort die Züchtung des Polyomavirus beziehungsweise von SV40 zu lernen. Das Salk Institute war allerdings nur eine Zwischenstation in seiner Karriere. Vorher hatte er unter anderem am California Institute of Technology, kurz Caltech, gearbeitet, wo er von Max Delbrück, von dem wir noch hören werden, das Arbeiten mit Viren erlernte, darunter nicht nur mit Bakterienviren, sondern später auch mit den beiden Tumorigenen Polyoma und SV40.

Beide, Polyoma und SV40, sind Viren mit einem DNA-Genom und vermehren sich sehr effizient in Mäuse- beziehungsweise Affenzellen. Allerdings war es ziemlich trickreich, sie zu züchten, denn dafür sind komplex zusammengesetzte Kulturmedien nötig. Das Wissen dazu beherrschten seinerzeit nur wenige Wissenschaftler, darunter auch Marguerita Vogt. Sie war die jüngste Tochter von Oskar und Cécile Vogt-Mugnier, die nicht zuletzt dadurch als Neurophysiologen berühmt wurden, dass sie 1923 von Stalin den Auftrag erhielten, Lenins Gehirn zu analysieren. Die Eltern Vogt waren international so bekannt und angesehen, dass die Rockefeller-Stiftung ihnen 1929 1,4 Millionen Reichsmark als Beitrag für einen Neubau ihres Instituts in Berlin-Buch stiftete, mehr als der preußische Staat und die Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft zusammen. Als ich als Mitglied einer Arbeitsgruppe des Wissenschaftsrats 1990 nach Buch kam, um die dortigen Institute der DDR-Akademie der Wissenschaft zu evaluieren, fand ich neben dem Haupteingang, verborgen hinter sehr viel Efeu, ein Hinweisschild auf die Rockefeller-Stif-

tung als Mitstifter dieses Instituts. Irgendwie hatte es die Jahrzehnte des Nationalsozialismus, des Zweiten Weltkriegs und auch der DDR-Zeit überstanden.

Vogt emigrierte 1950 in die USA, wo sie am Caltech auf Renato Dulbecco traf und dort die Zellkulturarbeiten begann, auf deren Basis man dann später das Poliovirus züchten konnte. Bei meinen Besuchen in Stanford, wo sie gelegentlich bei Paul Berg eingeladen war, wurde mir klar, dass sie gewissermaßen einen »grünen Daumen« für Zellkulturen hatte. Noch Ende der 60er-Jahre waren solche Arbeiten nicht einfach, zumal mit den damaligen Methoden, aber es war die Front der Forschung.

Fünfundzwanzig Jahre nach den Judenverfolgungen in Deutschland war dieses furchtbare Kapitel der Geschichte noch immer präsent, durch viele Kolleginnen und Kollegen, die damals geflüchtet waren. Dazu gehört auch Peter Reichard, der Direktor des Medizinischen Nobelinstituts des Karolinska-Instituts in Stockholm, wo ich ein paar Jahre gearbeitet habe. Reichard stammte ursprünglich aus Wiener Neustadt, musste nach dem Anschluss Österreichs im Jahre 1939 emigrieren und begann in Schweden eine Karriere als Biochemiker. In meinen bald drei Jahren am Karolinska-Institut habe ich mich mit ihm ausschließlich in englischer Sprache unterhalten. Am allerletzten Tag vor meiner Abreise nach Köln lud er mich zu sich nach Hause ein, wo wir mit seiner alten Mutter zusammen zu Abend aßen. Sie sprach kein Englisch und kaum Schwedisch, sodass ich Peter Reichard zum ersten Mal fließend Deutsch sprechen hörte. Die schreckliche deutsche Geschichte wurde mir damals immer wieder, meist indirekt, in Erinnerung gerufen, ob in Zürich, Berkeley oder in Stockholm.

Fast jedes Jahr nach den Nobelfeierlichkeiten am 10. Dezember verbrachte Peter Reichard die folgenden drei Monate in Stanford bei Arthur Kornberg, um sich dort seinen eigenen Arbeiten über die Biochemie der Vorläufer der DNA-Synthese zu widmen. Im Mittelpunkt stand dabei die Frage, wie der Organismus es fertigbringt, die vier Bausteine der DNA, die bei der Synthese der Erbsubstanz gebraucht wurden, immer in den richtigen Mengen zur Verfügung zu stellen. Ich selbst habe

Reichard in Stanford mehrere Male getroffen, mich mit ihm angefreundet und seine Einladung angenommen, nach der Zeit bei Nook Barker zu ihm zu einem weiteren Postdoktorat am Medizinischen Nobelinstitut des Karolinska-Instituts in Stockholm zu kommen.

Dort habe ich begonnen, mit Polyomaviren zu arbeiten. Sie haben ein doppelsträngiges ringförmiges DNA-Genom, ähnlich groß wie das von PhiX174, dem bereits erwähnten Bakteriophagen. Mit Polyomaviren und Mäusezellen sind wir damals der Frage nachgegangen, wie sich die DNA des Virus genau vermehrt. Wir haben ein System aus Zellkernen infizierter Zellen entwickelt, das wir detailliert biochemisch untersuchen konnten. Mit intakten Zellen wäre das nicht möglich. Damals haben wir herausgefunden, dass die virale DNA nicht im Ganzen zusammengebaut wird. Vielmehr entstehen zunächst kleine, etwa 200 Bausteine lange Stücke, die erst später zu den langen DNA-Strängen des eigentlichen Genoms zusammengefügt werden. Damit konnten wir beweisen, dass die Synthese viraler DNA im Zellkern bei höheren Organismen genauso abläuft wie beim Bakterium *E. coli*. Die Fragmente hatten als Erste japanische Molekularbiologen entdeckt, eben bei *E. coli*. Die Viren haben uns damals als Modellsysteme gedient, um grundlegende Prozesse der Zellbiologie zu verstehen, zum Beispiel die Kontrolle der Zellteilung und die Entstehung von Krebs. Es war eine extrem spannende Zeit, in der sich mithilfe der Biochemie an Viren nach und nach wichtige Erkenntnisse für Krankheiten beim Menschen ergaben.

Die Arbeiten mit Viren habe ich dann ab 1973 am Institut für Genetik der Universität Köln im Labor von Walter Doerfler an einem anderen Modellsystem, dem der Adenoviren, fortgesetzt. Doerfler war vor seiner Berufung nach Köln an der Rockefeller University in New York tätig und wurde vor allem durch seine Arbeiten mit krebserregenden Adenoviren bekannt. Adenoviren sind etwas größer als Polyomaviren, ebenfalls mit doppelsträngiger DNA, aber einem linearen statt einem ringförmigen Genom. Medizinisch gesehen sind sie recht bedeutungslos und erzeugen bestenfalls leichte Erkältungen. Sie erschienen uns damals als das noch bessere Modellsystem für das Studium der DNA-Synthese, da ihre Genome wesentlich größer und komplexer sind als die des

vergleichsweise kleinen Polyomavirus und auch technisch leichter zugänglich.

Das Kölner Institut für Genetik war gut zehn Jahre vorher von Max Delbrück nach dem Muster eines amerikanischen Departments gegründet worden. Für deutsche Verhältnisse war das ungewöhnlich, weil es nicht nur einen, sondern fünf gleichberechtigte Institutsdirektoren gab, die in verschiedenen Fächern tätig waren, von der Virusforschung über die Immunologie bis hin zur Bakteriengenetik. Das machte es leichter, auch einmal über die Grenzen der Disziplinen zusammenzuarbeiten. Delbrück selbst war als Physiker ausgebildet, er hatte bei den großen Physikern Niels Bohr in Kopenhagen, Wolfgang Pauli in Zürich und Lise Meitner in Berlin gearbeitet. Dort initiierte er einen Gesprächskreis, dem auch der russische Genetiker Nikolai Timofeeff-Ressowski angehörte, seit 1924 Direktor am Kaiser-Wilhelm-Institut für Hirnforschung in Berlin.

Delbrück ging es seinerzeit um die stoffliche Natur der Gene. Dazu versuchte er, erst einmal herauszufinden, wie physikalisch stabil die Moleküle sind, die den Genen zugrunde liegen. Damals war schon bekannt, dass Gene zwar ziemlich stabil sind, sich aber unter Umständen doch verändern können. So hatte man bei der Taufliège beobachtet, dass sie spontan neue Eigenschaften annehmen kann. Beispielsweise können Taufliègen, die normalerweise rote Augen haben, gelegentlich auch weiÙe Augen entwickeln. Solche spontanen Veränderungen oder Mutationen, wie sie auch genannt werden, sind selten. Durch Röntgenstrahlen aber lässt sich ihre Häufigkeit signifikant erhöhen. Das war ungefähr alles, was man über Gene damals wusste. Da es möglich war, durch Röntgenstrahlen dieselben Mutationstypen zu erzeugen, die auch natürlich auftreten, schloss Delbrück, dass in beiden Fällen dieselben Moleküle beteiligt sein mussten.

Zu dritt schrieben dann Delbrück, Timofeeff-Ressowski und Karl Günter Zimmer, ein Radiologe und ebenfalls tätig am Kaiser-Wilhelm-Institut für Hirnforschung, im Jahre 1935 eine berühmt gewordene Arbeit, in der sie zu dem Schluss kommen, dass Mutationen durch »Umlagerungen innerhalb eines Atomverbandes« entstehen. »Es liegt

nahe, sich das Gen als diesen Atomverband vorzustellen. Diese Vorstellung erfüllt die genetische Forderung, sich das Gen als eine normalerweise weiter nicht einteilbare und in ihrem Benehmen weitgehend autonome Einheit zu denken.« Das klingt heute vielleicht banal; man darf aber nicht vergessen, dass dies geschrieben wurde, lange bevor das Gen überhaupt als DNA charakterisiert worden war. Doch nicht nur das: Es war der gelungene Versuch, Physik und Biologie zusammenzuführen und auf eine gemeinsame Grundlage zu stellen. Im Grunde war diese Arbeit die Geburtsstunde der Molekularen Biologie.

Als ich im Winter 1972/73 an dem ungewöhnlichen Institut in Köln ankam, war Delbrück schon längst nicht mehr Direktor, aber doch immer noch präsent. Am Tage meiner Ankunft saß er in dem für mich vorgesehenen Raum an meinem zukünftigen Schreibtisch und begrüßte mich dort mit der Frage: »Warum arbeiten Sie mit Viren?« Es entspann sich daraus eine längere, über Tage andauernde Diskussion über seine eigenen Arbeiten mit Bakterienviren und über die Frage nach der Natur und Struktur des Gens, die damals nicht beantwortet war. Ihm leuchtete ein, dass Adenoviren vielleicht ein gutes System sein könnten, besser jedenfalls als die Bakteriophagen, um dieser Frage nachzugehen.

So ist es denn auch gekommen. Damals gab es fünf Laboratorien in der Welt, die sich den Grundsatzfragen im Zusammenhang mit der Wirkung von Genen höherer Zellen im Adenovirus-System annahmen. Neben unserem in Köln waren das Einrichtungen in Uppsala, Utrecht, Cold Spring Harbor auf Long Island und am Massachusetts Institute of Technology (MIT), also eine Menge Konkurrenz. In Cold Spring Harbor, dem Labor von Jim Watson, und am MIT arbeitete man an dem Problem der Bildung der Boten-RNA. Das ist die Form viraler Erbsubstanz, die jetzt bei den Impfstoffen gegen Covid-19 zum Einsatz kommt. Boten-RNA wird im Zellkern produziert und dann »irgendwie« aus dem Kern heraus in das Zellinnere transportiert. Denn dort – und eben nicht im Zellkern – befindet sich die zelluläre Maschinerie, die sogenannten Ribosomen, die die Boten-RNA in Proteine übersetzt.

Es stellte sich heraus, dass die aus dem Zellkern ins Zellinnere transportierte RNA nicht einfach von den jeweiligen DNA-Regionen abge-

lesen wird und deswegen dieselbe Abfolge von Nukleinsäuren hat, sondern dass sie an ihrem Ende ein Stück RNA enthält, das von einem ganz anderen DNA-Abschnitt stammt. Der Bereich zwischen dem Gen und diesem kurzen Stück muss also auf dem Wege zur Boten-RNA herausgeschnitten worden sein. Dies führte zur der Schlussfolgerung, dass die Gene des Virus in Stücken angelegt sind, die auf dem Wege zur Boten-RNA zunächst in eine exakte RNA-Kopie gelesen werden, die aber noch bearbeitet werden muss, um in ihrer verkürzten Form als Boten-RNA zu fungieren. In Analogie zur Sprache der Segler, die beim Zusammenfügen von Tauen den Begriff des »Spleißens« verwenden, spricht man hier vom Spleißen der RNA.

Kurz nach diesen Beobachtungen wurde bekannt, dass auch die Gene von Zellen, nicht nur die der Viren, in Stücken vorkommen und bei dem Ableseprozess, der zur Boten-RNA führt, erst noch zusammengespleißt werden müssen. Das war eine extrem überraschende Entdeckung, die den beiden Virologen vom MIT und aus Cold Spring Harbor, Philip Sharp und Richard Roberts, den Nobelpreis für Medizin des Jahres 1993 brachte. Auch hier hatten wieder Viren als Modellsysteme für zentrale Prozesse lebender Zellen gedient. Heutzutage braucht man für die Beantwortung von Fragen zur Genstruktur nicht mehr den Umweg über Viren, denn heute werden Gene einfach als Ganzes gelesen, und zwar schnell. Selbst für das menschliche Genom mit seinen drei Milliarden Bausteinen benötigen moderne Sequenzapparate nur wenige Stunden.

Viren sind deshalb nicht obsolet geworden, im Gegenteil, sie erweisen sich in vielen Situationen als außerordentlich nützlich, beispielsweise bei genetischen Therapien oder auch dem Editieren von Genomen, also dem »Umschreiben« von Genen. Das Thema Gentherapie steht schon lange auf der Agenda von Medizinern und Molekularbiologen. Es geht darum, genetische Defekte, die Erbkrankheiten verursachen, zu korrigieren. Zu den häufigsten, wenn auch immer noch sehr seltenen Erbkrankheiten gehören beispielsweise die Bluterkrankheit, die Mukoviszidose sowie die Duchenne'sche Muskeldystrophie. Auf den ersten Blick klingt es einfach, die zugrunde liegenden Fehler im Erbgut zu beseitigen. Geneti-

sches Material muss in Zellen, deren Genome Mutationen tragen, eingebracht und im Zellinneren derart aktiviert werden, dass statt eines »falschen« Proteins seine »richtige« Variante oder vielleicht gar kein Protein produziert wird. Aber so einfach ist es nicht. Am Anfang, in den frühen 90er-Jahren, war man viel zu euphorisch, obwohl eigentlich allen Beteiligten hätte klar sein müssen, dass Eingriffe in den Stoffwechsel weder einfach noch kompliziert, sondern höchst komplex sind.

Viren scheinen prädestiniert zu sein, um Gene in die Zellen höherer Organismen einzuschleusen, da sie auch normalerweise Erbgut in ihre Wirtszellen hineintransportieren. Man spricht von Vektoren. Heutzutage benutzt man für gentherapeutische Versuche vor allem Adeno-assoziierte Viren (AAVs) und Lentiviren. Adeno-assoziierte Viren wurden ursprünglich als Verunreinigungen in Adenovirus-Präparationen entdeckt. Sie sind viel kleiner als Adenoviren und benötigen daher adenovirale Proteine, um sich zu vermehren. Sie haben aber den Vorteil, dass sie keine Krankheitserreger sind und ihr Genom in der Regel nicht in das Genom der Wirtszelle integrieren. Wenn sie es doch tun, dann nur sehr selten, aber spezifisch, nämlich an einer bestimmten Stelle auf dem menschlichen Chromosom 19. Das lässt sich dann sehr leicht nachprüfen. Mindestens einer der diversen AAVs kann die sogenannte Blut-Hirn-Schranke durchdringen, was ihn zur Behandlung von genetischen Defekten in Zellen des Gehirns prädestiniert. Die Blut-Hirn-Schranke ist ein Membransystem, das den Blutkreislauf vom Zellsystem des Gehirns abgrenzt und dieses so vor toxischen Stoffwechselprodukten im Blut schützt.

AAV-Vektoren haben den Nachteil, dass sie sehr klein sind. Nur etwa 5000 Basenpaare passen in ein AAV-Partikel hinein. Manche Gene sind aber sehr viel größer, beispielsweise das Dystrophin-Gen. Mutationen in diesem Gen führen dazu, dass Muskeln schrumpfen; es handelt sich um die sogenannte Duchenne'sche Muskeldystrophie. Sie befällt etwa einen von 3500 neugeborenen Jungen, und zwar ausschließlich männliche Neugeborene, weil das Dystrophin-Gen auf dem X-Chromosom liegt, von dem Männer, im Unterschied zu Frauen, bekanntlich nur eine Kopie tragen. Im Prinzip könnte man den Defekt beheben, indem man

ein intaktes Dystrophin-Gen in die Zellen einbringt. Das Dystrophin-Gen ist aber eines der größten Gene überhaupt, mit gut zwei Millionen DNA-Bausteinen. Die zugehörige Boten-RNA oder mRNA ist nur noch 14000 Bausteine groß, was immer noch mehr ist als die 5000 Bausteine, die in ein AAV-Partikel hineinpassen. Man hat daher ein Mikro-Dystrophin-Gen konstruiert, das nur noch diejenigen Bereiche des natürlichen Gens enthält, die tatsächlich biologisch aktiv sind. Die Krankheit ist es wert, auch solche Umwege zu gehen, am Ende geschah dies übrigens mit Erfolg.

Um ein defektes Gen zu korrigieren, injiziert man eine richtige Version des betreffenden Gens samt Vektor direkt in die entsprechenden Zelltypen, also beispielsweise in Muskelgewebe. Dabei handelt es sich um ausdifferenzierte Zellen, die sich nicht mehr teilen. Das eingebrachte Gen wird daher nicht durch Zellteilung ausgedünnt, anders bei der Therapie mit sogenannten Stammzellen, die außerhalb des Organismus verändert, vermehrt und dann wieder dorthin zurückgeführt werden. Dafür braucht man Vektoren, die in das Genom integrieren. Die integrierte Version wird dann vom Genom als normales Gen behandelt und teilt sich zusammen mit all den anderen Genen einer Zelle. So wird verhindert, dass das therapeutische Gen gewissermaßen ausgedünnt wird und nicht mehr wirkt. In diesen Fällen verwendet man eine besondere Klasse von Retroviren, die sogenannten Lentiviren. Zu diesen gehört übrigens auch das HI-Virus. Aber natürlich verwendet man in der Gentherapie abgeänderte, mutierte Varianten, denn sonst käme man vom Regen in die Traufe.

Eine der Krankheiten, für die dringend ein gentherapeutischer Ansatz gesucht wird, ist die Sichelzellanämie. Schon vor bald 70 Jahren hat Linus Pauling, Träger der Nobelpreise für Chemie und Frieden, die molekulare Ursache dieser schweren, durch eine Mutation in einer der beiden Eiweißketten des Hämoglobins, des roten Blutfarbstoffs, ausgelösten Krankheit herausgefunden. Mit einer Therapie, die an die Wurzeln der Krankheit geht, hapert es jedoch bis heute. Es wird vermutet, dass die Sichelzellanämie aus Regionen Afrikas stammt, in denen Malaria regional gehäuft auftritt. Der Malaria-Erreger befällt die roten Blutkörperchen.

perchen. Die Sichelzellanämie hat sich wahrscheinlich deshalb als Mutante durchgesetzt, weil sie den Betroffenen eine gewisse Resistenz gegen Malaria verleiht und damit einen evolutionären Vorteil verschafft hat. Durch den Sklavenhandel gelangte die Krankheit über die Karibik in die USA. Dort schätzt man die Zahl der Sichelzellopatienten derzeit auf knapp 100 000. Im südlichen Afrika jedoch werden jährlich an die 300 000 Kinder mit Sichelzellanämie geboren, von denen etwa 90 Prozent vor dem fünften Geburtstag sterben.

Obwohl es sich um einen »einfachen« molekularen Defekt handelt, einen einfachen Tausch einer einzigen Aminosäure, verläuft die Krankheit sehr unterschiedlich. Das hat damit zu tun, dass der Blutfarbstoff an vielen Stellen im menschlichen Stoffwechsel eine Rolle spielt. Ideal wäre deswegen, mit einer Gentherapie bei den Stammzellen des blutbildenden Systems anzusetzen. Die relevanten Stammzellen würden aus dem Blut isoliert, ihre Mutation korrigiert und die so behandelten Zellen wieder in den Organismus zurückgeleitet. Da es sich um körpereigene Zellen handelt, werden sie nicht abgestoßen.

Das klingt einfach, ist es aber nicht. Die Probleme beginnen schon damit, dass man die Stammzellen aus dem Knochenmark isolieren muss. Dazu muss man den Patienten anästhesieren und mehrfach punktieren. Außerdem ist es wichtig, wenn nicht gar entscheidend, in den behandelten Zellen die Menge an Blutfarbstoff genau einzustellen. Zu viel Blutfarbstoff ist schlecht, ebenso wie zu wenig. 2017 gab es erste klinische Erfolge bei einer Stammzelltherapie von Sichelzellanämie mittels Lentiviren. Mehrere Therapieansätze sind derzeit in klinischen Prüfungen. Es hat lange gedauert, bis die Gentherapie in Gang gekommen ist, aber nun nimmt sie Fahrt auf, nicht zuletzt dank der Entwicklung besserer viraler Vektoren.

Es müssen aber oft nicht ganze Gene ausgetauscht werden, sondern es reicht auch der Austausch bestimmter Genabschnitte, gegebenenfalls sogar nur einzelner Bausteine. Eine Methode, das sogenannte Gen-Editieren, steht erst seit Neuestem zur Verfügung. Sie basiert auf einem adaptiven Immunsystem von Bakterien, die dieses zur Abwehr von Infektionen durch Bakterienviren, der Bakteriophagen, nutzen.

Was haben Bakteriophagen mit der Behandlung von Infektionskrankheiten oder gar dem Editieren von Genomen zu tun? Bakteriophagen sind Viren, die Bakterien infizieren und töten können, und nur diese. Auf Zellen höherer Organismen wirken sie nicht. Es gibt mindestens so viele Phagen wie Bakterien – das heißt, jede Menge. Wenn wir an unser Mikrobiom denken, also die Bakterien, mit denen wir koexistieren, dann sprechen wir von 100-mal mehr Bakterien, als wir Körperzellen besitzen. Die entsprechenden Viren sind sehr spezifisch für eine bestimmte Sorte Bakterien, also beispielsweise Salmonellen, Kolibakterien, Streptokokken oder was sonst noch an Bakterienspezies im Darm oder in anderen Organen und Körperöffnungen, etwa den Augen, existiert. Das wirft sofort zwei Fragen auf: Wie überleben die Bakterien in Gegenwart »ihrer« Viren? Und ließen sich Phagen verwenden, um Erbkrankheiten oder bakterielle Infektionen gezielt zu behandeln?

Bakterien haben in der Tat ein adaptives Immunsystem, das unter dem Namen CRISPR bekannt ist. CRISPR ist die Abkürzung für »Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats«; zu Deutsch etwa »kurze, in regelmäßigen Abständen wiederkehrende palindromische Wiederholungen«. Palindrome sind Worte, die von rechts nach links oder von links nach rechts gelesen den gleichen Sinn ergeben, wie die Worte Otto oder Reliefpfeiler. Im konkreten Fall der DNA handelt es sich um Sequenzabschnitte auf dem bakteriellen Genom, die etwa 30–35 Bausteine lang sind und in einem Abstand von bis zu 70 Bausteinen auf bakteriellen Genomen gefunden werden. Ihre Funktion blieb zunächst rätselhaft, bis man herausgefunden hat, dass sie auch auf den Genomen von Phagen vorkommen. Aber diese merkwürdige Beobachtung brachte noch nicht des Rätsels Lösung. Dazu bedurfte es der Entdeckung der eigentlichen »Genschere«, der Cas-Nuklease, der CRISPR-assoziierten Nuklease.

Nukleasen sind Enzyme, die den Doppelstrang der DNA schneiden können. Von ihnen gibt es viele. Diese spezielle Version aber erkennt die CRISPR-Sequenz und dazu noch zwei kurze RNA-Moleküle, von denen eines komplementär zu einer Sequenz im Zwischenraum zwischen den CRISPR-Bereichen ist. Der Komplex aus Protein und den zwei RNA-Mo-

lekülen – man spricht von guide-RNAs – sucht nun entlang der eindringenden Phagen DNA, bis er eine solche komplementäre Sequenz findet, an der dann die Cas-Nuklease die virale DNA auseinander-schneidet. Dadurch wird sie biologisch inaktiv. Zwei Wissenschaftlerinnen, Emmanuelle Charpentier und Jennifer Doudna, haben im Jahre 2012 diese Beobachtung derart weiterentwickelt, dass heute jede beliebige DNA an jeder gewünschten Stelle in einer Zelle beliebiger Herkunft geschnitten werden kann, um an den Schnittstellen einen oder mehrere DNA-Bausteine auszutauschen.

Im Fall der Duchenne-Muskelkrankheit, bei der ein Dystrophin-Gen defekt ist, geht man nun so vor: Man füllt ein AAV-Partikel sowie eine geeignete guide-RNA mit der erwähnten Cas-Nuklease, die im Umfeld der Mutation schneidet, und injiziert diese Partikel in die Muskeln. Das ist bislang unter anderem bei Schweinen gelungen, deren Erbgut man vorher so verändert hatte, dass es eine für Duchenne charakteristische Mutation vorwies. Auf diese Weise ist es gelungen, in diesem Tiermodell die Krankheit zwar nicht zu heilen, aber in ihrem Verlauf abzuschwächen. Die Hoffnung ist groß, diesen Ansatz in Zukunft auch beim Menschen anwenden zu können.

Die CRISPR-Cas9-Technologie und einige inzwischen entwickelte Verbesserungen haben die biologische Grundlagenforschung grundlegend verändert, jedenfalls überall dort, wo sie mit dem Erbmateriale zu tun hat. Sie hat den beiden Wissenschaftlerinnen weltweiten Ruhm eingetragen und im Jahre 2020 sogar den Nobelpreis für Chemie. Aber das Editieren von Genomen ruft auch Kritik hervor, insbesondere wenn das Erbgut menschlicher Zellen verändert wird.

Kontrovers diskutiert wird in erster Linie die Forschung an menschlichen Embryonen. Wenn man sie genetisch verändert, könnte es im Prinzip gelingen, Erbkrankheiten an ihrer Wurzel zu behandeln, also nicht mehr nur in Zellen bereits erwachsener Patienten, sondern eben an der Quelle des Menschseins, der Entstehung eines ganzen Menschen. Man könnte, so die Befürchtung, auch den Menschen verbessern, vor allem im Hinblick auf gewisse höhere kognitive Eigenschaften wie Gedächtnis, Intelligenz oder Musikalität, aber auch auf Muskelaufbau und

Lebenserwartung. Etwa drei Jahre nach der Erfindung von CRISPR-Cas9 mehrten sich die Sorgen, dass diese Technologie bald auch bei menschlichen Embryonen eingesetzt werden könnte. So kam es im Januar 2015 auf Initiative von Jennifer Doudna zu einer kleinen Konferenz im kalifornischen Napa, auf der dieses Problem thematisiert wurde. Die Teilnehmer unter dem Vorsitz des Nobelpreisträgers David Baltimore empfahlen unter anderem, das Editieren von menschlichen Genomen einer breiteren Öffentlichkeit bekannt zu machen und für den Dezember 2015 eine Konferenz in Washington, D.C., einzuberufen.

Ich selbst war Mitglied einer international zusammengesetzten Arbeitsgruppe, die diese Konferenz unter der Federführung von drei Wissenschaftsakademien vorbereitete, der amerikanischen Nationalen Akademie der Wissenschaften, der britischen Royal Society und der chinesischen Akademie der Wissenschaften. Mit von der Partie war auch die damalige Vizepräsidentin unserer Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina, Bärbel Friedrich. Die Konferenz endete mit einem Kommuniqué, in dem festgehalten wurde, zunächst einmal Sicherheit und Wirksamkeit des Verfahrens zu prüfen und für jede einzelne Anwendung einen breiten Konsens zu suchen. Mit einem Wunsch nach einem Moratorium solcher Versuche ist die Leopoldina zunächst nicht durchgekommen.

Bei einer zweiten Konferenz, genau drei Jahre später, im November 2018, kam es dann zu einem Eklat. Kurz nach unserer Ankunft in Hongkong wurde bekannt, dass am kommenden Tag ein junger chinesischer Wissenschaftler mit Namen He Jiankui, Professor an der Universität von Shenzhen unweit von Hongkong, über die Geburt zweier CRISPR-Babys sprechen würde. Im Auditorium befanden sich am Morgen des 28. November 2018 in einem der größten Hörsäle der Universität gefühlt mehr Reporter und Fernsichtteams als Konferenzteilnehmer. Man hatte He Jiankui eine Stunde Zeit gegeben, in der er dann tatsächlich über die genetisch veränderten Zwillinge Lulu und Nana sprach und anschließend auch Fragen der Teilnehmer beantwortete.

Rein wissenschaftlich gesehen war es sein Plan, in die Genome dieser Babys eine Mutation einzuführen, von der bekannt ist, dass sie zu einer

Resistenz gegen das HI-Virus führt. Schon nach den ersten Daten, die er präsentierte, war klar, dass ihm dies nicht gelungen war. Im Gegenteil, er hatte Sequenzabschnitte um diesen Genort herum ausgeschnitten, deren genaue Funktion unbekannt war und bis heute ist. Nach Hes Auftritt kam es zu sehr kritischen Stellungnahmen, auch von chinesischer Seite. Uns allen war klar, dass ein solches Experiment unverantwortlich, unethisch und gefährlich war, denn inwieweit die Genome der beiden Zwillinge geschädigt waren, konnte niemand wissen, selbst He nicht. Hoffen wir, dass die beiden ein einigermaßen gesundes Leben führen können. He verschwand sehr schnell nach seinem Auftritt. Er wurde später zu drei Jahren Gefängnis verurteilt, ein Urteil, mit dem er wohl nie gerechnet hätte.

Die Nachbeben dieses Ereignisses beschäftigen die Gemeinschaft der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler bis heute. Im März 2019 kam es zu einem Aufruf von insgesamt 18 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, darunter alle deutschen Mitglieder der Leopoldina, die in Hongkong dabei waren: die Medizinethikerin Bettina Schöne-Seiffert aus Münster, die bereits erwähnte Bärbel Friedrich und ich selbst. Wir haben in einem Brief an die Zeitschrift *Nature* gefordert und begründet, dass es für solche Versuche ein globales Moratorium geben sollte. Inzwischen wurde bekannt, dass es in der Tat bei der Anwendung von CRISPR-Cas9 an menschlichen Embryonen zu Chromosomen-schäden oder Umlagerungen kommen kann. Inwieweit dies auf die Genome der beiden chinesischen Zwillinge zutrifft, ist nicht bekannt.

Die Entwicklung von CRISPR-Cas9 zeigt, wie interdisziplinär und komplex die Wege der modernen Biologie geworden sind. Virale Vektorsysteme, also AAV oder Lentiviren, ermöglichen es, zusammen mit den beschriebenen Elementen eines bakteriellen Immunsystems menschliche Erbkrankheiten zu behandeln. Für viele stellt dies die neue Waffe im Kampf nicht nur gegen Erbkrankheiten, sondern auch gegen Krebs und andere Volkskrankheiten dar. Es gibt zahllose andere Beispiele als die hier beschriebenen, die aber (fast) alle noch in klinischen Prüfungen sind. Diese verschlungenen Wege zu gehen braucht Zeit, unendlich viel Geduld und auch Geld, vor allem aber die Einsicht, dass

Fortschritte dieser Art nur mit einem langen Atem und großen Investitionen in die Grundlagenforschung zu haben sind. Wer hätte gedacht, dass die Entdeckung der Boten-RNA sich jemals in der Entwicklung von Impfstoffen oder der Heilung von HIV verwenden ließe?

Bakterien und ihre Viren beeinflussen sich gegenseitig, beispielsweise wie beschrieben über adaptive Immunsysteme, was dann auf vielen Umwegen zur Entwicklung der Gentechnik und des Genom-Editierens geführt hat. Bakterienviren können aber auch sehr direkt in der Therapie von Infektionskrankheiten eingesetzt werden. In geeigneter Form angewandt, töten sie ihre Wirtszellen – eigentlich der Normalfall.

Der zu Anfang dieses Kapitels erwähnte Félix d’Hérelle war der Erste, der 1917 diesen Gedanken aufgriff, um mit Ruhr infizierte Soldaten aus dem Ersten Weltkrieg zu behandeln; mit gewissem Erfolg. Mit der Entdeckung der Antibiotika geriet diese Therapiemöglichkeit jedoch in Vergessenheit, außer in der Sowjetunion, wo eine Antibiotikatherapie oft an der mangelnden Verfügbarkeit von Devisen zum Kauf der meist im Westen produzierten Antibiotika scheiterte. Seit dem Zusammenbruch der Sowjetunion ist man jedoch auch im Westen wieder auf die Bakteriophagen als Mittel im Kampf gegen Bakterien aufmerksam geworden, im Besonderen gegen solche, die multiple Resistenzen besitzen, wo also Antibiotika unwirksam sind. Eine allgemeine Zulassung von Phagen-Therapien scheitert jedoch oft daran, dass die Phagen extrem spezifisch sind und immer nur gegen ein bestimmtes Bakterium wirken. Sie müssen also in der Regel für die spezifischen Bedürfnisse eines oder weniger Patienten entwickelt werden, ein Extremfall personalisierter Medizin. Nachdem es seit wenigen Jahren aber ähnliche, hochspezifische Anwendungen der personalisierten Medizin gibt, wie beispielsweise die CAR-T-Zell-Therapie für die Behandlung ausgewählter Tumoren, ist es denkbar, dass die Zulassungsbehörden für solche personalisierten Therapien entsprechende Szenarien entwickeln. So bleiben die Viren nützliche Vehikel für viele Anwendungen in der Human- und Tiermedizin.