

# NOVA ACTA LEOPOLDINA

NEUE FOLGE, BAND 98, NUMMER 361

## Medicine at the Interface between Science and Ethics

Walter Doerfler / Hans-G. Ulrich / Petra Böhm (Eds.)



Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina –  
Nationale Akademie der Wissenschaften, Halle (Saale) 2010  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart





Financial Support by  
Alfried Krupp von Bohlen und Halbach-Stiftung, Essen  
Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina  
Fonds der Chemischen Industrie, Frankfurt am Main  
Qiagen, Hilden  
Stadt Weißenburg in Bayern

# NOVA ACTA LEOPOLDINA

Abhandlungen der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina

Herausgegeben vom Präsidium der Akademie

---

NEUE FOLGE

NUMMER 361

BAND 98

---

## Medicine at the Interface between Science and Ethics

Leopoldina Symposium  
May 30 to June 1, 2007  
Weißenburg, Bayern

Editors:

Walter DOERFLER (Erlangen/Köln)  
Member of the Academy  
Hans-G. ULRICH (Erlangen)  
Petra BÖHM (Köln)

With 31 Figures and 4 Tables



**Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina –  
Nationale Akademie der Wissenschaften, Halle (Saale) 2010  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart**

Redaktion: Dr. Michael KAASCH und Dr. Joachim KAASCH

**Die Schriftenreihe Nova Acta Leopoldina erscheint bei der Wissenschaftlichen Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Birkenwaldstraße 44, 70191 Stuttgart, Bundesrepublik Deutschland.  
Jedes Heft ist einzeln käuflich!**

Die Schriftenreihe wird gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung sowie das Kultusministerium des Landes Sachsen-Anhalt.

Einbandbild:

Die Abbildung zeigt zwei der Glasfenster im Sitzungszimmer des 1988 eingeweihten Vortragsgebäudes der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina, die mit Motiven aus Biowissenschaften und Medizin von Christiane SCHWARZE-KALKOFF (Halle/Saale) gestaltet wurden.

#### **Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Die Abkürzung ML hinter dem Namen der Autoren steht für Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften.

Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdruckes, der fotomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten.

© 2010 Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina e. V. – Nationale Akademie der Wissenschaften  
06019 Halle (Saale), Postfach 11 05 43, Tel. + 49 345 4723934  
Hausadresse: 06108 Halle (Saale), Emil-Abderhalden-Straße 37  
Herausgeber: Präsidium der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften  
Printed in Germany 2010  
Gesamtherstellung: Druck-Zuck GmbH Halle (Saale)  
ISBN: 978-3-8047-2605-5  
ISSN: 0369-5034  
Gedruckt auf chlorfrei gebleichtem Papier.

## Inhalt/Contents

DOERFLER, Walter, ULRICH, Hans-G., and BÖHM, Petra: Preface .....	7
KLEIN, George: Some Misunderstandings on Both Sides of the Frontier between the Two Cultures .....	9
JAENISCH, Rudolf, and YOUNG, Richard: Stem Cells, the Molecular Circuitry of Pluripotency and Nuclear Reprogramming .....	19
KUMMER, Christian: Induzierte Reprogrammierung in der Stammzellforschung – mehr „Königsweg“ als erwartet .....	47
FLECKENSTEIN, Bernhard: The Dignity of a Cell in Culture .....	57
WOLF, Eckhard, RENNER, Simone, KESSLER, Barbara, KUROME, Mayuko, WÜNSCH, Annegret, KLYMIUK, Nikolai, and AIGNER, Bernhard: Large Animal Models for Translational Science in Medicine .....	65
CREMER, Thomas: Von der Genetik zur Epigenetik und Epigenomforschung – Essay zur Geschichte der Vererbungsforschung und zur Zukunft der prädiktiven Medizin ....	87
ULRICH, Hans-G.: Research on Human Life – New Demands for Moral and Ethical Discourses .....	167
HEUSER, Stefan: Dialogue between Science and Ethics. Phenomenological Considerations on Interdisciplinary Research into Scientific Discourses .....	177
SCHOBERTH, Wolfgang: New Aspects for the Philosophical and Theological Concept of the <i>conditio humana</i> .....	191
BROWN, Dennis T., and HERNANDEZ, Raquel: Host Range Virus Mutants as Vaccines for Arthropod Vectored Viruses .....	199
DOERFLER, Walter: An Early Recognized Epigenetic Signal: DNA Methylation. Synopsis of Work from the Author’s Laboratory .....	213
DOERFLER, Walter: DNA – A Molecule in Search of Additional Functions: Recipient of Pool Wave Emissions? – A Hypothesis .....	231
NISSEN, Ulrik B.: The Human Subject and its Freedom in the Context of Genetics and Ethics. Reflections from a Christian Bioethical Perspective .....	237
BONDOLFI, Alberto: Die Grenzen der ethischen Reflexion bei den neueren Entwicklungen der Molekularbiologie .....	245
GEORGIEV, Georgii P.: The Vaccine Therapy of Cancer with Genetically Modified Tumor Cells: Approaches and Ethical Problems .....	255





## Preface

Tief ist der Brunnen der Vergangenheit,  
sollte man ihn unergründlich nennen?  
(Thomas MANN)

For thousands of years, man has been pondering the origin and conditions of our existence. Today, the questions of who we are and whence we came, about the *conditio humana*, can be reiterated with the precision that today's sophisticated natural science permits us to employ. One will, however, not be able to do justice to the complexities of life in the 21<sup>st</sup> century unless natural science does enter into a dialogue with other, seemingly unrelated, disciplines. Each age and generation have applied, not always successfully, their concepts of life and their achievements in science to improvements of the *conditio humana*. The origins of the universe and of human life puzzled our ancestors 4.000 years ago; that is a mere 160 to 200 generations ago, just as much as us in the 21<sup>st</sup> century. Although mankind's knowledge is broadly available today via the internet, most of the fundamental queries cannot be solved. The more advanced our scientific understanding, the more readily will more refined questions jump up in our minds, thus assuring the continuity of scientific research.

Today's *homo sapiens* has evolved over a few 100.000 ( $10^5$ ) years from the origin of life about 4 billion ( $10^9$ ) years ago. Apparently a limited number of individuals emigrated some 60.000 years ago from Africa and populated the rest of the world. We are equipped with approximately  $5 \times 10^{14}$  cells, among them about  $10^{11}$  neural cells, and our genetic repertoire is "limited" to  $3 \times 10^9$  genetic letters. Using this armory, humans have to brace the universe that astrophysicists estimate to have begun with the "big bang" about 13.4 billion years ago. By learning from physics, we are stunned further that only 4% of all matter is the matter perceived by our senses. 96% of the universe is purported to consist of dark matter and dark energy of which no one can be sure that they really exist. In spite of extensive research, evidence for extraterrestrial life has not been forthcoming. However, up to 340 planets outside our solar system have been discovered, many gas giants like our planet Jupiter. It is unknown whether conditions compatible with life exist on any of these planetary bodies. Nevertheless, it is not unlikely that life as we know it might exist somewhere else in the universe. Will we ever be able to discover it? All the more, are we called upon to recognize life on the planet Earth as something admirable and utterly exceptional.

Natural science and theology, the religions, ask the same questions about the origin of the universe and the *conditio humana*. The methods both disciplines employ in their quest for knowledge are completely different but their motivations are driven by similar intellectual forces. In this symposium, we have started to open a dialogue between the two disciplines on the basis of seeking a firm footing for medicine. Confronted with today's medical reality,

such a dialogue could be fruitful, even necessary, in a dual sense. On the one side, from such a discourse both disciplines could gain novel fundamental insights. Equally important, medicine needs the collaboration with the ethicists to render many of the more advanced aspects of medicine understandable and perhaps more acceptable to the ever more critical public.

In this volume and in the symposium from which it has been derived, we have offered a platform for representatives of the “two scientific cultures” (a quote from George KLEIN’s contribution) to express their thoughts related to the topic *Medicine at the Interface between Science and Ethics*. The concepts and recent accomplishments in science and medicine have to be transported to the general public also in the light of an ethical analysis to enable people without a background in the natural sciences to appreciate the importance of progress in these fields for their daily lives, particularly at a stage in their lives when they need most what modern medicine has to offer. It will be one of the paramount challenges for scientists to explain the results of their research and its implications for medicine in a way that everyone will be able to comprehend them. Acceptance of science and medicine in the public domain will be crucially dependent on the public to participate and to understand recent advances. One of the most important, yet hardest to resolve, problems of our present world is its growing overpopulation. Although of immediate relevance and dwarfing all other problems, a fair solution is not in sight.

This symposium, The Third Weissenburg Symposium, on *Medicine at the Interface between Science and Ethics* was held between May 30 and June 01, 2007 in Weissenburg, a small Frankonian town in the northern part of Bavaria. Starting in 2003, two of the organizers (W. D. and H.-G. U.) had initiated an experiment in offering a lecture course entitled *Molecular Genetics: Facts and Ethical Evaluations* at the University of Erlangen-Nürnberg which has enjoyed the interest of a sizable number of students from many different fields. The two scientists, a molecular biologist (W. D.) and a theologian (H.-G. U.) with a strong international background in Medical Ethics, had met at a parochial meeting upon the invitation by the Dean Dr. Reinhard BRANDT in Weissenburg to inform his clergy colleagues in the community about recent developments in biomedicine. The lively discussions at this meeting and during our lecture series encouraged us to launch this symposium. We were rewarded by the enthusiasm and serious mutual interest that we experienced during the symposium. The venue of a small town, previously tested in two preceding symposia on *Molecular Biology and Medicine* in 2001 and on *DNA Methylation – an Important Genetic Signal* in 2004, proved to be ideally suited for discussions branching out of the lecture hall into squares and pubs of the small town until late at night.

The names of the authors of this volume speak for themselves, and I do not need to introduce the authors to its readership. The organizers are deeply indebted to our colleagues from “both cultures” to share our optimism in supporting this experiment and to help making it a success. We also thank the *Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina – Nationale Akademie der Wissenschaften* in Halle, Germany for their encouragement, financial support, for their interest and the publication of this volume of *Nova Acta Leopoldina*. We also gratefully acknowledge support from the *Fonds der Chemischen Industrie* in Frankfurt (Main), Germany, and from the then *Oberbürgermeister* Reinhard SCHWIRZER in Weissenburg in Bayern.

Walter DOERFLER ML (Erlangen/Köln), Hans-G. ULRICH (Erlangen) and Petra BÖHM (Köln)

August 14, 2009

## Some Misunderstandings on Both Sides of the Frontier between the Two Cultures

George KLEIN (Stockholm)

### *Abstract*

The boundaries between two cultures, natural sciences and the humanities, may have shifted repeatedly since the days of C. P. SNOW, but they have never been lifted. The paper fathoms some fundamental misunderstandings at the interface between both cultures and discusses resulting implications for ethical considerations.

### *Zusammenfassung*

Die Grenze zwischen den zwei Kulturen, den Natur- und den Geisteswissenschaften, hat sich seit den Tagen von C. P. SNOW zwar wiederholt verschoben, beseitigt wurde sie jedoch nicht. Der Beitrag geht einigen grundlegenden Missverständnissen an der Grenzlinie zwischen den beiden Kulturen nach und behandelt sich daraus ergebende Implikationen für ethische Betrachtungen.

### **1. Introduction**

The border between the two cultures may not be equally continuous as in the days of C. P. SNOW but it has definitely not been abolished. At one extreme, we find the “molecular fundamentalists” who believe that the *Geisteswissenschaften* (for which there is no appropriate word in English) will disappear, once the functions of the brain have been understood in molecular terms. At the other extreme, we find a lack of appreciation for the scientific criteria that help us to distinguish between hard facts, soft facts, hypotheses and speculation.

In RUTHERFORD’S frequently quoted view, the natural sciences in the 19<sup>th</sup> century fell into two categories: physics and stamp collection. This has changed dramatically since the middle of the 20<sup>th</sup> century. Biology now occupies a respected place among the hard sciences. Following the understanding of DNA structure and the deciphering of its code, the developments have been breathtaking. This has not been greeted with universal enthusiasm on the other side of the border, however. The depreciatory stigma of “biologism” is often substituted for attempts to understanding.

One problem stems from the use of words that does not have the same connotation on the two sides of the border. One such word is “culture”. I shall illustrate this with a little story. Some time ago, I met an old friend I rarely see, an outstanding professor of linguistics, who is also known for his moderately radical political views. He spoke about the relationships between the linguistic and the genetic map of Europe, largely based on CAVALLI-SFORZA’S

work with genetic markers and Svante PÄÄBO's work on mitochondrial DNA. He knew of both approaches and had a high regard for the science. "But the conclusion is nonsense, dangerous nonsense" – he added. I was flabbergasted. He accepts the data but regards the conclusion nonsensical? It turned out that he reacted against CAVALLI-SFORZA's conclusion that, in prehistoric times, "culture migrated with the genes". (Culture meant largely agriculture and other major innovations.) To me, this conclusion was perfectly natural and even somewhat trivial. In prehistoric times, when there was no common language, and no efficient means of communications across linguistic and ethnic barriers, innovations moved with the people and, therefore, with their genes. But my linguist friend took it for granted that biologists attributed "culture" to specific, allegedly superior genes. He saw discrimination and racism as the major dangers. I tried to explain that the genetic markers used in CAVALLI-SFORZA's studies were only flags and not genes with alleged "culturally related" functions. Many of them were not genes at all but polymorphic sequences within repetitive DNA. Due to their polymorphism they could be used to trace relationships between different ethnic groups. A brilliant person in other contexts, my friend simply failed to understand my argument and stayed with his opinion about the "dangerous conclusions". What surprised me most was the basis for his reasoning. According to that, conclusions based on scientific studies should be accepted or rejected, not exclusively on the basis of the factual evidence, as customary among scientists, but also, or even primarily, **on the basis of what is seen as potential political or ideological consequences or risks**. Whether the risk assessment is justified is another matter. It can be extremely tenuous, as in the present case.

I have often encountered similar reasoning, not only among colleagues "in the other culture", but also among natural scientists, including biologists, with a strong political conviction. I shall come back to that.

Another, frequent difficulty in conversations between persons in the two cultures is the inability or unwillingness of the non-scientists to realize the distinctions scientists make between hard facts, soft facts, hypotheses and pure speculation. These borderlines may be less sharp and perhaps even less desirable in some of the humanities, compared to the natural sciences. Words with multiple meanings (like culture in the quoted case) may be part of the difficulty. Misunderstandings are not always easy to clear up since rational arguments may be blocked by suspicion or prejudice, as in the present case.

There are different subcultures even within the natural sciences, that may interfere with the free communication of ideas. In biology this has become particularly conspicuous with the advent and phenomenal rise of molecular biology.

When Barbara McCLINTOCK, sometimes called the Mendel of the 20<sup>th</sup> century, received the Nobel Prize in 1983, she appeared on the traditional Swedish TV interview program "Geniuses speculate", together with the other laureates. It is led by an interviewer who, also traditionally, tries to make the laureates to comment on "timely" topics that are often discussed in the media. McCLINTOCK remained passive through the whole program. Towards the end of the program, the interviewer directed a question to her: "Dr McClintock, how did science change since you were a student?" McCLINTOCK's eyes, that have been half closed during most of the program, were suddenly wide open. She looked straight into the camera and said: "Where have all the biologists gone?"

In today's big science, with its powerful technology that permits the analysis of thousands of genes in parallel, the tradition of conceptualization and the intense debate that characterized the great geneticists of earlier decades have become rare and far between.

In the following text, I shall not deal with changes in biology itself but will try to summarize some of the main problems in the confrontation between biologists and the general public.

## **2. Major Categories of Objections and Fears**

They can be divided into four groups: Ideological, academic-competitive, fear of abuse and fear of the unknown.

### *2.1 Ideological*

This can be subdivided into religious, conceptual, Marxist and ethical.

#### 2.1.1 Religious Objections

Creationists often speak of the “theory of evolution” and try to argue that evolutionary and creationist theories belong to the same category. In doing so, they emphasize minor discordances in the findings or interpretations of the evolutionists. This is a distorted view. Darwinian evolution of the species is a fact accepted by all biologists, fully verified and established in the premolecular era and robustly reinforced by molecular biology.

A great geneticist, Theodosius DOBZHANSKY, who was a Russian Orthodox Christian, has written an often quoted sentence in the 1940s: “Nothing makes sense in biology unless seen in an evolutionary context”.

All living creatures on this planet are built on the basis of hereditarily transmitted instructions, written in the same informational code, DNA or, in the case of the RNA viruses, RNA. There is a close relationship between all the DNA genomes that encompasses all three kingdoms, animal, plant and microbial. The extent of **gene conservation** is striking. Whenever evolution finds a solution to a general problem of cellular and organismal life, it tends to conserve it, sometimes through amazingly long distances. But it is also **dynamically flexible**. New solutions may replace old ones in response to different environments. It is also noteworthy that evolution towards greater complexity often works by the increasingly sophisticated use of a relatively limited repertoire of genes and by ever increasing intercommunication between different pathways, rather than by major increases in gene numbers.

Creationists and their recent offshoot, the protagonists of “intelligent design”, are usually quite uninterested in these scientific developments. They focus on minor discordances of fact and differences in interpretation among biologists, to support their claim that evolution is just another unproven theory. Their goal is not to explore the world around and within us with an unbiased eye, but to find support for their preconceived notions. The task of science is, in contrast, the gradual removal of preconceived notions by the critical examination of the evidence.

In discussions between biologists and anti-evolutionists, the word “**chance**” is the source of frequent misunderstandings, even between highly educated people. Ludwig WITTGENSTEIN is an outstanding example. While wandering in the Alps with his mother as a young man, he said that DARWIN must be wrong. The amazing diversity of the living world “could not have arisen by chance”. This echoes the statement of the 18<sup>th</sup> century theologian William PALEY that “no watch could be made by accident, and without a watchmaker.” Richard

DAWKINS book on evolution, *The Blind Watchmaker*, provides a perfect answer to that. In another book, *Climbing Mount Improbable*, DAWKINS compares organisms to mountain tops. Each has attained its elevated position through a long series of mutations, incomprehensibly long for our subjective concept of time which is based on our limited life span. Each new mutation has to pass the needle's eye of selection, not in one step, but continuously over millions of years. *Mountain Improbable* has a precipitous, almost perpendicular wall with forbidding cliffs to the North, and gentle grass covered slopes to the South. Critiques of evolution often argue against the role of chance, as if evolutionary theory would claim that each species reached the top by jumping from the plain to the peak in a single randomly occurring jump. No biologist claims that. They envisage a slow uphill walk along the gentle slope.

The book title of Jacques MONOD *Chance and Necessity* says it all. Chance refers to random mutations. Necessity means the selective survival of the fittest. Mutations only provide the basis for what can happen. Selection decides what actually happens. To talk about chance alone is to miss the point.

In one of his sonnets of incomparable beauty, MICHELANGELO says that every block of marble contains all imaginable sculptures. Only the hand of the artist can bring out a statue. The objection that chance cannot explain the vast variety of the living world corresponds to the obvious absurdity that the variety of art cannot be explained by the random splitting of marble blocks.

In one of his more recent books, DAWKINS quotes the argument of an intelligent lawyer against evolution. If humans would have come from a large ape, similar to a chimpanzee, there would have been a chimp who would have fathered a human son. This does not happen. Quite true. But in species, like salamanders or finches whose closely related subspecies spread over large geographical regions, neighbors differentiate slowly into subspecies. In the beginning, the closest neighbors can still generate hybrid offspring. As the distance increases, a point is reached where the extremes no longer interbreed. This is the point where one usually starts speaking about different subspecies. When the intermediates are lacking, as they usually do, because many of them have died out, the lawyer's statement may appear plausible at first sight, but it is a spurious argument.

### 2.1.2 Conceptual Objections

*Human dignity.* Depriving humans from their previously alleged special status and classifying them as "just another" primate species is experienced by some as depriving us from our human dignity. I believe that the opposite is true. I feel an enormous satisfaction over the fact that we share our genetic language with the entire living world on this planet, and by the understanding we now have for our past and present place among the species. Its most satisfying aspect is that it is **true**. We still maintain our unique distinction due to our **brain**, the source of all our cultural achievements. Laments about the loss of belief in our allegedly special position strikes me as both pretentious and contorted.

I often quote a conversation between Jonas SALK and one of his advisers, the physicist Leo SZILARD, when the Salk Institute was being built in La Jolla. SALK asked SZILARD whether it was really necessary to build a mouse house which was very expensive. SZILARD said that it was necessary because a bacterium like *E. coli* was not a man, *Drosophila* was not a man, but a mouse was a man. The mouse house was built.

Commenting on the full DNA sequence of *Drosophila*, Craig VENTER more recently said that we have to see fruit flies as “small humans with wings”. The extensive gene conservation and the many homologous functions between fly and man make this reasonable. But it does not mean that SZILARD or VENTER want to reduce us to mice or flies. It only means that we share many genes and functions. There are also many differences. It is clear that we have to deal with each level, biological, cognitive, psychological, and cultural, on its own terms, acknowledging that each level has its special language and that the whole is more than the sum of its parts.

Most but not all biologists recognize this. I have encountered one colleague, an outstanding senior molecular biologist, who claims to believe that a detailed understanding of the higher nervous system in terms of molecular structure and function, will eventually obliterate the need for psychology, sociology, and other disciplines that deal with higher neural functions in non-molecular terms. He is an intelligent person and has been a prominent leader of a major institution of molecular biology, but he has a blind spot on this point. When I pointed out that his view was like saying that you could experience a MOZART symphony in the same way from looking at the sound waves on an oscillogram as by listening to the music, he answered that an accomplished musician could hear the music when looking at a score, so why not an oscillogram? I replied that his view did not refer to an accomplished musician, but to someone who has never heard a sound in his life.

Discussing this view with other molecular biologists, I was told that this “fundamentalistic” view is not so exceptional in the younger generations of molecular biologists, but is rarely found in a senior person. I hope we can regard this as a freak.

Critics of biology sometimes say that molecular biology reduces life to chemistry, humans to animals, thoughts and feelings to neurochemical processes. It is a distorted view. The complexity of our biology and particularly our brain exceeds all man-made myths and fantasies. The most fantastic stories are not told by supernatural beings, but the ingenious solutions of evolution.

### 2.1.3 Marxist Criticism

It resembles religious criticism in being based on preconceived notions. In contrast to creationistic views, Marxist arguments may come from outstanding scientists. Richard LEWONTIN is one of the most prominent representatives. He is a widely recognized population geneticist who has made numerous important contributions. As long as he discusses the genetics of plants or animals, he stays within the accepted limits of the science. Speaking about human genetics, his views are colored by Marxistic dogma. In his view, the genetic components of human behavior have been overemphasized. In a book, written by LEWONTIN, KAMIN and ROSE, entitled *Not in Our Genes*, he tries to explain away, minimize and question all evidence on the effect of genetic factors on human behavior. Speaking about the Human Genome Project, he used the term “genomania”. Some of his arguments are purely absurd. An extreme example is his criticism of twin research. They are of no value, in his opinion, because, according to him, parents of identical twins are known to have a nearly pathological obsession to force their twins to behave in the same way. Actually, the opposite is true. Parents and the twins themselves, try to cultivate whatever differences there are. Twins who have grown up in different environments are more alike than twins who grew up in the same environment. With advancing age, as acquired characteristics tend to fall by

the wayside while genetically determined differences become more prevalent, the similarity of identical twins increases. Moreover, environmentally conditioned similarities between fraternal twins decrease with age. Also, an orphan whose parents were highly intelligent but who has been brought up in a family of average intelligence may have difficulties in school, but has a good chance to emerge as a brilliant person at middle age. An orphan who stems from a family with average intelligence but has been brought up by highly intelligent adoptive parents may achieve good results in school, but has greater difficulties after middle age.

Taken as a whole, the twin studies have shown that genetic factors may play an important role for different types of human behavior, although they always act together with the environment.

Returning to LEWONTIN, he has not directly defended the nonsensical claims of the charlatan LYSENKO, but he has at least tried to “explain them”. In a book, written together with Richard LEVINS, he has written: “Only anti reductionist, non bourgeois science would help humanity to attain the ultimate, the highest goal, a socialist world”.

In a recent book, entitled *The Blank Slate*, Steven PINKER has written a devastating criticism of politically biased science.

**Nature via nurture** is the title of Matt RIDLEY’s excellent book on these much debated issues. He stresses that two decades of studies on twins separated from the beginning, have led to the undoubted conclusion that genetic factors influence most personality traits in Western societies. Differences between dizygotic twins and sibs depend more on genetic differences than on differences in the family background.

The current consensus is that five major behavioral traits are strongly influenced by genetics (The Big Five), namely openness, conscientiousness, extroversion, agreeableness and neurotic tendencies (OCEAN). The genetic influences on these traits vary independently of each other. Twin research indicates that more than 40 % of the variation is due to genetic factors. Less than 10 % can be attributed to the common environment. About 25 % can be related to variable historical factors like disease, accidents, temporary contacts, etc. The remaining 25 % reflects sources of error.

As RIDLEY points out, heredity plays an approximately similar role for personality as for body weight. This is an illuminating metaphor, since it also illustrates how the environment can dominate under certain conditions, while genetic factors prevail under other conditions. In developing countries where the majority lives near starvation, there is a clear correlation between body weight and environmental factors (who can afford to buy food). In the Western middle classes where everybody has open access to food, variability in body weight is largely due to genetic factors.

Considering the influence of state-directed, and/or Marxist ideology on science, physiology in the Soviet Union of the mid 1900’s is a relevant example. In this case the party line of the Soviet Union has adopted a great scientist, PAVLOV, as the founder of official ideology. This turned out to be almost equally detrimental for Soviet physiology, as the adoption of a charlatan, LYSENKO, was for Soviet genetics.

The important lesson is that **any ideology becomes destructive if it is allowed to influence science**. Science must be allowed to proceed according to its own criteria, striving to remove preconceived notions and gain an increased understanding of the world outside and within us.



#### 2.1.4 General Ethical Considerations

The alleged moral responsibility of scientists for the application of scientific results is untenable in its generalized form. An important exception is the use of microorganisms for biological warfare or terrorism. This is morally condemnable. Apart from that, science has no other ethics than what concerns the truthful reporting of the results. Already the medieval philosopher CUZANOS has pointed out that the ethics of science are determined by the ethics of the society where it operates.

I see considerable danger in much of the currently prevailing discussions on the ethics of biology. It takes many of its clues from objectively irrelevant medial attention and/or unrealistic theological considerations. The debate on stem cell research is a good case in point. This pseudodiscussion is dangerous because it diverts attention from real problems that need to be faced without preconceived notions. Urgent questions include the handling of unexpected information, discovered as a side-effect of genetic testing, e.g. on the susceptibility to specific diseases like cancer or diseases of the nervous system. How much information should be provided on cognitive abilities, as information now rapidly increases? How can one prevent gene map based competition in relation to employment, advancement and marriage? Where does one draw the line between legitimate prenatal testing (for major debilitating diseases) and just another instrument of competition? How does one prevent a culture of selection as already practiced in relation to female fetuses in certain countries? These and other real problems must be faced by lawmakers, politicians, biologists, and the medical profession, unburdened by unrealistic focusing on pseudoproblems, inflated by partisan groups.

#### 2.2 Academic Competition

This is trivial, but should not be underestimated. In the humanities bordering on the natural sciences, linguistics, sociology and psychology, sometimes there is resentment against the quick advances made in biology and the support it enjoys.

#### 2.3 Fear of Abuse

When we think of eugenics, we should not primarily think of the Nazi perversion that arose by the merging of classical Christian anti-semitism with the unscientific absurdities of racial biology, but of the worldwide eugenic movement, initiated by Francis GALTON, DARWIN'S cousin, around 1860 that was soon represented at many universities of the world, including Sweden, resurfacing again in the 1950s and 1960s.

**Hubris** is one source of eugenics. As soon as we have learned something about genetics, some people jumped to the conclusion that enough was known to start tampering with the genetic material of our species. The eagerness of the "social engineers" and the *Zeitgeist* was another factor. The road to hell is paved with good intentions, as is vividly illustrated by the Swedish sterilization program.

Between 1934 and 1976, 60,000 Swedes were sterilized according to the decision of the medical authorities. Sweden is the second country after Nazi Germany that has performed the largest number of sterilizations. The amount of Swedish sterilizations actually increased after the Second World War.

Influential politicians, including some of the great ideologists of modern Swedish social democracy, advocated sterilization. Some wanted a much more drastic application than what

had become permissible according to the law of 1932. Not only voluntary but also coercive sterilization was advocated. In a seminal paper of 1935, Gunnar and Alva MYRDAL recommended, on the basis of “racial hygiene” the “eradication of all kinds of physical and psychological inferiority within the population, such as mental disease, mental retardation, physical diseases and bad character”. They admitted that the science of heredity has not yet provided methods to identify “the carriers of the undesired trait” and that even environmental factors could play an important role. Nevertheless, they criticized the view that sterilization should only be performed if the probability of serious disease or defect was nearly certain. They advocated the opposite: a widening of the area of sterilization. They were convinced that the general opinion was going to change so that sterilization would be accepted even in cases where the risk of disease was not serious.

In the second series of their recommendations, the MYRDALS spoke about “social education”. They advocated for sharper application of the law, including even low risk diseases. They supported the strictest application of the sterilization law – and if voluntary sterilization was refused, the use of coercion. Individuals who should be sterilized included those who would “offer their children such an obviously unsuitable environment that they cannot require that society should protect their life”.

Social democracy notwithstanding, this is hypocrisy, and mobbing. Today’s reader is appalled by the self righteousness that was hiding behind the facade of social concern.

On the other side of the coin, the social engineers of the blank slate theory have gone to similar extremes. Perhaps the greatest abuse that needs to be feared is the **practice of Messianism**, of whatever color.

Realistic concern today does fortunately not stem from eugenics, although the danger of its raising its ugly head is always present. Problems of confidentiality and the protection of individual privacy are prevalent. This is no greater than keeping more conventional medical secrets, like HIV infection, cancer or pregnancy, however, and can be dealt with by similar measures.

## 2.4 Fear of the Unknown

Media tend to create sensationalism. They can deal with real but highly improbable matters, or with imagined but unrealistic dangers of the new technology. It is difficult for the lay public to distinguish between real and overemphasized or imaginary dangers. The task of the newspapers is to report news. But news are not always true, and the truth based on years of serious research, is no longer news. The relative acquiescence about cigarette smoking, responsible for one third of all human cancers, can be contrasted to the sensationally created unrealistic fears e. g. about acrylamide or other substances that caused some cancers in highly artificial animal systems. The representatives of the media bear a major moral responsibility for giving a realistic picture.

## References

- DAWKINS, R.: *The Blind Watchmaker*. Harlow: Longman Scientific & Technical 1986  
DAWKINS, R.: *Climbing Mount Improbable*. London: Viking 1996  
DAWKINS, R.: *The Ancestor’s Tale: a Pilgrimage to the Dawn of Life*. London: Weidenfeld & Nicolson 2004

*Some Misunderstandings on Both Sides of the Frontier between the Two Cultures*

LEWONTIN, R., ROSE, S., and KAMIN, L.: Not in Our Genes. New York: Pantheon Books 1984

LEWONTIN, R., and LEVINS, R.: Biology under the Influence. Dialectical Essays on Ecology, Agriculture, and Health.  
New York: Monthly Review Press 2007

PINKER, S.: The Blank Slate. The Modern Denial of Human Nature. London: Allen Lane 2002

RIDLEY, M.: Nature via Nurture. Genes, Experience and What Makes Us Human. London: Fourth Estate 2003

Prof. Dr. George KLEIN  
Department of Microbiology, Tumour and Cell Biology  
Karolinska Institutet  
Box 280  
SE 17177 Stockholm  
Sweden  
Phone: +46 8 7286731  
Fax: +46 8 330498  
E-Mail: georg.klein@ki.se

## **Natur und Migration**

Vorträge anlässlich der Jahresversammlung vom 5. bis 7. Oktober 2007  
zu Halle (Saale)

Nova Acta Leopoldina N. F., Bd. 97, Nr. 358  
Herausgegeben von Harald ZUR HAUSEN (Heidelberg)  
(2008, 225 Seiten, 81 Abbildungen, 2 Tabellen, 29,95 Euro,  
ISBN: 978-3-8047-2500-3)

„Natur und Migration“ – assoziiert sehr verschiedenartige Phänomene, die sich durch Wanderungsprozesse auszeichnen. In diesem Band wurden besonders interessante Gebiete ausgewählt, u. a. Migration und Seuchen, Reisen und Epidemien in einer globalisierten Welt, der Vogelzug, aber auch die Migration geologischer Fluide, die Elektronenmigration in Halbleitern, die Migration als treibende Kraft in der Organogenese, die Biophysik der Zellbewegungen, die Migration von Tumorzellen, Migration als Phänomen in der Neurobiologie oder die Migration wissenschaftlicher Ideen. Besondere Akzente setzen die Themen „Diversität als neues Paradigma für Integration?“ und „Vorspiel der Globalisierung. Die Emigration deutscher Wissenschaftler 1933 bis 1945“.

Die Beiträge sind von herausragenden Experten der jeweiligen Gebiete, u. a. durch die Leopoldina-Mitglieder Markus AFFOLTER, Lorraine DASTON, Wolfgang FRÜHWALD, Michael FROTSCHER, Jörg HACKER, Hans KEPPLER und Otmar WIESTLER, in anspruchsvoller, aber durchaus gut verständlicher Form verfasst.

# Stem Cells, the Molecular Circuitry of Pluripotency and Nuclear Reprogramming<sup>1</sup>

Rudolf JAENISCH ML and Richard YOUNG (Cambridge, MA, USA)

With 6 Figures and 3 Tables

## Abstract

Reprogramming of somatic cells to a pluripotent embryonic stem cell-like state has been achieved by nuclear transplantation of a somatic nucleus into an enucleated egg and most recently by introducing defined transcription factors into somatic cells. Nuclear reprogramming is of great medical interest, as it has the potential to generate a source of patient-specific cells. Here, we review strategies to reprogram somatic cells to a pluripotent embryonic state and discuss our understanding of the molecular mechanisms of reprogramming based on recent insights into the regulatory circuitry of the pluripotent state.

## Zusammenfassung

Die Umprogrammierung somatischer Zellen in einen Zustand ähnlich dem pluripotenter embryonaler Stammzellen ist durch die Kerntransplantation eines somatischen Kerns in eine entkernte Eizelle gelungen sowie in jüngster Zeit erneut durch die Einbringung bestimmter Transkriptionsfaktoren in somatische Zellen. Die Kernprogrammierung ist von hohem Interesse für die Medizin, da sich mit ihr eine Quelle für patientenspezifische Zellen herstellen lässt. Es wird ein Überblick über Strategien der Reprogrammierung somatischer Zellen in einen pluripotenten Embryonalzustand gegeben und unser Wissen über die Molekularmechanismen der Reprogrammierung im Lichte neuester Forschungsergebnisse zum Regelkreis des Pluripotenzustands dargestellt.

## 1. Introduction

Stem cells – characterized by the ability to both self-renew and to generate differentiated functional cell types – have been derived from the embryo and from various sources of the postnatal animal. It is customary to classify stem cells according to their developmental potential (Tab. 1). In mammals only the zygote and early blastomeres are *totipotent* and can generate the whole organism including extraembryonic tissues. Mouse embryonic stem (ES) cells are an example of *pluripotent* cells that can self-renew and generate all cell types of the body *in vivo* and in culture but are not able to generate the extraembryonic trophoblast lineage (see ROSSANT 2008). *Multipotent* cells such as hematopoietic stem cells can give rise to all cell types within one particular lineage (see ORKIN and ZON 2008). Spermatogonial stem cells are an example of unipotent stem cells, as they can only form sperm (see CINALLI et al. 2008).

---

<sup>1</sup> Reprinted from *Cell* 132, 567–582 (2008). With kindly permission of Elsevier/Cell.

Tab. 1 Definition of some terms

Potency	Sum of developmental options accessible to cell
Totipotent	Ability to form all lineages of organism; in mammals only the zygote and the first cleavage blastomeres are totipotent
Pluripotent	Ability to form all lineages of body. Example: embryonic stem cells
Multipotent	Ability of adult stem cells to form multiple cell types of one lineage. Example: hematopoietic stem cells
Unipotent	Cells form one cell type. Example: spermatogonial stem cells (can only generate sperm)
Reprogramming	Increase in potency, dedifferentiation. Can be induced by nuclear transfer, cell fusion, genetic manipulation
Transdifferentiation, plasticity	Notion that somatic stem cells have broadened potency and can generate cells of other lineages, a concept that is controversial in mammals

Nuclear transplantation (NT), also referred to as somatic cell nuclear transfer (SCNT), denotes the introduction of a nucleus from a donor somatic cell into an enucleated oocyte to generate a cloned animal such as Dolly the sheep (WILMUT et al. 1997). The generation of live animals by NT demonstrated that the epigenetic state of somatic cells, including that of terminally differentiated cells, while stable, is not irreversibly fixed but can be reprogrammed to an embryonic state that is capable of directing development of a new organism. In addition to providing an exciting experimental approach for elucidating the basic epigenetic mechanisms involved in embryonic development and disease, nuclear cloning technology is of potential interest for patient-specific transplantation medicine. However, any medical application is hampered by the inefficiency of the cloning process, the lack of knowledge of the underlying mechanisms, and ethical concerns. One of the key issues raised by nuclear cloning relates to the mechanism of reprogramming, i.e., how to define the “reprogramming factors” in the egg cytoplasm that convert the epigenome of a somatic cell into that of an embryonic cell.

This article focuses on two main topics. We will discuss strategies to reprogram somatic cells to a pluripotent embryonic state, and we will review recent advances in defining the molecular circuitry that maintains a pluripotent state while allowing for differentiation into more specialized states in response to particular signaling cues. We will restrict our review to mammalian systems and refer the reader to a number of recent reviews on stem cells and nuclear reprogramming in other systems such as amphibians and invertebrates (GURDON and BYRNE 2003, SÁNCHEZ ALVARADO 2006, also see BIRNBAUM and SÁNCHEZ ALVARADO 2008).

## 2. Strategies of Reprogramming Somatic Cells

Several different strategies such as nuclear transplantation, cellular fusion, and culture induced reprogramming have been employed to induce the conversion of differentiated cells into an embryonic state (Fig. 1). These experimental approaches have been extensively reviewed (HOCHEDLINGER and JAENISCH 2006, YAMANAKA 2007) and will only be briefly summarized here. Instead, our main focus will be on the most recently established strategy that uses transduction of defined factors into somatic cells to induce reprogramming. In normal

development, cells transit in a unidirectional process from the totipotent zygote to pluripotent inner cell mass (ICM) and epiblast cells and to more restricted and eventually differentiated cells. These transitions occur in the context of the embryo as a result of cell-cell interactions and are characterized by distinct epigenetic modifications (GAN et al. 2007, SURANI et al. 2007). It is important to realize, however, that cells growing in tissue culture, in contrast to cells in the embryo, are exposed to different selective conditions, and this will result in cell states that are unlike those seen *in vivo*. For example, although embryonic stem (ES) cells or embryonic germ (EG) cells are derived from the ICM or from primordial germ cells, respectively, their growth and molecular characteristics are the product of tissue culture selection for rapid *in vitro* proliferation, and this invariably will result in cells that are epigenetically and biologically different from their corresponding cells of origin.

In this review we will focus on cells grown *in vitro*, and it is important to emphasize that cells adapted to proliferate in tissue culture represent only a proxy for the *in vivo* situation

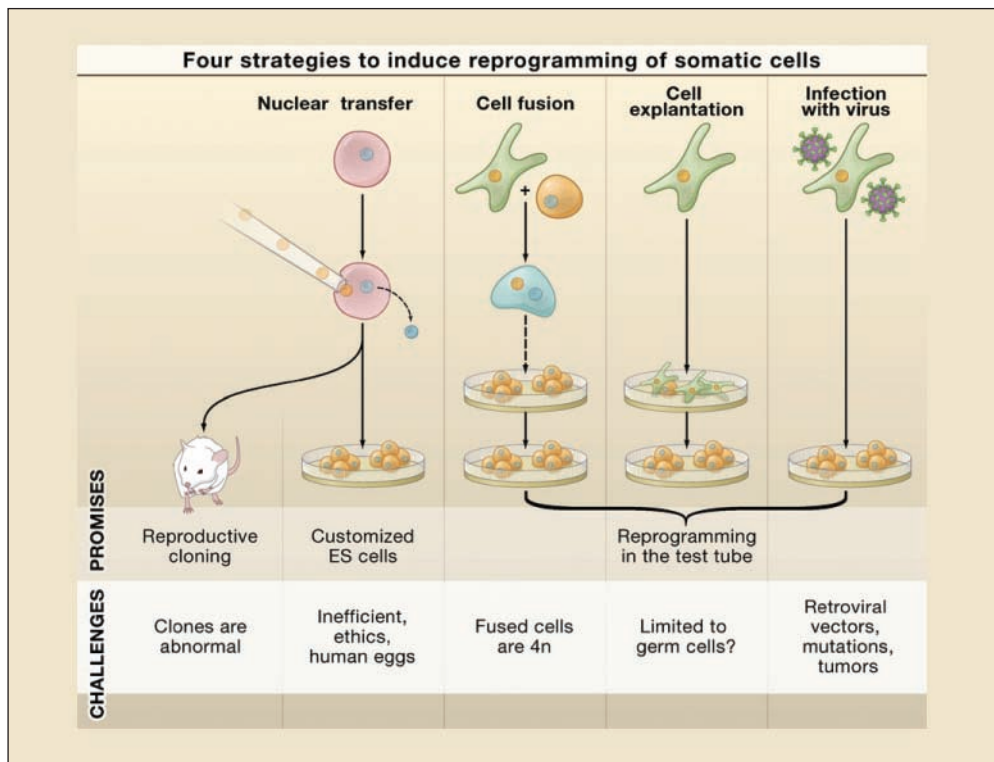


Fig. 1 Four strategies to induce reprogramming of somatic cells. (1) Nuclear transfer involves the injection of a somatic nucleus into an enucleated oocyte, which, upon transfer into a surrogate mother, can give rise to a clone (“reproductive cloning”), or, upon explantation in culture, can give rise to genetically matched embryonic stem (ES) cells (“somatic cell nuclear transfer,” SCNT). (2) Cell fusion of somatic cells with ES cells results in the generation of hybrids that show all features of pluripotent ES cells. (3) Explantation of somatic cells in culture selects for immortal cell lines that may be pluripotent or multipotent. At present, spermatogonial stem cells are the only source of pluripotent cells that can be derived from postnatal animals. (4) Transduction of somatic cells with defined factors can initiate reprogramming to a pluripotent state.

and may at best approximate the properties of cells in the embryo (GAN et al. 2007, SURANI et al. 2007). Consequently, concepts such as pluripotency, multipotency, or differentiation of cultured cells rely on operational criteria and are typically assessed by different functional and molecular standards. The least stringent functional assay for the developmental potential of a cultured cell is *in vitro* differentiation followed, with increasing stringency, by the generation of teratomas (germ cell tumors), chimera formation, and germ line contribution (Tab. 2). The most rigorous test for developmental potency is the injection of cells into 4n host blastocysts (EGGAN et al. 2001, NÁGY et al. 1990), which results in animals composed only of the injected donor cells (“all ES” embryos or animals) rather than a chimeric composite of injected and host-derived cells.

Tab. 2 Commonly used functional criteria to assess the developmental potential of cells

Assay	Experimental approach	Limitations
<i>In vitro</i> differentiation	Differentiation induced in cultured cells and cells are assayed for the expression of cell-type specific markers	The expression for differentiation markers is no test for functionality; marker expression can be due to cellular stress response
Teratoma formation	Induction of tumors demonstrating the potential to generate differentiated cell types of various lineages	Does not test for the ability of cells to promote normal development
Chimera formation	Contribution of cells to normal development following injection into host blastocyst	Host-derived cells in chimera may complement cell nonautonomous defects
Germline contribution	Ability of test cells to generate functional germ cells	Excludes genetic but not epigenetic defects that could interfere with promoting development
Tetraploid complementation	Injection of test cells into 4n host blastocyst, because 4n host cells cannot contribute to somatic lineages embryo is exclusively composed of test cells	Most stringent test for pluripotency; does not test for the ability to form trophoctoderm (placental) lineage

### 2.1 Nuclear Transplantation

Nuclear cloning provided proof for the notion that irreversible alterations of the genome are not required for normal development. However, because no genetic marker was available in the initial cloning experiments, it remained an open question whether terminally differentiated cells could be reprogrammed to a totipotent state. The successful generation of cloned mice from genetically marked lymphoid cells (HOCHEDLINGER and JAENISCH 2002, INOUE et al. 2005) or from postmitotic neurons (EGGAN et al. 2004, LI et al. 2004) unambiguously demonstrated that terminal differentiation does not restrict the potential of the nucleus to support development. Cloning from terminally differentiated donor cells is, however, inefficient and was in many instances successful only when a “two-step” procedure, which involved the generation of cloned ES cells as an intermediate, was used. These observations suggested that the differentiation state of the donor cell affects the efficiency of producing cloned animals, with less differentiated cells being more amenable to epigenetic reprogramming. For example, the generation of cloned ES cells from neurons was less efficient than that from neural stem cells (BLELLOCH et al. 2006, INOUE et al., 2007). Also, direct cloning of mice from skin



stem cells was more efficient than cloning from transiently amplifying keratinocytes (which are derived from skin stem cells but cannot self-renew and are already on the path to differentiation) (LI et al. 2007). However, because the cloning process is affected by many other parameters, such as cell cycle and the physical characteristics of the donor nucleus, it has remained unresolved whether cloning efficiency decreases with progressive cell differentiation in all cases (for discussion of this issue, see HOCHEDLINGER and JAENISCH 2006 and OBACK and WELLS 2007). For example, it has been argued that nuclei from granulocytes are more efficient donors than nuclei from hematopoietic stem cells (SUNG et al. 2006), but the validity of these claims has been challenged (HOCHEDLINGER and JAENISCH 2007).

Nuclear cloning is an inherently inefficient process due to faulty reprogramming, which results in the death of most clones soon after implantation or birth of clones with serious abnormalities (HOCHEDLINGER and JAENISCH 2003, YANG et al. 2007). It therefore became important to determine whether faulty reprogramming would affect the therapeutic utility of patient-specific or “customized” ES cells derived by NT. Subsequent experiments showed no molecular or biological differences when ES cells derived from fertilized embryos or by NT were compared (BRAMBRINK et al. 2006, WAKAYAMA et al. 2006), indicating that NT ES cells are as useful for therapeutic application as ES cells derived from fertilized embryos.

Based upon earlier results with mice, it was postulated that cloning of mammals could be accomplished only when oocytes rather than fertilized eggs were used as nuclear recipients (MCGRATH and SOLTER 1984). Given the difficulty of obtaining unfertilized human oocytes, this result posed a significant impediment to the potential of nuclear transplantation approaches for therapeutic application. It is of considerable interest, therefore, that cloned ES cells and mice can be generated from somatic donor nuclei transplanted into enucleated zygote recipients if drug-induced synchronization of donor cells and zygote is employed (EGLI et al. 2007, GREDA et al. 2006). Because fertilized human embryos are easier to obtain than unfertilized human eggs, the adaptation of this strategy to the human system would solve major practical problems that hamper the eventual application of nuclear transplantation for medicine.

## *2.2 Fusion of Somatic Cells and Embryonic Stem Cells*

Epigenetic reprogramming of somatic nuclei to an undifferentiated state has been demonstrated in murine hybrids produced by fusion of embryonic cells with somatic cells. Hybrids between various somatic cells and embryonic carcinoma cells (SOLTER 2006), embryonic germ (EG), or ES cells (ZWAKA and THOMSON 2005) share many features with the parental embryonic cells, indicating that the pluripotent phenotype is dominant in such fusion products. As with mouse (TADA et al. 2001), human ES cells have the potential to reprogram somatic nuclei after fusion (COWAN et al. 2005, YU et al. 2006). Activation of silent pluripotency markers such as Oct4 or reactivation of the inactive somatic X chromosome provided molecular evidence for reprogramming of the somatic genome in the hybrid cells. It has been suggested that DNA replication is essential for the activation of pluripotency markers, which is first observed 2 days after fusion (DO and SCHOLER 2004), and that forced overexpression of Nanog in ES cells promotes pluripotency when fused with neural stem cells (SILVA et al. 2006). However, the inefficiency of the fusion process has impeded the study of molecular mechanisms involved in somatic reprogramming.

While the fusion method does not rely on nuclear transfer to generate pluripotent cells, tetraploidy of the reprogrammed cells presents a major shortcoming for using this approach

for customized cell therapy. Although selective elimination of some ES cell-derived chromosomes is possible (MATSUMURA et al. 2007), it may be difficult to generate diploid reprogrammed cells in this way due to the risk of generating large-scale genomic instability. In another approach, short-term incubation of permeabilized somatic cells with extracts of ES cells was claimed to result in genome-wide reprogramming (TARANGER et al. 2005), but convincing evidence for reprogramming of the somatic cell genome is still lacking.

### 2.3 Culture-Induced Reprogramming

Pluripotent cells have been derived from embryonic sources such as blastomeres and the inner cell mass (ICM) of the blastocyst (ES cells), the epiblast (EpiSC cells), primordial germ cells (EG cells), and postnatal spermatogonial stem cells (“maGSCs,” “ES-like” cells) (Tab. 3) (see ROSSANT 2008 and SILVA and SMITH 2008). Donor cells from the germ cell lineage such as PGCs or spermatogonial stem cells are known to be unipotent *in vivo*, but it has been shown that pluripotent ES-like cells (KANATSU-SHINOHARA et al. 2004), or maGSCs (GUAN et al. 2006), can be isolated after prolonged *in vitro* culture. While most of these pluripotent cell types were capable of *in vitro* differentiation and teratoma formation, only ES, EG, EC, and spermatogonial stem cell-derived maGSCs or ES-like cells were pluripotent by more stringent criteria (compare Tab. 2), as they were able to form postnatal chimeras and contribute to the germline. Recently, multipotent adult spermatogonial stem cells (MASCs) were derived from testicular spermatogonial stem cells of adult mice, and these cells had an expression profile different from that of ES cells (SEANDEL et al. 2007) but similar to EpiSC cells, which were derived from the epiblast of postimplantation mouse embryos (BRONS et al. 2007, TESSAR et al. 2007). While both MASCs and EpiSCs were able to differentiate *in vitro* and to generate teratomas *in vivo*, they were unable to form chimeras in contrast to ES, EG, EC, and maGSCs cells. MASCs and EpiSCs were similar to human ES cells in many ways: they required FGF but not LIF for growth, they were able to express trophoblast markers *in vitro*, and they displayed expression profiles that were more typical of human than mouse ES cells (see ROSSANT 2008). These similarities raise the possibility that the embryonic origin of human ES cells may be the epiblast stage in contrast to that of mouse ES cells, which are derived from the ICM. It may be that the present isolation protocols of human ES cells using FGF and activin selects against “true” ES cells and results in cells that resemble mouse EpiSCs rather than mouse ES cells (LOVELL-BADGE 2007). It is possible that the existing human ES cells, the murine EpiSCs and MASCs are multipotent cell types that are endowed with a more restricted developmental potential than pluripotent mouse ES cells.

It remains an open question whether somatic stem cells derived from the postnatal animal are pluripotent and whether truly pluripotent cells can be isolated from somatic tissues by expansion in culture (as can be done with unipotential PGCs or spermatogonial stem cells). At issue is whether somatic stem cells of tissues such as the hematopoietic system, the intestine or the skin that are multipotent and can generate all cell types in their respective lineages *in vivo* are inherently plastic and capable of “transdifferentiation” into cell types of other lineages (see Tab. 1 for definitions of terms). Claims for cellular “plasticity” rest on two criteria: (1) *in vitro* differentiation to different cell types and (2) transplantation of the cells into blastocysts or postnatal mice to assess their ability to contribute *in vivo* to different tissues.

As summarized in Table 3, *in vitro* differentiation, often used as the only criterion for transdifferentiation, is the least stringent measure for pluripotency (compare Tab. 2). The ex-

Tab. 3 Generation of pluripotent cells from various sources and the different criteria used for assessing developmental potential

Donor cell/tissue	Pluripotent cells	Criteria for pluripotency					
		In vitro differentiation	Teratoma	Postnatal chimera	Germline	4n complementation	ref.
Murine oocyte	Parthogenetic ES cells	Yes	Yes	Yes	Yes	No	[1]
Blastomere	ES						[2]
ICM						Yes	[3]
PGC	EG, EC					No	[4]
Spermatogonial stem cells	GMCS, maSSC, MASC						[5]
Epiblast	EpiSC			No	No		[6]
Human oocyte	Parthogenetic ES cells						[7]
Human blastocyst	Hu ES cells						[8]
Bone marrow-derived cells	MAPC		No	?			[9]
Cord blood cells				No			[10]
Neural cells	Neurosphere derived						[11]

All cells listed were able to differentiate *in vitro*, which represents the least stringent criterion for developmental potential. Only murine oocyte, blastocyst, and spermatogonial stem cell derived cells were able to generate chimeras and contribute to the germline. References: [1] NARASIMHA et al. 1997; [2] WAKAYAMA et al. 2007; [3] EGGAN et al. 2001, EVANS and KAUFMAN 1981, MARTIN 1981; [4] MATSUI et al. 1992, RESNICK et al. 1992; [5] GUAN et al. 2006, KANATSU-SHINOHARA et al. 2004, SEANDEL et al. 2007; [6] BRONS et al. 2007, TESAR et al. 2007; [7] CIBELLI et al. 2002, REVAZOVA et al. 2007; [8] THOMSON et al. 1998; [9] JIANG et al. 2002, PHINNEY and PROCKOP 2007; [10] VAN DE VEN et al. 2007; [11] CLARKE et al. 2000.

pression of a limited set of differentiation markers as assayed in most studies is often insufficient for concluding that a cell has been converted to a new state of differentiation and cellular function. A case in point is the activation of commonly used neural differentiation markers such as nestin, NeuroD1, and beta-III-tubulin in bone marrow or skin-derived cells, which can reflect a cellular stress response rather than indicating differentiation into the neural lineage (CROFT and PRZYBORSKI 2006, NEUHUBER et al. 2004). Thus, the ability of aberrant responses of lineage-restricted cells to inappropriate physiological signals may be due to “cellular-mimicry” (RIZZINO 2007) and may not reflect transdifferentiation to another lineage.

Claims for *in vivo* transdifferentiation of cells derived from bone marrow, brain, or skin to cells of different lineages have remained controversial because of flaws in experimental design or interpretation (JOSEPH and MORRISON 2005, WAGERS and WEISSMAN 2004). For example, the presence of genetically marked cells in nonhematopoietic tissues such as heart, muscle, or brain recipients after transplantation of marked bone marrow cells may be due to the circulation and homing of the transplanted cells to the respective tissues (BALSAM et al. 2004, MURRY et al. 2004) rather than to transdifferentiation of the cells. Alternatively, autofluorescence may explain the detection of GFP marker expression rather than the incorporation of donor cells into tissues of transplanted mice (JACKSON et al. 2004). In addition, fusion between donor and recipient cells may account for the expression of the donor marker in cells of the host (ALVAREZ-

DOLADO et al. 2003, TERADA et al. 2002, WANG et al. 2003, YING et al. 2002). For example, the detection of amniotic stem cell-derived cells in the brains of adult mice that were injected as newborns (DE COPPI et al. 2007) is not a sufficiently strong criterion for transdifferentiation in the absence of stringent characterization of cell-specific marker expression and functional integration of the donor-derived cells into the host tissue. While it is possible that prolonged *in vitro* culture induces transdifferentiation and pluripotency, this has not been clearly proven. For instance, although bone marrow-derived MAPCs (multipotential adult progenitor cells) were able to express various differentiation-specific markers upon *in vitro* differentiation, they were unable to generate teratomas (JIANG et al. 2002). Injection of cells into blastocysts has been used as a more stringent assay for pluripotency. Though the generation of a single high-contribution postnatal chimera from MAPCs was reported (JIANG et al. 2002), this result has not been independently confirmed to date. Also, the mere detection of marked cells in midgestation embryos (CLARKE et al. 2000) provides insufficient evidence to conclude that the donor cells “contributed to development”. The demonstration of functional integration of donor cells into viable late-stage embryos or postnatal chimeras is needed to make this conclusion. Finally, the evaluation of plasticity and transdifferentiation is further complicated by the observation that soluble factors secreted by mesenchymal stem cells can alter the tissue microenvironment after transplantation (for recent review of this controversial field, see PHINNEY and PROCKOP 2007).

In summary, pluripotency and transdifferentiation of somatic cells remains an unproven concept. While unexpected transformation events may occur in somatic lineages, such events are exceedingly rare, are not a major force in physiological repair, and may simply be due to events such as cell fusion.

#### 2.4 Reprogramming by Defined Transcription Factors

TAKAHASHI and YAMANAKA recently achieved a significant breakthrough in reprogramming somatic cells back to an ES-like state (TAKAHASHI and YAMANAKA 2006). They successfully reprogrammed mouse embryonic fibroblasts (MEFs) and adult fibroblasts to pluripotent ES-like cells after viral-mediated transduction of the four transcription factors Oct4, Sox2, c-myc, and Klf4 followed by selection for activation of the Oct4 target gene *Fbx15* (Fig. 2A).

Cells that had activated *Fbx15* were coined iPS (induced pluripotent stem) cells and were shown to be pluripotent by their ability to form teratomas, although they were unable to generate live chimeras. This pluripotent state was dependent on the continuous viral expression of the transduced *Oct4* and *Sox2* genes, whereas the endogenous *Oct4* and *Nanog* genes were either not expressed or were expressed at a lower level than in ES cells, and their respective promoters were found to be largely methylated. This is consistent with the conclusion that the *Fbx15*-iPS cells did not correspond to ES cells but may have represented an incomplete state of reprogramming. While genetic experiments had established that Oct4 and Sox2 are essential for pluripotency (CHAMBERS and SMITH 2004, IVANOVA et al. 2006, MASUI et al. 2007), the role of the two oncogenes *c-myc* and *Klf4* in reprogramming is less clear. Some of these oncogenes may, in fact, be dispensable for reprogramming, as both mouse and human iPS cells have been obtained in the absence of *c-myc* transduction, although with low efficiency (NAKAGAWA et al. 2008, WERNIG et al. 2008, YU et al. 2007).

When activation of the endogenous *Oct4* or *Nanog* genes was used as a more stringent selection criterion for pluripotency (Fig. 2B), the resulting Oct4-iPS or Nanog-iPS cells, in contrast to *Fbx15*-iPS cells, were fully reprogrammed to a pluripotent, ES cell state by mo-

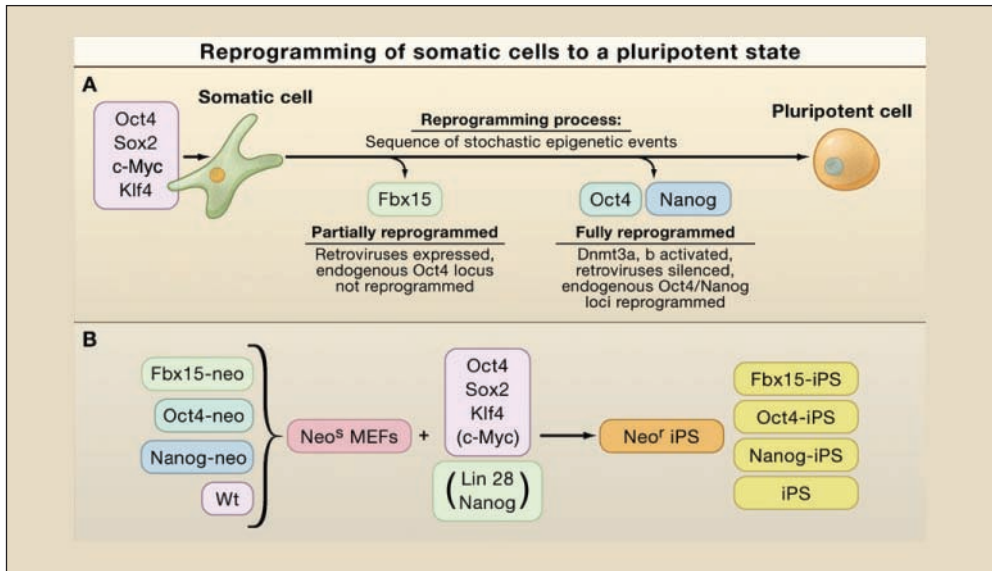


Fig. 2 Reprogramming of somatic cells to a pluripotent state. (A) Transduction of the four transcription factors Oct4, Sox2, c-myc, and Klf4 into fibroblasts initiates the conversion to partially reprogrammed cells that express Fbx15 or to fully reprogrammed iPS cells that express Oct4 or Nanog. The process involves a sequence of stochastic epigenetic events. (B) Selection schemes. Cells carrying a drug resistance marker in the Fbx15, the Oct4, or the Nanog gene are transduced with the four factors and selected for drug resistance.

lecular and biological criteria (MAHERALI et al. 2007, OKITA et al. 2007, WERNIG et al. 2007). (1) Global gene expression and the chromatin configuration of Oct4 or Nanog-selected iPS cells were indistinguishable from those of ES cells. (2) In contrast to Fbx15-iPS cells, the pluripotent state in Oct4 or Nanog-iPS cells depended on the activity of the fully reprogrammed and hypomethylated endogenous *Oct4* and *Nanog* promoters and not on the virally transduced factors. This is because the Moloney virus vectors, while highly expressed in the infected fibroblasts, were inactive in Oct4- and Nanog-iPS cells, consistent with the well-established evidence that Moloney viruses are strong targets for silencing in embryonic cells (JÄHNER et al. 1982, OKANO et al. 1999) due to activation of the *de novo* methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b during the reprogramming process. (3) Similar to somatic cell-ES cell fusion hybrid cell-mediated reprogramming, the inactive X chromosome of the somatic donor cells was reactivated in iPS cells (MAHERALI et al. 2007). (4) Importantly, Oct4 and Nanog iPS cells generated postnatal chimeras, contributed to the germ line (MAHERALI et al. 2007, OKITA et al. 2007, WERNIG et al. 2007), and generated late gestation embryos through tetraploid complementation (WERNIG et al. 2007), the most stringent test for developmental potency (Tab. 2). Thus, all molecular and biological evidence indicated that Oct4 and Nanog iPS cells were indistinguishable from, if not identical to, ES cells. (5) Pluripotency markers such as alkaline phosphatase (AP), SSEA1, and Oct4 or Nanog appear sequentially during the reprogramming process (Fig. 3A); (BRAMBRINK et al. 2008, WERNIG et al. 2007, STADTFELD et al. 2008). (6) Finally, evidence obtained by using inducible lentivirus-based vectors indicated that the four factors must be expressed in the infected MEFs for more than 12 days in order to generate iPS cells (BRAMBRINK et al. 2008) (Fig. 3A).

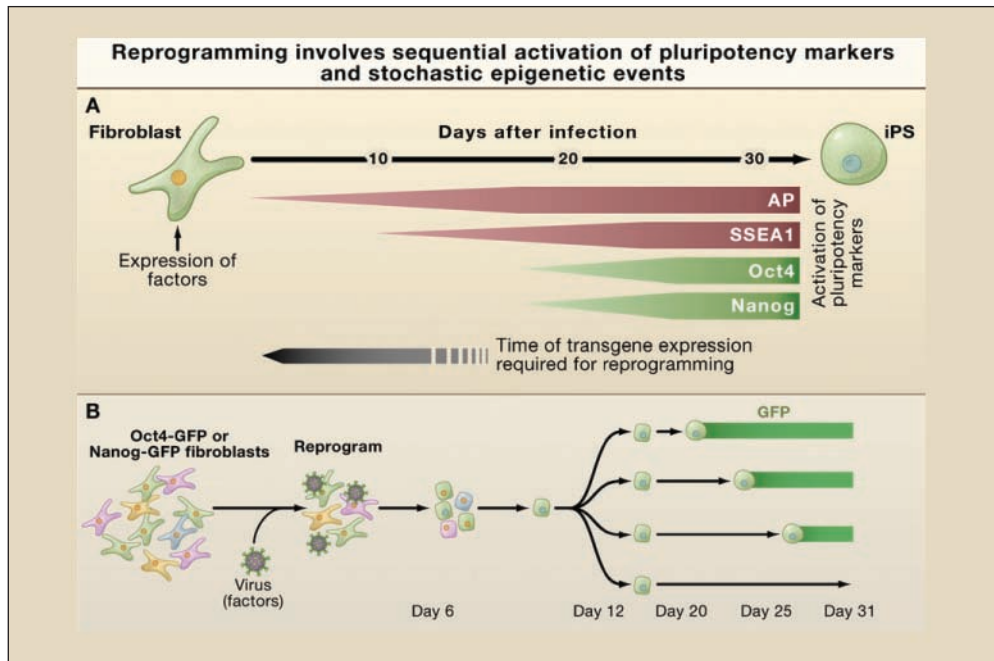


Fig. 3 Reprogramming involves sequential activation of pluripotency markers and stochastic epigenetic events. (A) Kinetics of pluripotency-marker appearance. Alkaline phosphatase (AP) and SSEA1 positive cells are already detected 3 and 9 days, respectively, after factor transduction, whereas GFP expressed from the endogenous Oct4 or Nanog loci first appear only after 2 weeks. The virally transduced factors need to be expressed for about 2 weeks to initiate the reprogramming process (BRAMBRINK et al. 2008). (B) Oct4-GFP or Nanog-GFP fibroblasts were transduced with the four factors. Colonies displaying a transformed phenotype were GFP negative and were cloned a few days after infection. Further cloning yielded subclones that activated GFP at different times (MEISSNER et al. 2007). Because the subclones were derived from the same infected cell, stochastic epigenetic events must be important for reprogramming.

Expression of the reprogramming factors in fibroblasts appears to initiate a sequence of stochastic events that eventually leads to a small fraction of iPS cells. This is supported by clonal analyses demonstrating that the activation of pluripotency markers can occur at different times after infection in individual mitotic daughter cells of the same infected fibroblast (MEISSNER et al. 2007). Thus, ectopic expression of Oct4, Sox2, c-myc, and Klf4 may trigger a sequence of epigenetic events such as chromatin modifications or changes in DNA methylation that eventually result in the pluripotent state of some infected cells but not others even though they carry the identical combination of proviruses (Fig. 3B). These experiments also suggested that the frequency of reprogramming increased with time, resulting in up to 0.5 % of the input MEFs giving rise to iPS cells at 3 to 4 weeks after infection (MEISSNER et al. 2007). An unresolved issue is whether the partially reprogrammed iPS cells selected for the activation of Fbx15 (TAKAHASHI and YAMANAKA 2006) correspond to stable intermediates in the reprogramming process to fully reprogrammed iPS cells (Fig. 2A) or whether they represent a genetically homogeneous population of cells that are at different stages of stochastic reprogramming (Fig. 3B).

The original isolation of iPS cells was based upon retrovirus-mediated transduction of oncogenes and on drug-dependent selection for Fbx15, Oct4, or Nanog activation. These two experimental requirements seriously hinder the eventual application of the *in vitro* reprogramming approach for therapeutic use in humans because mice derived from iPS cells frequently developed cancer (OKITA et al. 2007) and because the isolation of human iPS cells cannot be based on genetically modified donor cells. Some of these limitations have been overcome in recent experiments. First, in an effort to reduce the risk of tumors in iPS cell-derived chimeras, more recent experiments showed that c-myc is dispensable for reprogramming (NAKAGAWA et al. 2008, WERNIG et al. 2008, YU et al. 2007), though the reprogramming process was significantly delayed and less efficient in the absence of this oncogene. While mice derived from these iPS cells will not develop c-myc-induced tumors (NAKAGAWA et al. 2008, WERNIG et al. 2008), it is not clear whether the transduction of other retrovirus-transduced transcription factors such as Oct4 (HOCHEDLINGER et al. 2005) will cause tumors at later stages. Second, fully reprogrammed, genetically unmodified mouse fibroblasts were isolated based only on morphological criteria, as reprogramming occurred frequently enough to be detectable in culture (BLELLOCH et al. 2007, MEISSNER et al. 2007). Subsequent to these studies, human iPS cells were isolated from genetically unmodified fibroblasts (TAKAHASHI et al. 2007, YU et al. 2007, PARK et al. 2008), indicating that combinations of factors similar to those used for reprogramming of mouse cells was also effective for human cells.

Which of the original factors are essential for the reprogramming process? It appears that c-myc significantly enhances and accelerates the process but is dispensable. Also, human iPS cells have been obtained by exposing fibroblasts only to Oct4, Sox2, and lin28 (YU et al. 2007), an RNA-binding protein, suggesting that alternative combinations of factors may initiate reprogramming. It is possible that Oct4, which in normal development is already expressed in the oocyte and may be the most upstream gene in the molecular circuitry of pluripotency (see later), is the only obligatory factor to initiate reprogramming and that other factors serve to accelerate the process and to increase efficiency.

One of the promises of patient-specific ES cells is the potential for customized therapy of diseases (see WU et al. 2008 and MURRY and KELLER 2008). Previous studies have shown that disease-specific ES cells produced by nuclear cloning in combination with gene correction can be used to correct an immunological disorder in a proof-of-principle experiment in mice (RIDEOUT et al. 2002). In a similar approach, we recently demonstrated that iPS cells derived from skin cells of a mouse with sickle cell anemia were able to fully restore normal blood function when transplanted into diseased mice (HANNA et al. 2007).

### **3. Molecular Circuitry of Pluripotency**

The gene-expression program of pluripotent ES cells is a product of regulation by specific transcription factors, chromatin-modifying enzymes, regulatory RNA molecules, and signal-transduction pathways (Fig. 4). Recent studies have provided new insights into how the key ES cell regulators work together to produce the pluripotent state.

#### *3.1 ES Cell Transcription Factors*

Genetic studies first showed that the homeodomain transcription factors Oct4 and Nanog are essential regulators of early development and ES cell identity (CHAMBERS et al. 2003, CHAM-

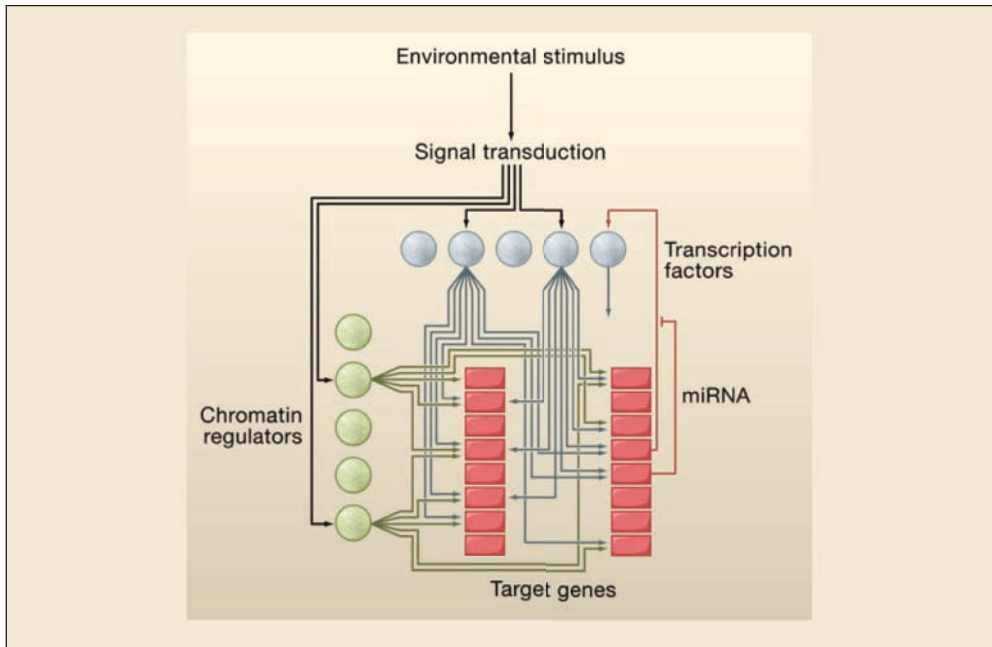


Fig. 4 Pluripotency and the transcriptional regulatory circuitry. Cartoon showing hypothetical connections between signal transduction pathways, transcription factors (blue balls), chromatin regulators (green balls), and their target genes (orange squares) to form an image of transcriptional regulatory circuitry. Some target genes produce miRNAs, which function at posttranscriptional levels.

BERS and SMITH 2004, MITSUI et al. 2003, NICHOLS et al. 1998). These transcription factors are expressed both in pluripotent ES cells and in the inner cell mass (ICM) of the blastocyst from which ES cells are derived. Disruption of Oct4 and Nanog causes loss of pluripotency and inappropriate differentiation of ICM and ES cells to trophectoderm and extraembryonic endoderm, respectively (CHAMBERS et al. 2003, NICHOLS et al. 1998, YING et al. 2002). However, recent evidence suggests that Nanog may function to stabilize the pluripotent state rather than being essential for maintaining pluripotency of ES cells (CHAMBERS et al. 2007, see also SILVA and SMITH 2008). Oct4 can heterodimerize with the HMGbox transcription factor Sox2 in ES cells and Sox2 contributes to pluripotency, at least in part, by regulating Oct4 levels (MASUI et al. 2007). Oct4 is rapidly and apparently completely silenced during early cellular differentiation. The key roles played by Oct4, Sox2, and Nanog during early development, and their unique expression pattern (CHAMBERS et al. 2003, HART et al. 2004, NICHOLS et al. 1998) make it likely that these regulators are central to the transcriptional regulatory hierarchy that specifies embryonic stem cell identity.

Identification of the genes occupied by Oct4, Sox2, and Nanog through genome-wide location analysis has provided insights into the molecular mechanisms by which these transcription factors contribute to pluripotency in human and murine ES cells (BOYER et al. 2005, LOH et al. 2006). These experiments yielded three key findings (Fig. 5): (1) Oct4, Sox2, and Nanog bind together at their own promoters to form an interconnected autoregulatory loop,



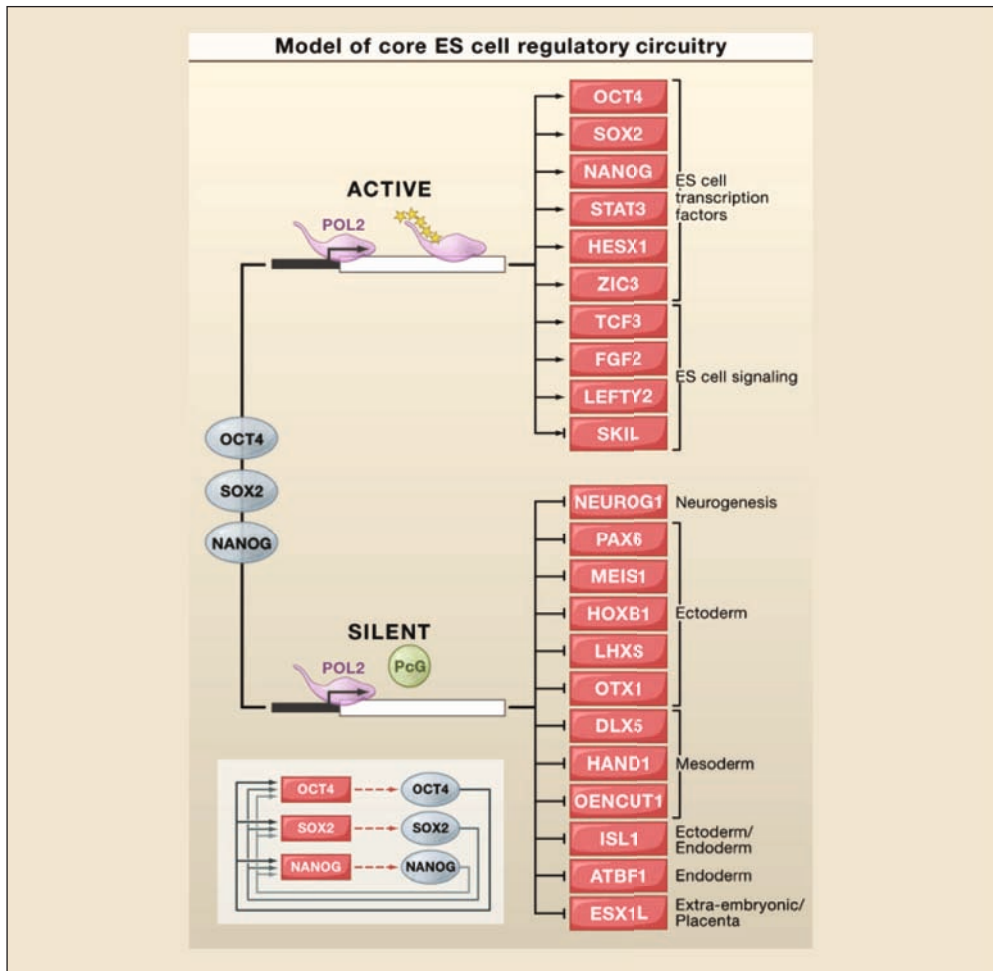


Fig. 5 Model of core ES cell regulatory circuitry. The Oct4, Sox2, and Nanog transcription factors (blue) occupy actively transcribed genes, including transcription factors and signaling components necessary to maintain the ES cell state. The three regulators also occupy silent genes encoding transcription factors that, if expressed, would promote other more differentiated cell states. At this latter set of genes, RNA polymerase II (POL2) initiates transcription but does not produce complete transcripts due to the repressive action of PcG proteins. The PcG proteins prevent RNA polymerase from transitioning into a fully modified transcription elongation apparatus (represented by phosphorylated "stars" on the tail of the POL2 enzyme). The interconnected autoregulatory loop, where Oct4, Nanog, and Sox2 bind together at each of their own promoters, is shown (*bottom left*).

(2) the three factors often co-occupy their target genes, and (3) Oct4, Sox2, and Nanog collectively target two sets of genes, one that is actively expressed and another that is silent in ES cells but remains poised for subsequent expression during cellular differentiation (BOYER et al. 2005). These observations, described in more detail below, revealed key features of the genetic logic of pluripotency and provided clues as to how multiple transcription regulators can coordinately control cell identity.

### 3.2 Autoregulatory Circuitry

Oct4, Sox2, and Nanog all bind to their own promoters, as well as the promoters of the genes encoding the two other factors (Fig. 5) (BOYER et al. 2005). This autoregulatory circuitry suggests that the three factors function collaboratively to maintain their own expression. Autoregulation is thought to enhance the stability of gene expression (ALON 2007), which may facilitate maintenance of the pluripotent state. Autoregulatory loops appear to be a general feature of master regulators of cell state (ODOM et al. 2006). Functional studies have confirmed that Oct4 and Sox2 co-occupy and activate the Oct4 and Nanog genes (KURODA et al. 2005, OKUMURA-NAKANISHI et al. 2005), and experiments with an inducible Sox2 null murine ES-cell line have provided compelling evidence for the existence of this interconnected autoregulatory loop and its role in the maintenance of pluripotency (MASUI et al. 2007). The interconnected autoregulatory loop formed by Oct4, Sox2, and Nanog also suggests how the core regulatory circuitry of iPS cells might be jump-started when Oct4, Sox2, and other transcription factors are overexpressed in fibroblasts (MAHERALI et al. 2007, OKITA et al. 2007, TAKAHASHI and YAMANAKA 2006, WERNIG et al. 2007). When these factors are exogenously overexpressed, they may contribute directly to the activation of endogenous Oct4, Sox2, and Nanog, the products of which in turn contribute to the maintenance of their own gene expression.

### 3.3 Co-Occupancy and Coordinate Activity of Pluripotency Factors

Oct4, Sox2, and Nanog co-occupy several hundred genes, often at apparently overlapping genomic sites (BOYER et al. 2005, LOH et al. 2006). This suggests that these pluripotency factors generally do not control their target genes independently, but rather act coordinately to maintain the transcriptional program required for pluripotency. A large multiprotein complex containing Oct4 and Nanog can be obtained by iterative immunoprecipitation in ES cells, providing further evidence that multiple interacting proteins likely coordinately control pluripotency (WANG et al. 2006). The possibility that multiple pluripotency factors function in a complex to coordinately control their target genes may help explain why efficient iPS cell generation appears to require the combinatorial overexpression of multiple transcription factors. Not all components of this putative complex are required to initiate the process of reprogramming, however, because exogenous Nanog is not necessary for iPS generation. It seems likely that exogenous Oct4 and other factors induce expression of endogenous Nanog to levels sufficient to accomplish full reprogramming.

### 3.4 Regulation of Developmental Regulators

The master regulators of pluripotency occupy the promoters of active genes encoding transcription factors, signal transduction components, and chromatin-modifying enzymes that promote ES cell self-renewal (Fig. 5) (BOYER et al. 2005, LOH et al. 2006). However, these transcriptionally active genes account for only about half of the targets of Oct4, Sox2, and Nanog in ES cells. These master regulators also co-occupy the promoters of a large set of developmental transcription factors that are silent in ES cells, but whose expression is associated with lineage commitment and cellular differentiation (BOYER et al. 2005, LOH et al. 2006). Silencing of these developmental regulators is almost certainly a key feature of pluripotency, because expression of these developmental factors is associated with commitment to particular lineages. MyoD, for

example, is a transcription factor capable of inducing a muscle gene expression program in a variety of cells (DAVIS et al. 1987). Therefore Oct4, Sox2, and Nanog likely help maintain the undifferentiated state of ES cells by contributing to repression of lineage specification factors.

Most of the transcriptionally silent developmental regulators targeted by Oct4, Sox2, and Nanog are also occupied by the Polycomb group (PcG) proteins (BERNSTEIN et al. 2006, BOYER et al. 2006, LEE et al. 2006), which are epigenetic regulators that facilitate maintenance of cell state through gene silencing. The PcG proteins form multiple polycomb repressive complexes (PRCs), the components of which are conserved from *Drosophila* to humans (SCHUETTENGROBER et al. 2007). PRC2 catalyzes histone H3 lysine-27 (H3K27) methylation, an enzymatic activity required for PRC2-mediated epigenetic gene silencing. H3K27 methylation is thought to provide a binding surface for PRC1, which facilitates oligomerization, condensation of chromatin structure, and inhibition of chromatin remodeling activity in order to maintain silencing. PRC1 also contains a histone ubiquitin ligase, Ring1b, whose activity appears likely to contribute to silencing in ES cells (STOCK et al. 2007). How the PcG proteins are recruited to genes encoding developmental regulators in ES cells is not yet understood. Some of the most conserved vertebrate sequences are associated with genes encoding developmental regulators, and some of these may be sites for DNA-binding proteins that recruit PcG proteins.

Recent studies revealed that the silent developmental genes that are occupied by Oct4, Sox2, and Nanog and PcG proteins experience an unusual form of transcriptional regulation (GUENTHER et al. 2007). These genes undergo transcription initiation but not productive transcript elongation in ES cells (Fig. 5). The transcription initiation apparatus is recruited to the promoters of genes encoding developmental regulators, where histone modifications associated with transcription initiation and the initial step of elongation (such as H3K4 methylation) are found, but RNA polymerase is incapable of fully transcribing these genes, presumably because of repression mediated by the PcG proteins. These observations explain why the silent genes encoding developmental regulators are generally organized in “bivalent” domains that are occupied by nucleosomes with histone H3K4me3, which is associated with gene activity, and by nucleosomes with histone H3K27me3, which is associated with repression (AZUARA et al. 2006, BERNSTEIN et al. 2006, GUENTHER et al. 2007).

The presence of RNA polymerase at the promoters of genes encoding developmental regulators (GUENTHER et al. 2007) may explain why these genes are especially poised for transcription activation during differentiation (BOYER et al. 2006, LEE et al. 2006). Polycomb complexes and associated proteins may serve to pause RNA polymerase machinery at key regulators of development in pluripotent cells and in lineages where they are not expressed. At genes that are activated in a given cell type, PcG proteins and nucleosomes with H3K27 methylation are lost (BERNSTEIN et al. 2006, BOYER et al. 2006, LEE et al. 2006, MIKKELSEN et al. 2007), allowing the transcription apparatus to fully transcribe these genes. The mechanisms that lead to selective activation of genes encoding specific developmental regulators are not yet understood, but they almost certainly involve signals brought to the genome by signal transduction pathways and likely involve H3K27 demethylation by enzymes such as the JmjC domain-containing UTX and JMJD3 proteins (LAN et al. 2007).

### *3.5 Regulatory RNAs in Pluripotency and Early Development*

Targeted deletions in mice suggest that microRNAs (miRNAs) are likely to play key roles in ES cell gene regulation (KANELLOPOULOU et al. 2005, MURCHISON et al. 2005, WANG et al.

2007), but little is known about how miRNAs function to control the developmental potential of ES cells. Several lines of evidence indicate that miRNAs contribute to the control of pluripotency and early development. A subset of miRNAs is preferentially expressed in ES cells or mammalian embryonic tissue (HOUBAVIY et al. 2003, MINENO et al. 2006, SUH et al. 2004). Dicer-deficient mice fail to develop (BERNSTEIN et al. 2003) and ES cells deficient in miRNA processing enzymes show defects in differentiation, self-renewal, and perhaps viability (KANELLOPOULOU et al. 2005, MURCHISON et al. 2005, WANG et al. 2007). Specific miRNAs have been shown to participate in mammalian cellular differentiation as well as developmental patterning and morphogenesis (CHEN et al. 2004, 2006, HARFE et al. 2005, HORNSTEIN et al. 2005, KRICHEVSKY et al. 2006, MANSFIELD et al. 2004, YEKTA et al. 2004). However, how transcription factors and miRNAs function together in the regulatory circuitry that controls pluripotency and early development is not yet understood.

### 3.6 Signaling and Epigenetic Modifications during Differentiation

Pluripotent embryonic stem cells can be maintained in an undifferentiated state in culture, but are poised to rapidly differentiate. Extracellular signals have been identified that contribute to the maintenance of ES cell pluripotency or that stimulate differentiation down defined lineages. One such signaling molecule is LIF, which can help maintain murine ES cells in an undifferentiated state *in vitro*, although it is not necessary for pluripotency *in vivo* (SMITH et al. 1988). Other soluble factors, including Wnt, activin/nodal, and bFGF, have also been shown to contribute to maintenance of pluripotency, at least under certain culture conditions (OGAWA et al. 2006). Furthermore, human ES cells – and the human fibroblasts on which they were plated – have been reported to send reciprocal paracrine signals of FGF and IGF, respectively, sufficient to maintain the pluripotency of the ES cells (BENDALL et al. 2007). These findings suggest that various signals help to establish a local microenvironment *in vitro* and presumably *in vivo* that helps to maintain pluripotency (see ROSSANT 2008, SILVA and SMITH 2008, MURRY and KELLER 2008).

Signaling pathways also play key roles in promoting directed cellular differentiation. For example, activation of the Notch and BMP4 pathways can promote differentiation of ES cells (CHAMBERS and SMITH 2004, LOWELL et al. 2006). The Notch pathway has been shown to promote neural differentiation in both human and mouse embryonic stem cells. BMP4, on the other hand, can under certain conditions prevent neural cell differentiation while inducing differentiation into other cell types (CHAMBERS and SMITH 2004).

When cell lineage commitment occurs, Oct4 is rapidly silenced and the appropriate regulators of development lose Polycomb-mediated repression and are activated. Oct4 and other regulators of pluripotency are highly restricted in their expression pattern to ES cells, cells of the inner cell mass, and to cells of the germ line (LENGNER et al. 2007). Ectopic expression of Oct4 has been shown to lead to rapid and massive expansion of poorly differentiated cells, especially in the intestine, and rapid fatality, highlighting the strong evolutionary pressure to ensure complete silencing of pluripotency regulators in somatic cells (HOCHEDLINGER et al. 2005). Indeed, deletion of the gene in stem cells of adult mice has no functional consequences (LENGNER et al. 2007), consistent with the notion that Oct4 has no role in the self-renewal of somatic stem cells or in tissue homeostasis, as has been suggested in many reports. Retinoic acid, a particularly well-characterized inducer of differentiation, has been shown to directly contribute to silencing of the Oct4 locus (OKAMOTO et al. 1990, PIKARSKY et al. 1994). In ad-

dition, a set of nuclear repressors has been identified that are induced in differentiating cells and are required for proper silencing of Oct4, including ARP-1, COUP-TF1, and GCNF (also referred to as Nr6a1) (BEN-SHUSHAN et al. 1995, FUHRMANN et al. 2001, GU et al. 2005, 2006). Histone modifications associated with gene activity, including H3K4me3 and H3K7 and H3K9 acetylation, are lost at *Oct4*. Histone modifications associated with heterochromatin, H3K9me2 and me3, are gained in a G9a histone methyltransferase-dependent manner (FELDMAN et al. 2006). Finally, in a process dependent on *de novo* DNA methyltransferases DNMT3a/3b, which are recruited directly or indirectly by G9a, the *Oct4* promoter undergoes CpG DNA methylation. Thus *Oct4* and other ES cell-specific genes, including *Rex1*, but not *Nanog* or *Sox2*, undergo a multistep, tightly regulated form of silencing, during which they adopt an epigenetic state characteristic of heterochromatin (FELDMAN et al. 2006). These epigenetic changes appear to enforce a more stable form of silencing compared to the more labile epigenetic silencing associated with H3K27 methylation at genes that must be dynamically regulated during development. As discussed below, these multilayered marks of epigenetic silencing, including H3K9 methylation and DNA methylation, must be progressively removed in the process of generating iPS cells from somatic cells.

#### **4. Molecular Mechanisms of Reprogramming**

Our initial understanding of the molecular circuitry of the pluripotent state provides insight into the mechanisms involved in reprogramming. The loss of most cloned embryos after implantation has been correlated with the faulty activation of the silent endogenous pluripotency genes such as Oct4, Nanog, and Sox2 (BOIANI et al. 2002, BORTVIN et al. 2003). Similarly, the maintenance of the pluripotent state in iPS cells following transcription factor transduction has been shown to be dependent on the activation of the silent endogenous pluripotency genes. Any molecular understanding of the reprogramming process needs to explain why the process, initiated by ectopic expression of Oct4, Sox2, and other factors, is gradual and proceeds over several weeks and why only a small fraction of the infected fibroblasts eventually become pluripotent iPS cells. As outlined in Figure 3B, sequential stochastic events seem to be important in the process, and this could contribute to the low overall efficiency of generating iPS cells and for the prolonged duration of the reprogramming process. In addition, genetic differences between individual infected cells may add significant variability to the frequency of iPS cells. For example, because iPS cells carry multiple proviral copies (WERNIG et al. 2007), it is possible that only those rare cells that carry a high copy number of proviral inserts and thus express the transcripts at high levels or at appropriate relative levels are selected for epigenetic reprogramming. Alternatively, reprogramming may require the additional activation of as-yet-unidentified cellular genes by insertional mutagenesis similar to oncogene activation in leukemia or mammary carcinogenesis. Finally, it is possible that only specific cells such as the rare somatic stem cells present in the donor cell population rather than any cell are susceptible to reprogramming.

Furthermore, any mechanistic explanation of reprogramming has to take into account the following observations. (1) The process of reprogramming involves intermediate cell states. For example, drug-resistant clones can be obtained in cultures of cells carrying a *neomycin* gene in the Oct4 or Nanog locus by 3–6 days after infection (MAHERALI et al. 2007, OKITA et al. 2007, WERNIG et al. 2007), whereas the GFP marker carried in the same genes becomes

detectable only weeks after infection (BRAMBRINK et al. 2008, MEISSNER et al. 2007) (Fig. 6A). This discrepancy in timing between the appearance of antibiotic resistance and protein detection could be due to a low level of initial expression that is sufficient to render the partially reprogrammed cells drug resistant, but below the level required to visualize GFP and maintain pluripotency (Fig. 6B). (2) The pluripotent state is dominant in ES-somatic cell hybrids. (3) Multiple DNA replication cycles and cell divisions are required for *in vitro* reprogramming. (4) DNA *de novo* methylation and hypomethylation are likely to be important for the process of reprogramming and maintaining the pluripotent state. (5) The oncogenes *c-myc* and *Klf4*, while not essential for reprogramming, seem to enhance the efficiency and speed of the process. (6) PcG proteins and histone modifications play key roles in the silencing of developmental regulators in ES cells (Fig. 5) and need to be reexpressed in reprogrammed cells.

The observation that the pluripotent state is dominant in ES-somatic cell hybrids is consistent with the idea that the ES cell transcription factors, when present, will generate a pluripotent state by silencing genes that produce various differentiated states. Oct4, Nanog, and Sox2 generate the ES cell gene expression program, at least in part, by binding and silencing genes encoding developmental regulators, thereby repressing various differentiated states. These pluripotency regulators likely participate, directly or indirectly, in the recruitment of PcG proteins, which are spread over large portions of these developmental genes in ES cells, thus preventing their transcription. Indeed, the PcG-catalyzed H3K27me3 chromatin modifications that are lacking in MEFs are reestablished in iPS cells (MAHERALI et al. 2007, WERNIG et al. 2007).

Chromatin changes associated with reprogramming appear to happen progressively over an extended period of time and do not occur homogeneously in all cells transduced with reprogramming factors. Multiple DNA replication cycles and cell divisions seem to be required for *in vitro* reprogramming, possibly because the heterochromatin-like silencing that occurs at the Oct4 promoter must be reversed and the interconnected autoregulatory loop generated by Oct4, Sox2, and Nanog must be re-established (Fig. 6C). In somatic cells, the Oct4 gene is hypermethylated and occupied by nucleosomes containing methylated histone H3K9 (FELDMAN et al., 2006). Bisulfite sequencing has revealed that DNA methylation is lost at the promoters of pluripotency regulators in iPS cells (MAHERALI et al. 2007, OKITA et al. 2007, WERNIG et al. 2007). The methylation status of histone H3K9 has not yet been examined at these promoters in iPS cells, but it seems likely that methylation of H3K9 will be lost at these promoters (LOH et al. 2007) (Fig. 6B). Ectopic expression of Oct4 and Sox2 may lead to activation of the endogenous loci when, during DNA replication, one or more alleles of the Oct4 promoter fails to be CpG-methylated and is assembled into nucleosomes lacking repressive modifications. Similar events may lead to activation of genes encoding the other endogenous pluripotency factors, and once levels of endogenous Oct4, Nanog, and Sox2 proteins are appropriate for generating an autoregulatory loop, the endogenous factors can then maintain the activated state of their own genes.

While knowledge of the roles of Oct4 and Sox2 in control of ES cell transcriptional circuitry suggests how these pluripotency regulators contribute to reprogramming, we have less understanding of the functions of *Klf4* and *c-Myc* in reprogramming. One possibility is that these two factors together allow for a cancer-like transformation of somatic cells, conferring on MEFs the immortal growth potential and rapid proliferative phenotype associated with ES cells (YAMANAKA 2007). A second model posits that *c-Myc* modifies the chromatin state of MEFs to allow the reprogramming factors to more efficiently access genes necessary for

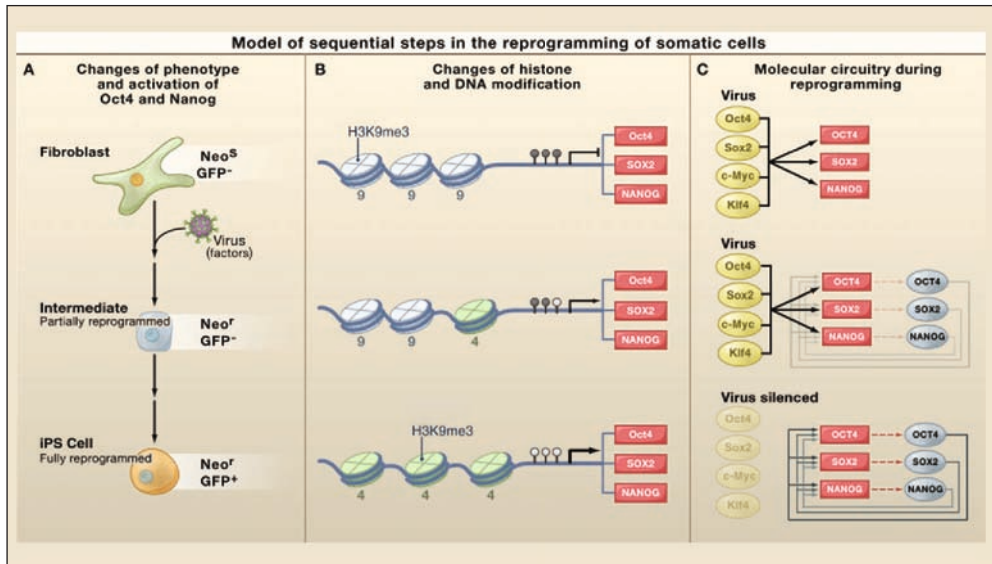


Fig. 6 Model of sequential steps in the reprogramming of somatic cells. (A) Sequential changes of phenotype and activation of Oct4, Nanog and Sox2. Fibroblasts do not express Oct4 or Nanog. After transduction with the four transcription factors Oct4, Sox2, c-myc, and Klf4 the infected fibroblasts assume a transformed phenotype. The endogenous Oct4 or Nanog genes become transcribed at a low level that is sufficient for drug resistance in cells carrying the neo gene in either locus (MAHERALI et al. 2007, OKITA et al. 2007, WERNIG et al. 2007) but not sufficient to produce GFP expression in Oct4-GFP or Nanog-GFP cells. In a stochastic sequence of epigenetic events the endogenous Oct4 and Nanog genes become fully activated only after 2 to 3 weeks as indicated by the appearance of GFP+ iPS cells in Oct4-GFP or Nanog-GFP fibroblasts (BRAMBRINK et al. 2008, MEISSNER et al. 2007) (compare Fig. 3B). (B) Sequential changes of histone and DNA modification. In fibroblasts the promoters of Oct4, Nanog, and Sox2 are methylated (filled lollipops) and histone H3 is methylated at K9. During the reprogramming process the repressive H3K9me3 histone marks may be gradually replaced by the transcriptionally active H3K4me3 histone marks and the CpG sites become gradually demethylated (open lollipops). This transient epigenetic state may permit an expression level that is sufficient to give drug resistance (driving the inserted neo gene) but not sufficient to give GFP expression. Additional epigenetic changes alter the histone modification and the DNA methylation conformation to one that is fully derepressed allowing normal factor expression and resulting in GFP+ iPS cells. (C) Molecular circuitry during reprogramming. The transduced factors may interact with the endogenous pluripotency genes encoding Oct4, Nanog, and Sox2 and gradually activate the autoregulatory loop that sustains normal factor expression. During the reprogramming process the *de novo* methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b become activated and in turn *de novo* methylate and silence the virally transduced factors. The pluripotent state is now maintained by the autoregulatory expression of the three transcription factors Oct4, Nanog, and Sox2.

reprogramming (YAMANAKA 2007). When expressed at high levels, the Myc protein can occupy a large population of genes and may stimulate chromatin modifications that may provide increased access for transcription factors (FERNANDEZ et al. 2003, LI et al. 2003). This idea is consistent with the observation that reprogramming can be accomplished in the absence of c-Myc or Klf4, albeit at significantly decreased efficiency (NAKAGAWA et al. 2008, WERNIG et al. 2008, YU et al. 2007). A third model emerges from recent evidence that c-Myc associates with prereplication complexes and promotes DNA synthesis independent of transcriptional regulation (DOMINGUEZ-SOLA et al. 2007). DNA replication, promoted by Myc overexpression, could provide an opportunity for the somatic genome to reset its epigenetic state in the presence of exogenous reprogramming factors.

Klf4's function in reprogramming may involve regulation of specific ES cell genes and may thus be independent of its oncogene potential. Oct4 and Sox2 bind to overlapping sites in the promoter of *Lefty1*, an ES cell-specific gene, but are not sufficient to transcriptionally activate the gene in somatic cells (NAKATAKE et al. 2006). Addition of Klf4 stimulates transcription of *Lefty1* in somatic cells, suggesting that Klf4 may assist Oct4 and Sox2 to initiate expression of key ES cell genes in somatic cells. As discussed above, reprogramming of somatic cells can be achieved without c-myc and Klf4 albeit with significantly lower efficiency (NAKAGAWA et al. 2008, WERNIG et al. 2008, YU et al. 2007). This is consistent with the notion that these oncogenes are nonessential for the reprogramming process and may merely promote the epigenetic remodeling and activation of essential endogenous genes such as Oct4 and Sox2, which then establish the autoregulatory loop that maintains the pluripotent state (Fig. 6C). Because overexpression of Oct4 can override the need for Sox2 (MASUI et al. 2007), it is possible that Oct4 is the only transcription factor that is indispensable for reprogramming and that other factors or signaling molecules can serve to facilitate activation of the "pluripotency circuitry".

## 5. Nuclear Cloning versus *In vitro* Reprogramming

Because reprogramming by either nuclear transplantation or *in vitro* by overexpression of defined transcription factors results in pluripotent ES-like cells that are indistinguishable, the question can be raised of whether similar molecular mechanisms may be responsible to produce the same epigenetic state. This is unlikely for the following considerations. (1) It has been well established that a quiescent state of the donor cells is crucial for SCNT to be successful (WILMUT et al. 1997) while *in vitro* reprogramming seems to depend on active proliferation of the somatic cells. (2) Reprogramming by SCNT likely occurs in a shorter time span than *in vitro* reprogramming. For example, Oct4 is activated at the 2 to 4 cell stage in cloned embryos (BOIANI et al. 2002), and major chromatin modifications are detected early after nuclear transfer (SANTOS et al. 2003) suggesting that the epigenetic state of the somatic donor genome is reset within a few cell divisions. In contrast, *in vitro* reprogramming has been shown to be a protracted process that proceeds over many weeks (Fig. 3A). (3) Though the molecular mechanisms that initiate SCNT-mediated reprogramming have not been clarified, it is unlikely that high expression of oncogenes such as c-myc and Klf4 play a crucial role as required for efficient *in vitro* reprogramming.

As discussed above, *in vitro* culture selects for the fastest-dividing cells but not for pluripotency. Thus, the generation of ES, EG, or MASC or of iPS cells derived from explanted blastocysts, from primordial or from spermatogonial stem cells or from *in vitro* reprogrammed somatic cells, respectively, may be driven by selection for the fastest-dividing cells that outgrow the corresponding slowly proliferating parental cells. It may be that the pluripotent ES-like cells, initiated by as diverse mechanisms as SCNT or *in vitro* reprogramming, represent a "default" state of cells growing in tissue culture. Their seemingly identical pluripotent state may represent the default epigenetic state assumed by cells that have been selected for proliferation after exposure to treatments as different as NT, transduction with reprogramming factors, or explantation into culture.



## 6. Outlook

*In vitro* reprogramming of fibroblasts raises a number of interesting questions. For example, can cells of other lineages such as endoderm-derived epithelial cells or ectoderm-derived keratinocytes be dedifferentiated to a pluripotent state by the same combination of factors as MEFs? Is the efficiency of reprogramming somatic stem cells higher than that of terminally differentiated cells as has been seen in nuclear transplantation experiments? An important aspect of *in vitro* reprogramming is the induction of cell proliferation, a fact that will complicate the reprogramming of postmitotic cells such as neurons. An interesting question is whether terminally differentiated lymphoid cells that can be induced to divide can be reprogrammed.

The translation of *in vitro* reprogramming to patient-specific transplantation therapy (TAKAHASHI et al. 2007, YU et al. 2007) faces several challenges. Though it appears likely that the requirement for oncogenes such as *c-myc* and *Klf4* can be eliminated (NAKAGAWA et al. 2008, WERNIG et al. 2008, YU et al. 2007), transduction of Oct4 raises concerns as it was shown to be a powerful oncogene when expressed in somatic cells (HOCHEDLINGER et al. 2005). Also, the use of retroviral vectors harbors the risk of insertional mutations that could activate genes such as oncogenes that accelerate proliferation. Thus, to overcome these technical barriers for the eventual application of this approach in the clinic we need to understand the molecular pathways of *in vitro* reprogramming. This may allow the development of alternative methods of *in vitro* reprogramming that do not rely on the use of potentially harmful agents such as transcription factors and retroviruses.

### *Acknowledgments*

We thank Caroline BEARD, Tobi BRAMBRINK, Menno CREYGHTON, Jacob HANNA, Dirk HOCKEMEYER, Konrad HOCHEDLINGER, Chris LENGNER, Alex MARSON, Frank SOLDNER, and Grant WELSTAED for their contributions and their comments on the manuscript. We thank Tom DECESARE, Stuart LEVINE, and Julia ZEITLINGER for contributions to figures.

### *References*

- ALON, U.: Network motifs: theory and experimental approaches. *Nature Rev. Genet.* 8, 450–461 (2007)
- ALVAREZ-DOLADO, M., PARDAL, R., GARCIA-VERDUGO, J. M., FIKE, J. R., LEE, H. O., PFEFFER, K., LOIS, C., MORRISON, S. J., and ALVAREZ-BUYLLA, A.: Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 425, 968–973 (2003)
- AZUARA, V., PERRY, P., SAUER, S., SPIVAKOV, M., JORGENSEN, H. F., JOHN, R. M., GOUTI, M., CASANOVA, M., WARNES, G., MERKENSCHLAGER, M., and FISHER, A. G.: Chromatin signatures of pluripotent cell lines. *Nature Cell Biol.* 8, 532–538 (2006)
- BALSAM, L. B., WAGERS, A. J., CHRISTENSEN, J. L., KOFIDIS, T., WEISSMAN, I. L., and ROBBINS, R. C.: Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 428, 668–673 (2004)
- BEN-SHUSHAN, E., SHARIR, H., PIKARSKY, E., and BERGMAN, Y.: A dynamic balance between ARP-1/COUP-TFII, EAR-3/COUP-TFI, and retinoic acid receptor:retinoid X receptor heterodimers regulates Oct-3/4 expression in embryonal carcinoma cells. *Mol. Cell. Biol.* 15, 1034–1048 (1995)
- BENDALL, S. C., STEWART, M. H., MENENDEZ, P., GEORGE, D., VIJAYARAGAVAN, K., WERBOWETSKI-OGILVIE, T., RAMOS-MEJIA, V., ROULEAU, A., YANG, J., BOSSÉ, M., LAJOIE, G., and BHATIA, M.: IGF and FGF cooperatively establish the regulatory stem cell niche of pluripotent human cells *in vitro*. *Nature* 448, 1015–1021 (2007)
- BERNSTEIN, E., KIM, S. Y., CARMELL, M. A., MURCHISON, E. P., ALCORN, H., LI, M. Z., MILLS, A. A., ELLEDGE, S. J., ANDERSON, K. V., and HANNON, G. J.: Dicer is essential for mouse development. *Nature Genet.* 35, 215–217 (2003)

- BERNSTEIN, B. E., MIKKELSEN, T. S., XIE, X., KAMAL, M., HUEBERT, D. J., CUFF, J., FRY, B., MEISSNER, A., WERNIG, M., PLATH, K., JAENISCH, R., WAGSCHAL, A., FEIL, R., SCHREIBER, S. L., and LANDER, E. S.: A bivalent chromatin structure marks key developmental genes in embryonic stem cells. *Cell* 125, 315–326 (2006)
- BIRNBAUM, K. D., and SÁNCHEZ ALVARAD, A.: Slicing across kingdoms: Regeneration in plants and animals. *Cell* 132, 697–710 (2008)
- BLELLOCH, R., WANG, Z., MEISSNER, A., POLLARD, S., SMITH, A., and JAENISCH, R.: Reprogramming efficiency following somatic cell nuclear transfer is influenced by the differentiation and methylation state of the donor nucleus. *Stem Cells* 24, 2007–2013 (2006)
- BLELLOCH, R., VENERE, M., YEN, M., and RAMALHO-SANTOS, M.: Generation of induced pluripotent stem cells in the absence of drug selection. *Cell Stem Cell* 1, 245–247 (2007)
- BOIANI, M., ECKARDT, S., SCHÖLER, H. R., and McLAUGHLIN, K. J.: Oct4 distribution and level in mouse clones: consequences for pluripotency. *Genes Dev.* 16, 1209–1219 (2002)
- BORTVIN, A., EGGAN, K., SKALETSKY, H., AKUTSU, H., BERRY, D. L., YANAGIMACHI, R., PAGE, D. C., and JAENISCH, R.: Incomplete reactivation of Oct4-related genes in mouse embryos cloned from somatic nuclei. *Development* 130, 1673–1680 (2003)
- BOYER, L. A., LEE, T. I., COLE, M. F., JOHNSTONE, S. E., LEVINE, S. S., ZUCKER, J. P., GUENTHER, M. G., KUMAR, R. M., MURRAY, H. L., JENNER, R. G., GIFFORD, D. K., MELTON, D. A., JAENISCH, R., and YOUNG, R. A.: Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell* 122, 947–956 (2005)
- BOYER, L. A., PLATH, K., ZEITLINGER, J., BRAMBRINK, T., MEDEIROS, L. A., LEE, T. I., LEVINE, S. S., WERNIG, M., TAJONAR, A., RAY, M. K., BELL, G. W., OTTE, A. P., VIDAL, M., GIFFORD, D. K., YOUNG, R. A., and JAENISCH, R.: Polycomb complexes repress developmental regulators in murine embryonic stem cells. *Nature* 441, 349–353 (2006)
- BRAMBRINK, T., FOREMAN, R., WELSTEAD, G., LENGNER, C., WERNIG, M., SUH, H., and JAENISCH, R.: Sequential expression of pluripotency markers during direct reprogramming of somatic cells. *Cell Stem Cell* 2/2, 151–159 (2008)
- BRAMBRINK, T., HOCHEDLINGER, K., BELL, G., and JAENISCH, R.: ES cells derived from cloned and fertilized blastocysts are transcriptionally and functionally indistinguishable. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 933–938 (2006)
- BRONS, I. G., SMITHERS, L. E., TROTTER, M. W., RUGG-GUNN, P., SUN, B., CHUVA DE SOUSA LOPES, S. M., HOWLETT, S. K., CLARKSON, A., AHLUND-RICHTER, L., PEDERSEN, R. A., and VALLIER, L.: Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos. *Nature* 448, 191–195 (2007)
- CHAMBERS, I., COLBY, D., ROBERTSON, M., NICHOLS, J., LEE, S., TWEEDIE, S., and SMITH, A.: Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 113, 643–655 (2003)
- CHAMBERS, I., SILVA, J., COLBY, D., NICHOLS, J., NIJMEIJER, B., ROBERTSON, M., VRANA, J., JONES, K., GROTEWOLD, L., and SMITH, A.: Nanog safeguards pluripotency and mediates germline development. *Nature* 450, 1230–1234 (2007)
- CHAMBERS, I., and SMITH, A.: Self-renewal of teratocarcinoma and embryonic stem cells. *Oncogene* 23, 7150–7160 (2004)
- CHEN, C. Z., LI, L., LODISH, H. F., and BARTEL, D.P.: MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 303, 83–86 (2004)
- CHEN, J. F., MANDEL, E. M., THOMSON, J. M., WU, Q., CALLIS, T. E., HAMMOND, S. M., CONLON, F. L., and WANG, D. Z.: The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nature Genet.* 38, 228–233 (2006)
- CIBELLI, J. B., GRANT, K. A., CHAPMAN, K. B., CUNNIFF, K., WORST, T., GREEN, H. L., WALKER, S. J., GUTIN, P. H., VILNER, L., TABAR, V., DOMINKO, T., KANE, J., WETTSTEIN, P. J., LANZA, R. P., STUDER, L., VRANA, K. E., and WEST, M. D.: Parthenogenetic stem cells in nonhuman primates. *Science* 295, 819 (2002)
- CINALLI, R. M., RANGAN, P., and LEHMANN, R.: Germ cells are forever. *Cell* 132, 559–562 (2008)
- CLARKE, D. L., JOHANSSON, C. B., WILBERTZ, J., VERESS, B., NILSSON, E., KARLSTROM, H., LENDAHL, U., and FRISEN, J.: Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288, 1660–1663 (2000)
- COWAN, C. A., ATIENZA, J., MELTON, D. A., and EGGAN, K.: Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 309, 1369–1373 (2005)
- CROFT, A. P., and PRZYBORSKI, S. A.: Formation of neurons by non-neural adult stem cells: potential mechanism implicates an artifact of growth in culture. *Stem Cells* 24, 1841–1851 (2006)
- DAVIS, R. L., WEINTRAUB, H., and LASSAR, A. B.: Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 51, 987–1000 (1987)
- DE COPPI, P., BARTSCH, G. Jr., SIDDIQUI, M. M., XU, T., SANTOS, C. C., PERIN, L., MOSTOSLAVSKY, G., SERRE, A. C., SNYDER, E. Y., YOO, J. J., FURTH, M. E., SOKER, S., and ATALA, A.: Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nature Biotechnol.* 25, 100–106 (2007)

- DO, J. T., and SCHÖLER, H. R.: Nuclei of embryonic stem cells reprogram somatic cells. *Stem Cells* 22, 941–949 (2004)
- DOMINGUEZ-SOLA, D., YING, C. Y., GRANDORI, C., RUGGIERO, L., CHEN, B., LI, M., GALLOWAY, D. A., GU, W., GAUTIER, J., and DALLA-FAVERA, R.: Nontranscriptional control of DNA replication by c-Myc. *Nature* 448, 445–451 (2007)
- EGGAN, K., AKUTSU, H., LORING, J., JACKSON-GRUSBY, L., KLEMM, M., RIDEOUT, W. M. 3rd, YANAGIMACHI, R., and JAENISCH, R.: Hybrid vigor, fetal overgrowth, and viability of mice derived by nuclear cloning and tetraploid embryo complementation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 6209–6214 (2001)
- EGGAN, K., BALDWIN, K., TACKETT, M., OSBORNE, J., GOGOS, J., CHESSE, A., AXEL, R., and JAENISCH, R.: Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature* 428, 44–49 (2004)
- EGLI, D., ROSAINS, J., BIRKHOFF, G., and EGGAN, K.: Developmental reprogramming after chromosome transfer into mitotic mouse zygotes. *Nature* 447, 679–685 (2007)
- EVANS, M. J., and KAUFMAN, M. H.: Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292, 154–156 (1981)
- FELDMAN, N., GERSON, A., FANG, J., LI, E., ZHANG, Y., SHINKAI, Y., CEDAR, H., and BERGMAN, Y.: G9a-mediated irreversible epigenetic inactivation of Oct-3/4 during early embryogenesis. *Nature Cell Biol.* 8, 188–194 (2006)
- FERNANDEZ, P. C., FRANK, S. R., WANG, L., SCHROEDER, M., LIU, S., GREENE, J., COCITO, A., and AMATI, B.: Genomic targets of the human c-Myc protein. *Genes Dev.* 17, 1115–1129 (2003)
- FUHRMANN, G., CHUNG, A. C., JACKSON, K. J., HUMMELKE, G., BANIAHMAD, A., SUTTER, J., SYLVESTER, I., SCHÖLER, H. R., and COONEY, A. J.: Mouse germline restriction of Oct4 expression by germ cell nuclear factor. *Dev. Cell* 1, 377–387 (2001)
- GAN, Q., YOSHIDA, T., McDONALD, O. G., and OWENS, G. K.: Concise review: epigenetic mechanisms contribute to pluripotency and cell lineage determination of embryonic stem cells. *Stem Cells* 25, 2–9 (2007)
- GREDA, P., KARASIEWICZ, J., and MODLINSKI, J. A.: Mouse zygotes as recipients in embryo cloning. *Reproduction* 132, 741–748 (2006)
- GU, P., LE MENUET, D., CHUNG, A. C., MANCINI, M., WHEELER, D. A., and COONEY, A. J.: Orphan nuclear receptor GCNF is required for the repression of pluripotency genes during retinoic acid-induced embryonic stem cell differentiation. *Mol. Cell. Biol.* 25, 8507–8519 (2005)
- GU, P., LE MENUET, D., CHUNG, A. C., and COONEY, A. J.: Differential recruitment of methylated CpG binding domains by the orphan receptor GCNF initiates the repression and silencing of Oct4 expression. *Mol. Cell. Biol.* 26, 9471–9483 (2006)
- GUAN, K., NAYERNA, K., MAIER, L. S., WAGNER, S., DRESSEL, R., LEE, J. H., NOLTE, J., WOLF, F., LI, M., ENGEL, W., and Hasenfuss, G.: Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature* 440, 1199–1203. (2006)
- GUENTHER, M. G., LEVINE, S. S., BOYER, L. A., JAENISCH, R., and YOUNG, R. A.: A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells. *Cell* 130, 77–88 (2007)
- GURDON, J. B., and BYRNE, J. A.: The first half-century of nuclear transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 8048–8052 (2003)
- HANNA, J., WERNIG, M., MARKOULAKI, S., SUN, C., MEISSNER, A., CASSADY, J., BEARD, C., WU, L., BRAMBRINK, T., TOWNES, T., and JAENISCH, R.: Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science* 318, 1920–1923 (2007)
- HARFE, B. D., MCMANUS, M. T., MANSFIELD, J. H., HORNSTEIN, E., and TABIN, C. J.: The RNaseIII enzyme Dicer is required for morphogenesis but not patterning of the vertebrate limb. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 10898–10903 (2005)
- HART, A. H., HARTLEY, L., IBRAHIM, M., and ROBB, L.: Identification, cloning and expression analysis of the pluripotency promoting Nanog genes in mouse and human. *Dev. Dyn.* 230, 187–198 (2004)
- HOCHEDLINGER, K., and JAENISCH, R.: Monoclonal mice generated by nuclear transfer from mature B and T donor cells. *Nature* 415, 1035–1038 (2002)
- HOCHEDLINGER, K., and JAENISCH, R.: Nuclear transplantation, embryonic stem cells, and the potential for cell therapy. *New Engl. J. Med.* 349, 275–286 (2003)
- HOCHEDLINGER, K., and JAENISCH, R.: Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature* 441, 1061–1067 (2006)
- HOCHEDLINGER, K., and JAENISCH, R.: On the cloning of animals from terminally differentiated cells. *Nature Genet.* 39, 136–137 (2007)
- HOCHEDLINGER, K., YAMADA, Y., BEARD, C., and JAENISCH, R.: Ectopic expression of Oct-4 blocks progenitor-cell differentiation and causes dysplasia in epithelial tissues. *Cell* 121, 465–477 (2005)

- HORNSTEIN, E., MANSFIELD, J. H., YEKTA, S., HU, J. K., HARFE, B. D., MCMANUS, M. T., BASKERVILLE, S., BARTEL, D. P., and TABIN, C. J.: The microRNA miR-196 acts upstream of Hoxb8 and Shh in limb development. *Nature* 438, 671–674 (2005)
- HOUBAVIY, H. B., MURRAY, M. F., and SHARP, P. A.: Embryonic stem cell-specific MicroRNAs. *Dev. Cell* 5, 351–358 (2003)
- INOUE, K., WAKAO, H., OGONUKI, N., MIKI, H., SEINO, K., NAMBU-WAKAO, R., NODA, S., MIYOSHI, H., KOSEKI, H., TANIGUCHI, M., and OGURA, A.: Generation of cloned mice by direct nuclear transfer from natural killer T cells. *Curr. Biol.* 15, 1114–1118 (2005)
- INOUE, K., NODA, S., OGONUKI, N., MIKI, H., INOUE, S., KATAYAMA, K., MEKADA, K., MIYOSHI, H., and OGURA, A.: Differential developmental ability of embryos cloned from tissue-specific stem cells. *Stem Cells* 25, 1279–1285 (2007)
- IVANOVA, N., DOBRIN, R., LU, R., KOTENKO, I., LEVORSE, J., DECOSTE, C., SCHAFER, X., LUN, Y., and LEMISCHKA, I. R.: Dissecting self-renewal in stem cells with RNA interference. *Nature* 442, 533–538 (2006)
- JACKSON, K. A., SNYDER, D. S., and GOODELL, M. A.: Skeletal muscle fiberspecific green autofluorescence: potential for stem cell engraftment artifacts. *Stem Cells* 22, 180–187 (2004)
- JÄHNER, D., STUHLMANN, H., STEWART, C. L., HARBERS, K., LÖHLER, J., SIMON, I., and JAENISCH, R.: *De novo* methylation and expression of retroviral genomes during mouse embryogenesis. *Nature* 298, 623–628 (1982)
- JIANG, Y., JAHAGIRDAR, B. N., REINHARDT, R. L., SCHWARTZ, R. E., KEENE, C. D., ORTIZ-GONZALEZ, X. R., REYES, M., LENVIK, T., LUND, T., BLACKSTAD, M., DU, J., ALDRICH, S., LISBERG, A., LOW, W. C., LARGAESPADA, D. A., and VERFAILLIE, C. M.: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418, 41–49 (2002)
- JOSEPH, N. M., and MORRISON, S. J.: Toward an understanding of the physiological function of Mammalian stem cells. *Dev. Cell* 9, 173–183 (2005)
- KANATSU-SHINOHARA, M., INOUE, K., LEE, J., YOSHIMOTO, M., OGONUKI, N., MIKI, H., BABA, S., KATO, T., KAZUKI, Y., TOYOKUNI, S., TOYOSHIMA, M., NIWA, O., OSHIMURA, M., HEIKE, T., NAKAHATA, T., ISHINO, F., OGURA, A., and SHINOHARA, T.: Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis. *Cell* 119, 1001–1012 (2004)
- KANELLOPOULOU, C., MULJO, S. A., KUNG, A. L., GANESAN, S., DRAPKIN, R., JENUWEIN, T., LIVINGSTON, D. M., and RAJEWSKY, K.: Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing. *Genes Dev.* 19, 489–501 (2005)
- KRICHEVSKY, A. M., SONNTAG, K. C., ISACSON, O., and KOSIK, K. S.: Specific microRNAs modulate embryonic stem cell-derived neurogenesis. *Stem Cells* 24, 857–864 (2006)
- KURODA, T., TADA, M., KUBOTA, H., KIMURA, H., HATANO, S. Y., SUEMORI, H., NAKATSUJI, N., and TADA, T.: Octamer and Sox elements are required for transcriptional cis regulation of Nanog gene expression. *Mol. Cell. Biol.* 25, 2475–2485 (2005)
- LAN, F., BAYLISS, P. E., RINN, J. L., WHETSTONE, J. R., WANG, J. K., CHEN, S., IWASE, S., ALPATOV, R., ISSAIEVA, I., CANAANI, E., ROBERTS, T. M., CHANG, H. Y., and SHI, Y.: A histone H3 lysine 27 demethylase regulates animal posterior development. *Nature* 449, 689–694 (2007)
- LEE, T. I., JENNER, R. G., BOYER, L. A., GUENTHER, M. G., LEVINE, S. S., KUMAR, R. M., CHEVALIER, B., JOHNSTONE, S. E., COLE, M. F., ISONO, K., KOSEKI, H., FUCHIKAMI, T., ABE, K., MURRAY, H. L., ZUCKER, J. P., YUAN, B., BELL, G. W., HERBOLSHMEIER, E., HANNETT, N. M., SUN, K., ODOM, D. T., OTTE, A. P., VOLKERT, T. L., BARTEL, D. P., MELTON, D. A., GIFFORD, D. K., JAENISCH, R., and YOUNG, R. A.: Control of developmental regulators by Polycomb in human embryonic stem cells. *Cell* 125, 301–313 (2006)
- LENGNER, C., CAMARGO, F., HOCHEDLINGER, K., ZAIDI, S., WELSTEAD, G., GOKHALE, S., SCHÖLER, H., TOMILIN, A., and JAENISCH, R.: Oct4 has no role in somatic stem cell self-renewal. *Cell Stem Cell* 1, 403–415 (2007)
- LI, J., GRECO, V., GUASCH, G., FUCHS, E., and MOMBAERTS, P.: Mice cloned from skin cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 2738–2743 (2007)
- LI, J., ISHII, T., FEINSTEIN, P., and MOMBAERTS, P.: Odorant receptor gene choice is reset by nuclear transfer from mouse olfactory sensory neurons. *Nature* 428, 393–399 (2004)
- LI, Z., VAN CALCAR, S., QU, C., CAVENEY, W. K., ZHANG, M. Q., and REN, B.: A global transcriptional regulatory role for c-Myc in Burkitt's lymphoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 8164–8169 (2003)
- LOH, Y. H., WU, Q., CHEW, J. L., VEGA, V. B., ZHANG, W., CHEN, X., BOURQUE, G., GEORGE, J., LEONG, B., LIU, J., WONG, K. Y., SUNG, K. W., LEE, C. W., ZHAO, X. D., CHIU, K. P., LIPOVICH, L., KUZNETSOV, V. A., ROBSON, P., STANTON, L. W., WEI, C. L., RUAN, Y., LIM, B., and NG, H. H.: The Oct4 and Nanog transcription network regulates pluripotency in mouse embryonic stem cells. *Nature Genet.* 38, 431–440 (2006)
- LOH, Y. H., ZHANG, W., CHEN, X., GEORGE, J., and NG, H. H.: Jmjd1a and Jmjd2c histone H3 Lys 9 demethylases regulate self-renewal in embryonic stem cells. *Genes Dev.* 21, 2545–2557 (2007)

- LOVELL-BADGE, R.: Many ways to pluripotency. *Nature Biotechnol.* 25, 1114–1116 (2007)
- LOWELL, S., BENCHOUA, A., HEAVEY, B., and SMITH, A. G.: Notch promotes neural lineage entry by pluripotent embryonic stem cells. *PLoS Biol.* 4, e121 (2006)
- MAHERALI, N., SRIDHARAN, R., XIE, W., UTIKAL, J., EMINLI, S., ARNOLD, K., STADTFELD, M., YACHECHKO, Y., TCHIEU, J., JAENISCH, R., PLATH, K., and HOCHEDLINGER, K.: Global epigenetic remodeling in directly reprogrammed fibroblasts. *Cell Stem Cell* 1, 55–70 (2007)
- MANSFIELD, J. H., HARFE, B. D., NISSEN, R., OBENAUER, J., SRINEEL, J., CHAUDHURI, A., FARZAN-KASHANI, R., ZUKER, M., PASQUINELLI, A. E., RUVKUN, G., SHARP, P. A., TABIN, C. J., and MCMANUS M. T.: MicroRNA-responsive ‘sensor’ transgenes uncover Hox-like and other developmentally regulated patterns of vertebrate microRNA expression. *Nature Genet.* 36, 1079–1083 (2004)
- MARTIN, G. R.: Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 7634–7638 (1981)
- MASUI, S., NAKATAKE, Y., TOYOOKA, Y., SHIMOSATO, D., YAGI, R., TAKAHASHI, K., OKOCHI, H., OKUDA, A., MATOBA, R., SHAROV, A. A., KO, M. S., and NIWA, H.: Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. *Nature Cell Biol.* 9, 625–635 (2007)
- MATSUI, Y., ZSEBO, K., and HOGAN, B. L. M.: Derivation of pluripotential embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture. *Cell* 70, 841–847 (1992)
- MATSUMURA, H., TADA, M., OTSUI, T., YASUCHIKA, K., NAKATSUJI, N., SURANI, A., and TADA, T.: Targeted chromosome elimination from ES-somatic hybrid cells. *Nature Methods* 4, 23–25 (2007)
- MCGRATH, J., and SOLTER, D.: Inability of mouse blastomere nuclei transferred to enucleated zygotes to support development in vitro. *Science* 226, 1317–1319 (1984)
- MEISSNER, A., WERNIG, M., and JAENISCH, R.: Direct reprogramming of genetically unmodified fibroblasts into pluripotent stem cells. *Nature Biotechnol.* 25, 1177–1181 (2007)
- MIKKELSEN, T. S., KU, M., JAFFE, D. B., ISSAC, B., LIEBERMAN, E., GIANNOUKOS, G., ALVAREZ, P., BROCKMAN, W., KIM, T. K., KOCHER, R. P., LEE, W., MENDENHALL, E., O’DONOVAN, A., PRESSER, A., RUSS, C., XIE, X., MEISSNER, A., WERNIG, M., JAENISCH, R., NUSBAUM, C., LANDER, E. S., and BERNSTEIN, B. E.: Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature* 448, 553–560 (2007)
- MINENO, J., OKAMOTO, S., ANDO, T., SATO, M., CHONO, H., IZU, H., TAKAYAMA, M., ASADA, K., MIROCHNITCHENKO, O., INOUE, M., and KATO, I.: The expression profile of microRNAs in mouse embryos. *Nucleic Acids Res.* 34, 1765–1771 (2006)
- MITSUI, K., TOKUZAWA, Y., ITOH, H., SEGAWA, K., MURAKAMI, M., TAKAHASHI, K., MARUYAMA, M., MAEDA, M., and YAMANAKA, S.: The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 113, 631–642 (2003)
- MURCHISON, E. P., PARTRIDGE, J. F., TAM, O. H., CHELOUFI, S., and HANNON, G. J.: Characterization of dicer-deficient murine embryonic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 12135–12140 (2005)
- MURRY, C. E., SOONPAA, M. H., REINECKE, H., NAKAJIMA, H., NAKAJIMA, H. O., RUBART, M., PASUMARTHI, K. B., ISMAIL VIRAG, J., BARTELMIZ, S. H., POPPA, V., BRADFORD, G., DOWELL, J. D., WILLIAMS, D. A., and FIELD, L. J.: Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 428, 664–668 (2004)
- MURRY, C. E., and KELLER, G.: Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: Lessons from embryonic development. *Cell* 132, 661–680 (2008)
- NÁGY, A., GÓCZA, E., DIAZ, E. M., PRIDEAUX, V. R., IVÁNYI, E., MARKKULA, M., and ROSSANT, J.: Embryonic stem cells alone are able to support fetal development in the mouse. *Development* 110, 815–821 (1990)
- NAKAGAWA, M., KOYANAGI, M., TANABE, K., TAKAHASHI, K., ICHISAKA, T., AOI, T., OKITA, K., MOCHIDUKI, Y., TAKIZAWA, N., and YAMANAKA, S.: Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nature Biotechnol.* 26, 101–106 (2008)
- NAKATAKE, Y., FUKUI, N., IWAMATSU, Y., MASUI, S., TAKAHASHI, K., YAGI, R., YAGI, K., MIYAZAKI, J., MATOBA, R., KO, M. S., and NIWA, H.: Klf4 cooperates with Oct3/4 and Sox2 to activate the Lefty1 core promoter in embryonic stem cells. *Mol. Cell. Biol.* 26, 7772–7782 (2006)
- NARASIMHA, M., BARTON, S. C., and SURANI, M. A.: The role of the paternal genome in the development of the mouse germ line. *Curr. Biol.* 7, 881–884 (1997)
- NEUHUBER, B., GALLO, G., HOWARD, L., KOSTURA, L., MACKAY, A., and FISCHER, I.: Reevaluation of in vitro differentiation protocols for bone marrow stromal cells: disruption of actin cytoskeleton induces rapid morphological changes and mimics neuronal phenotype. *J. Neurosci. Res.* 77, 192–204 (2004)
- NICHOLS, J., ZEVNIK, B., ANASTASSIADIS, K., NIWA, H., KLEWE-NEBENIUS, D., CHAMBERS, I., SCHÖLER, H., and SMITH, A.: Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell* 95, 379–391 (1998)

- OBACK, B., and WELLS, D. N.: Donor cell differentiation, reprogramming, and cloning efficiency: elusive or illusive correlation? *Mol. Reprod. Dev.* 74, 646–654 (2007)
- ODOM, D. T., DOWELL, R. D., JACOBSEN, E. S., NEKLUDOVA, L., ROLFE, P. A., DANFORD, T. W., GIFFORD, D. K., FRAENKEL, E., BELL, G. I., and YOUNG, R. A.: Core transcriptional regulatory circuitry in human hepatocytes. *Mol. Syst. Biol.* 2, 2006.0017 (2006)
- OGAWA, K., NISHINAKAMURA, R., IWAMATSU, Y., SHIMOSATO, D., and NIWA, H.: Synergistic action of Wnt and LIF in maintaining pluripotency of mouse ES cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 343, 159–166 (2006)
- OKAMOTO, K., OKAZAWA, H., OKUDA, A., SAKAI, M., MURAMATSU, M., and HAMADA, H.: A novel octamer binding transcription factor is differentially expressed in mouse embryonic cells. *Cell* 60, 461–472 (1990)
- OKANO, M., BELL, D. W., HABER, D. A., and LI, E.: DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* 99, 247–257 (1999)
- OKITA, K., ICHISAKA, T., and YAMANAKA, S.: Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 448, 313–317 (2007)
- OKUMURA-NAKANISHI, S., SAITO, M., NIWA, H., and ISHIKAWA, F.: Oct-3/4 and Sox2 regulate Oct-3/4 gene in embryonic stem cells. *J. Biol. Chem.* 280, 5307–5317 (2005)
- ORKIN, S. H., and ZON, L. I.: Hematopoiesis: An evolving paradigm for stem cell biology. *Cell* 132, 631–644 (2008)
- PARK, I. H., ZHAO, R., WEST, J. A., YABUCHI, A., HUO, H., INCE, T. A., LEROU, P. H., LENSCH, M. W., and DALEY, G. Q.: Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 451, 141–146 (2008)
- PHINNEY, D. G., and PROCKOP, D. J.: Concise review: Mesenchymal stem/multi-potent stromal cells (MSCs): The state of transdifferentiation and modes of tissue repair – current views. *Stem Cells* 25, 2896–2902 (2007)
- PIKARSKY, E., SHARIR, H., BEN-SHUSHAN, E., and BERGMAN, Y.: Retinoic acid represses Oct-3/4 gene expression through several retinoic acid-responsive elements located in the promoter-enhancer region. *Mol. Cell. Biol.* 14, 1026–1038 (1994)
- RESNICK, J. L., BIXLER, L. S., CHENG, L., and DONOVAN, P. J.: Long-term proliferation of mouse primordial germ cells in culture. *Nature* 359, 550–551 (1992)
- REVAZOVA, E. S., TUROVETS, N. A., KOCHETKOVA, O. D., KINDAROVA, L. B., KUZMICHEV, L. N., JANUS, J. D., and PRYZHKOVA, M. V.: Patient-specific stem cell lines derived from human parthenogenetic blastocysts. *Cloning Stem Cells* 9, 432–449 (2007)
- RIDEOUT, W. M. 3rd, HOCHEDLINGER, K., KYBA, M., DALEY, G. Q., and JAENISCH, R.: Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell* 109, 17–27 (2002)
- RIZZINO, A.: A challenge for regenerative medicine: Proper genetic programming, not cellular mimicry. *Dev. Dyn.* 236, 3199–3207 (2007)
- ROSSANT, J.: Stem cells and early lineage development. *Cell* 132, 527–532 (2008)
- SÁNCHEZ ALVARADO, A.: Planarian regeneration: its end is its beginning. *Cell* 124, 241–245 (2006)
- SANTOS, F., ZAKHARTCHENKO, V., STOJKOVIC, M., PETERS, A., JENUWEIN, T., WOLF, E., REIK, W., and DEAN, W.: Epigenetic marking correlates with developmental potential in cloned bovine preimplantation embryos. *Curr. Biol.* 13, 1116–1121 (2003)
- SCHUETTENGROBER, B., CHOURROUT, D., VERVOORT, M., LEBLANC, B., and CAVALLI, G.: Genome regulation by polycomb and trithorax proteins. *Cell* 128, 735–745 (2007)
- SEANDEL, M., JAMES, D., SHMELKOV, S. V., FALCIATORI, I., KIM, J., CHAVALA, S., SCHERR, D. S., ZHANG, F., TORRES, R., GALE, N. W., YANCOPOULOS, G. D., MURPHY, A., VALENZUELA, D. M., HOBBS, R. M., PANDOLFI, P. P., and RAFII, S.: Generation of functional multipotent adult stem cells from GPR125+ germline progenitors. *Nature* 449, 346–350 (2007)
- SILVA, J., CHAMBERS, I., POLLARD, S., and SMITH, A.: Nanog promotes transfer of pluripotency after cell fusion. *Nature* 441, 997–1001 (2006)
- SILVA, J., and SMITH, A.: Capturing pluripotency. *Cell* 132, 532–536 (2008)
- SMITH, A. G., HEATH, J. K., DONALDSON, D. D., WONG, G. G., MOREAU, J., STAHL, M., and ROGERS, D.: Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature* 336, 688–690 (1988)
- SOLTER, D.: From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. *Nature Rev. Genet.* 7, 319–327 (2006)
- STADTFELD, M., MAHERALI, N., BREAUULT, D. T., and HOCHEDLINGER, K.: Defining molecular cornerstones during fibroblasts to iPS cell reprogramming in mouse. *Cell Stem Cell*. Published online February 14, 2008. 10.1016/j.stem.2008.02.001 (2008)
- STOCK, J. K., GIADROSSI, S., CASANOVA, M., BROOKES, E., VIDAL, M., KOSEKI, H., BROCKDORFF, N., FISHER, A. G., and POMBO, A.: Ring1-mediated ubiquitination of H2A restrains poised RNA polymerase II at bivalent genes in mouse ES cells. *Nature Cell Biol.* 9, 1428–1435 (2007)

- SUH, M. R., LEE, Y., KIM, J. Y., KIM, S. K., MOON, S. H., LEE, J. Y., CHA, K. Y., CHUNG, H. M., YOON, H. S., MOON, S. Y., KIM, V. N., and KIM, K. S.: Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs. *Dev. Biol.* **270**, 488–498 (2004)
- SUNG, L. Y., GAO, S., SHEN, H., YU, H., SONG, Y., SMITH, S. L., CHANG, C. C., INOUE, K., KUO, L., LIAN, J., LI, A., TIAN, X. C., TUCK, D. P., WEISSMAN, S. M., YANG, X., and CHENG, T.: Differentiated cells are more efficient than adult stem cells for cloning by somatic cell nuclear transfer. *Nature Genet.* **38**, 1323–1328 (2006)
- SURANI, M. A., HAYASHI, K., and HAJKOVA, P.: Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. *Cell* **128**, 747–762 (2007)
- TADA, M., TAKAHAMA, Y., ABE, K., NAKATSUJI, N., and TADA, T.: Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr. Biol.* **11**, 1553–1558 (2001)
- TAKAHASHI, K., TANABE, K., OHNUKI, M., NARITA, M., ICHISAKA, T., TOMODA, K., and YAMANAKA, S.: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* **131**, 861–872 (2007)
- TAKAHASHI, K., and YAMANAKA, S.: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* **126**, 663–676 (2006)
- TARANGER, C. K., NOER, A., SORENSEN, A. L., HAKELIEN, A. M., BOQUEST, A. C., and COLLAS, P.: Induction of dedifferentiation, genome-wide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Mol. Biol. Cell* **16**, 5719–5735 (2005)
- TERADA, N., HAMAZAKI, T., OKA, M., HOKI, M., MASTALERZ, D. M., NAKANO, Y., MEYER, E. M., MOREL, L., PETERSEN, B. E., and SCOTT, E. W.: Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* **416**, 542–545 (2002)
- TESAR, P. J., CHENOWETH, J. G., BROOK, F. A., DAVIES, T. J., EVANS, E. P., MACK, D. L., GARDNER, R. L., and MCKAY, R. D.: New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells. *Nature* **448**, 196–199 (2007)
- THOMSON, J. A., ITSKOVITZ-ELDOR, J., SHAPIRO, S. S., WAKNITZ, M. A., SWIERGIEL, J. J., MARSHALL, V. S., and JONES, J. M.: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* **282**, 1145–1147 (1998)
- VAN DE VEN, C., COLLINS, D., BRADLEY, M. B., MORRIS, E., and CAIRO, M. S.: The potential of umbilical cord blood multipotent stem cells for nonhematopoietic tissue and cell regeneration. *Exp. Hematol.* **35**, 1753–1765 (2007)
- WAGERS, A. J., and WEISSMAN, I. L.: Plasticity of adult stem cells. *Cell* **116**, 639–648 (2004)
- WAKAYAMA, S., HIKICHI, T., SUETSUGU, R., SAKAIDE, Y., BUI, H. T., MIZUTANI, E., and WAKAYAMA, T.: Efficient establishment of mouse embryonic stem cell lines from single blastomeres and polar bodies. *Stem Cells* **25**, 986–993 (2007)
- WAKAYAMA, S., JAKT, M. L., SUZUKI, M., ARAKI, R., HIKICHI, T., KISHIGAMI, S., OHTA, H., VAN THUAN, N., MIZUTANI, E., SAKAIDE, Y., SENDA, S., TANAKA, S., OKADA, M., MIYAKE, M., ABE, M., NISHIKAWA, S., SHIOTA, K., and WAKAYAMA, T.: Equivalency of nuclear transfer-derived embryonic stem cells to those derived from fertilized mouse blastocysts. *Stem Cells* **24**, 2023–2033 (2006)
- WANG, J., RAO, S., CHU, J., SHEN, X., LEVASSEUR, D. N., THEUNISSEN, T. W., and ORKIN, S. H.: A protein interaction network for pluripotency of embryonic stem cells. *Nature* **444**, 364–368 (2006)
- WANG, X., WILLENBRING, H., AKKARI, Y., TORIMARU, Y., FOSTER, M., AL-DHALIMY, M., LAGASSE, E., FINEGOLD, M., OLSON, S., and GROMPE, M.: Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* **422**, 897–901 (2003)
- WANG, Y., MEDVID, R., MELTON, C., JAENISCH, R., and BLELLOCH, R.: DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silencing of embryonic stem cell self-renewal. *Nature Genet.* **39**, 380–385 (2007)
- WERNIG, M., MEISSNER, A., FOREMAN, R., BRAMBRINK, T., KU, M., HOCHEDLINGER, K., BERNSTEIN, B. E., and JAENISCH, R.: In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* **448**, 318–324 (2007)
- WERNIG, M., MEISSNER, A., CASSADY, J., and JAENISCH, R.: C-Myc is dispensable for direct reprogramming of mouse fibroblasts. *Cell Stem Cell* **2**, 10–12 (2008)
- WILMUT, I., SCHNIEKE, A. E., MCWHIR, J., KIND, A. J., and CAMPBELL, K. H.: Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* **385**, 810–813 (1997)
- WU, S. M., CHIEN, K. R., and MUMMERY, C.: Origins and fates of cardiovascular progenitor cells. *Cell* **132**, 537–543 (2008)
- YAMANAKA, S.: Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* **1**, 39–49 (2007)
- YANG, X., SMITH, S. L., TIAN, X. C., LEWIN, H. A., RENARD, J. P., and WAKAYAMA, T.: Nuclear reprogramming of cloned embryos and its implications for therapeutic cloning. *Nature Genet.* **39**, 295–302 (2007)
- YEKTA, S., SHIH, I. H., and BARTEL, D. P.: MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA. *Science* **304**, 594–596 (2004)

- YING, Q. L., NICHOLS, J., EVANS, E. P., and SMITH, A. G.: Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 416, 545–548 (2002)
- YU, J., VODYANIK, M. A., HE, P., SLUKVIN, I. I., and THOMSON, J. A.: Human embryonic stem cells reprogram myeloid precursors following cell-cell fusion. *Stem Cells* 24, 168–176 (2006)
- YU, J., VODYANIK, M. A., SMUGA-OTTO, K., ANTOSIEWICZ-BOURGET, J., FRANE, J. L., TIAN, S., NIE, J., JONSDOTTIR, G. A., RUOTTI, V., STEWART, R., SLUKVIN, I. I., and THOMSON, J. A.: Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318, 1917–1920 (2007)
- ZWAKA, T. P., and THOMSON, J. A.: A germ cell origin of embryonic stem cells? *Development* 132, 227–233 (2005)

Prof. Dr. Rudolf JAENISCH  
Whitehead Institute for Biomedical Research  
9 Cambridge Center  
Cambridge  
MA 02142-1479  
USA  
Phone: 001 617 2585189  
Fax: 001 617 2586505  
E-Mail: jaenisch@wi.mit.edu

Dr. Richard YOUNG  
Whitehead Institute for Biomedical Research  
9 Cambridge Center  
Cambridge  
MA 02142-1479  
USA  
Phone: 001 617 2580376  
Fax: 001 617 258  
E-Mail: young@wi.mit.edu

Department of Biology  
Massachusetts Institute of Technology  
Cambridge  
MA 02139  
USA



## **Induzierte Reprogrammierung in der Stammzellforschung – mehr „Königsweg“ als erwartet<sup>1</sup>**

Christian KUMMER (München)

### *Zusammenfassung*

Die Reprogrammierung differenzierter Körperzellen wird allgemein als ethisch unbedenkliche Quelle für die Gewinnung pluripotenter Zellen mit einem den embryonalen Stammzellen vergleichbaren Differenzierungspotential angesehen. Der Grund für diese Akzeptanz liegt in der Einsicht, dass die durch äußere Einflussnahme erfolgende Umdeterminierung somatischer Zellen kein vorgängig vorhandenes inneres Totipotenz-Prinzip verletzt. Die hierbei gewonnene Unterscheidung von inneren und äußeren Entwicklungszielen kann helfen, den ontologischen Status auch anderer biotechnischer Entitäten, wie embryonale Stammzellen oder therapeutische Klone, zu klären. Ja, selbst für die Bewertung von Problemen im Zusammenhang mit der künstlichen Reproduktionstechnik kann der Rückgriff auf diese Terminologie wertvoll sein.

### *Abstract*

The reprogramming of differentiated somatic cells is considered to be an ethically acceptable source of pluripotent cells presenting a differentiation capacity equivalent to that of embryonic stem cells. The reason for this acceptability is based on the insight that the extrinsic re-determination of somatic cells to pluripotency is not violating any intrinsically preexisting principle of totipotency. The distinction of intrinsic and extrinsic ends of development can help to discern the ontological state of other biotechnological entities, as ES cells and SCNT clones, too, and may even be useful for the evaluation of some problems connected with assisted reproduction techniques.

### **1. Einführung**

Es geht im Folgenden nicht um ein Loblied auf die induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS) als Ausweg aus dem ethischen Problemfeld der verbrauchenden Embryonenforschung – ich bin kein Gegner der Stammzellforschung. Es geht auch nicht um das Gegenteil, eine Dämpfung der Erwartungen aufgrund spezieller Details wie Onkogenizität oder Abweichungen in der Identität der Pluripotenzmuster der induzierten gegenüber den embryonalen Stammzellen – ich bin kein Zellbiologe. Und mir geht es auch nicht um eine Parteinahme für die eine oder andere Glaubensrichtung in der Stammzell-*Community* – ein unheilvoller Partikularismus, wie sich bei der Debatte um die Novellierung des deutschen Stammzellgesetzes gezeigt hat. Ich hoffe vielmehr, dass uns ein solch ideologiegeleiteter bzw. vom Konkurrieren um Fördermittel verursachter Krieg der Überzeugungen diesmal erspart bleibt. Zumindest

---

1 Dies ist die druckfertige und leicht überarbeitete Fassung eines im Mai 2008 am Centrum für Bioethik der Universität Münster gehaltenen Vortrags.

scheint die relativ geringe Resonanz, welche die iPS-Forschung in der Presse trotz aller rasanten Anfänge gefunden hat, ein gutes Zeichen in diese Richtung zu sein. Vermutlich haben die allzu vielen Meldungen einer „ultimativen“ pluripotenten Stammzelle, von der danach nichts mehr zu hören war, die Reizschwelle der Gemüter einigermaßen abgestumpft.

Es geht hier vielmehr um den Triumph, die schlecht verhohlene Schadenfreude, die viele Stammzellforscher empfanden angesichts der Möglichkeit, differenzierte somatische Zellen in den Embryonalzustand zurückprogrammieren zu können: Was wird aus dem Zustand der Totipotenz, wenn er in jeder Körperzelle schlummert? Gibt dieser Begriff dann noch etwas her als Grundlage für den Embryonenschutz? Vielfach wird nun die Meinung vertreten, Toti- und Pluripotenz hätten damit ihre Bedeutung verloren, und man müsse sich von diesen Begriffen verabschieden. Ich glaube das nicht. Und das ist mein Metier als Naturphilosoph, durch Klärung von Begriffen etwas beizutragen zu den Grundlagen einer ethischen Debatte, die auch mit dem Fünfjahresaufschub des Stichtags noch nicht erledigt sein wird.

Dabei habe ich selbst noch vor wenigen Jahren so argumentiert: Wenn erst einmal die Kenntnis der Reprogrammierungsfaktoren beim Klonen durch Nukleartransfer so weit gediehen sei, dass wir embryonale Stammzellen direkt aus jeder Körperzelle gewinnen können und damit jede Körperzelle dasselbe ‚Potential‘ hat wie eine Zygote, dann ginge bezüglich einer uneingeschränkten Schutzwürdigkeit embryonaler Zellen „der Teufel auf Stelzen“ (KUMMER und HÖHN 2002). Davon muss ich mich distanzieren. Wenn wir nämlich aus der Tatsache, dass wir jede differenzierte Körperzelle (es sei dahingestellt, ob das stimmt) in den Ausgangszustand zurückdifferenzieren können, die Folgerung ziehen, dass damit alle Körperzellen totipotent seien und daraus ein Argument gegen das Embryonenschutzgesetz machen, schießen wir ein Eigentor. Wenn das wirklich stimmte, dürften wir nämlich den Argumenten der prinzipiellen Embryonenschützer zufolge diese induzierte Reprogrammierung gar nicht erst durchführen. Sie wäre vielmehr aus denselben Gründen unstatthaft wie das therapeutische Klonen selbst: weil wir etwas erzeugten, dessen „Potential“ aus sich auf Realisierung angelegt ist, die wir nicht unterbinden dürfen. Man erinnere sich: Das sogenannte therapeutische Klonen durch somatischen Zellkerntransfer (SCNT) verbietet sich genau deshalb beim Menschen, weil ein solcher Klon prinzipiell dasselbe Entwicklungspotential besitzt wie die befruchtete Eizelle am Beginn der embryonalen Entwicklung. Wenn diese bereits als Person bewertet wird, dann folgerichtig auch der Klon. Weil aber zur Würde einer menschlichen Person auch ihre naturwüchsige Zeugung gehöre, so das Argument in seinem weiteren Verlauf, ist auch die Implantation eines geklonten Embryos unstatthaft und damit seine Erzeugung in jedem Fall zu unterlassen.

Die Parallele zur induzierten Reprogrammierung ist naheliegend. Wenn durch die Möglichkeit, iPS-Zellen zu erzeugen, gezeigt würde, dass Körperzellen (wenigstens latent, wenn dieser Zusatz sinnvoll ist) totipotent sind, dann stünden wir bei der Einleitung dieses Vorgangs vor der Verpflichtung, dieses inhärente Potential zur Verwirklichung zu bringen. Das heißt, wir müssten den Vorgang der induzierten Reprogrammierung bis zu seinem Ende, dem totipotenten Ausgangszustand ablaufen lassen und dürften ihn nicht schon davor abbrechen, um pluripotente Zellen, auf die wir aus sind, zu gewinnen. Weil die Erzeugung von Embryonen auf diesem Weg unstatthaft ist, müsste, wie beim Klonen, das ganze Verfahren unterbleiben. Darum wäre es ein argumentatives Eigentor, mit dem Hinweis auf eine schlummernde Totipotenz aller Körperzellen das Totipotenz-Argument kippen zu wollen.

In diesem Zusammenhang sind zwei Dinge zu unterscheiden: Einmal die technische Frage, ob es überhaupt möglich ist, auf dem Weg der induzierten Reprogrammierung totipotente

und nicht nur pluripotente Zellen zu erzeugen. Und zum andern, ob selbst dann, wenn diese Möglichkeit nachgewiesen wäre, dem Ausgangspunkt dieser Reprogrammierung, der differenzierten Körperzelle, deshalb schon die Eigenschaft der Totipotenz zugeschrieben werden muss. Als Beitrag zur ersten Frage haben JAENISCH und Mitarbeiter schon in ihren ersten iPS-Protokollen darauf hingewiesen, dass Umfang und Grad der Reprogrammierung von der Einwirkungsdauer der transgenen Faktoren abhängen und es somit in der Hand des Experimentators liegt, welche Produkte er aus den Körperzellen erzeugen will (MAHERALI et al. 2007). H. SCHÖLER war von Anfang an skeptisch, ob eine Reprogrammierung über den Zustand der Pluripotenz hinaus möglich ist, weil die verwendeten Faktoren nicht geeignet seien, die Remodellierung des Genoms bis in den befruchtungstypischen Demethylierungszustand (REIK et al. 2001) voranzutreiben. Die gegenwärtig favorisierte Sicht ist, dass die exogenen Reprogrammierungsfaktoren notwendig seien, um die Körperzellen gegen das Gefälle der „epigenetischen Landschaft“ (C. WADDINGTON) auf die Höhe des Pluripotenzzustands zurückzubringen, dass es aber weiterer, noch wenig definierter zelleigener Mechanismen bedürfe, diesen Zustand aufrechtzuerhalten, was nur in seltenen Fällen vorkomme (YAMANAKA 2009). Wenn schon der dauerhafte Erwerb von Pluripotenz durch das Verfahren der Reprogrammierung ein schwer steuerbares Ereignis ist, dann scheint es noch unwahrscheinlicher, auf diese Weise bis zum Zustand bleibender Totipotenz vorzustoßen. Dies ist selbstverständlich kein zwingendes Argument; es unterliegt zudem dem Verdacht, dass es sich hierbei um eine bloße Beschwichtigungsstrategie handeln könnte.

Aber auch für den Fall, man könnte durch induzierte Reprogrammierung tatsächlich totipotente Zellen erzeugen, bleibt festzustellen: Differenzierte Körperzellen sind selber *nicht mehr* totipotent und werden es auch durch die Möglichkeit der induzierten Reprogrammierung nicht. Auch wenn man auf diesem Weg, verlängert über die iPS hinaus, totipotente Zellen erzeugen könnte, muss darum der Ausgangspunkt nicht selbst schon totipotent sein. Vielleicht sollte man sagen, die solcherart wieder erworbene Totipotenz ist keine potentielle, sondern eine emergente Eigenschaft. Das Problem liegt hier einmal mehr in der Unschärfe bzw. Mehrdeutigkeit des Potenzbegriffs. Es ist darum nicht nur Beckmesserei, mit dem Stolz des Philosophen auf die Einhaltung von gewissen Definitionsstandards zu dringen. Natürlich werden die Körperzellen durch die Reprogrammierung zu pluri- oder gar totipotenten Embryonalzellen zurückverwandelt und haben insofern das *Potential* dazu, aber das haben sie *nicht aus sich selbst*, sondern erst durch die Manipulation des Experimentators. Es handelt sich bei ihnen also um ein *passives Vermögen*, nicht um ein aktives. Und gegenüber einer passiven Potenz gibt es keine Bringschuld auf Verwirklichung, wie das klassische Beispiel des Marmors als „potentieller Statue“ zeigen kann. Nur der aktiven Potenz gegenüber kann ich von Bringschuld bzw. Verpflichtung sprechen, insofern es in meiner Hand liegt, dieses Vermögen an seiner eigenen Verwirklichung zu hindern.

Zwei weitere Begriffe können uns helfen, den Status der iPS-Zellen genauer zu klären. Aus diesem Unternehmen lassen sich meines Erachtens dann Ansätze gewinnen, um auch auf anderen Problemfeldern der embryonalen Statusfrage argumentative Alternativen zu bieten. Das ist der eigentliche Grund, warum ich die induzierte Reprogrammierung für einen „Königsweg“ halte. Nicht weil sie die herkömmliche ES-Forschung überflüssig macht (wobei noch gar nicht klar ist, ob das wirklich der Fall sein wird), sondern weil die Reflexion auf diesen Ansatz mehr Lösungswege eröffnet, als man für das Verfahren selber bräuchte. Darum also „mehr Königsweg als erwartet“, oder vielleicht noch besser: „ein wider Erwarten breiter Königsweg“.

## 2. Biofakte

Der erste weiterführende Begriff ist der des Biofakts – ein Neologismus, den wir Nicole KARAFYLLIS verdanken. Es handelt sich um ein Mischwort aus griech. *bíos* und lat. *artefactum*, das bildlich genau das ausdrückt, worum es in der Biotechnik geht: um die künstliche Herstellung von Natürlichem bzw. Lebendigem. Ein Klon ist so ein Biofakt *par excellence*, und eine iPS-Zelle selbstverständlich auch.

Vielfach wird KARAFYLLIS' Biofaktbegriff aufgrund ihrer oft schwammigen Erklärungen als für einen wissenschaftlichen Gebrauch ungeeignete Begriffsdichtung abqualifiziert. Mir scheint aber der Grundansatz, zumindest wie er von ihr in einer Veröffentlichung in der Zeitschrift *Erwägen Wissen Ethik* veröffentlicht wurde (KARAFYLLIS 2006), für unsere Zwecke durchaus hilfreich. Das Artifizielle am Biofakt ist hiernach seine Herstellung. Er kommt nicht von selbst zustande, sondern durch unser menschliches Tun (Technikaspekt des Biofakts). Andererseits, wenn wir die Bedingungen für seine Herstellung erst einmal geschaffen haben, beginnt der Bios sein Eigenleben, und das weitere „Wachsen“, wie KARAFYLLIS (für meine Begriffe zu unscharf) dafür sagt, nimmt seinen spontanen, autonomen Verlauf (Physisaspekt). Auf den ersten Blick gilt das für die iPS-Erzeugung. Unser Reprogrammierungscocktail setzt den Prozess in Gang. Aber was dann abläuft, macht die Zelle selber und wird nicht mehr von uns „hergestellt“. Ein Vergleich mit anderen Verfahren zeigt, dass diese Charakterisierung zutreffend, aber noch nicht hinreichend ist:

- Die Abtrennung einer totipotenten Blastomere wäre nach diesem Kriterium auch ein Biofakt. Wir stellen den Startpunkt künstlich, durch Biopsie, her, aber die darauf einsetzende Entwicklung wäre natürliches „Wachstum“.
- Oder die künstliche Befruchtung: Auch hier liegt der Beginn des Prozesses in unserer Hand, der Prozess selbst ist aber offensichtlich naturgegeben. Ist ein IVF-Kind damit ein Biofakt?
- Mit etwas Spitzfindigkeit könnte man sogar den natürlichen Fortpflanzungsakt als „biofaktisch“ charakterisieren. Auch hier hängt der Beginn des Prozesses an unserem willentlichen Tun, und erst dann nimmt die Natur ihren Verlauf.

Natürlich ist das Sophisterei. Bei genauerem Hinsehen wird sofort klar, dass der Prozess, um den es hier geht, mit der Befruchtung beginnt, und die ist, aller Fortpflanzungstechnik zum Trotz, selbst bei der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) immer noch ein der Physis der Zelle anheim gegebenes Geschehen. Wir müssen also schon genauer zwischen Bedingungen und Ursachen unterscheiden. – Aber gilt das nicht auch für die iPS-Herstellung? Schaffen wir mit der Einwirkung des Reprogrammierungscocktails nicht auch nur Bedingungen und müssen abwarten, ob und wann im Einzelfall (der selten genug ist) etwas passiert?

## 3. Intrinsische/extrinsische Zielsetzung

Um hier weiterzukommen, ist die Einführung eines weiteren Begriffspaars angezeigt: die Unterscheidung von intrinsischer und extrinsischer Zielsetzung. Eigentlich ist das dieselbe Unterscheidung, die auch dem Begriffspaar von aktiver und passiver Potenz zu Grunde liegt, aber mit dem Rückgriff auf den Begriff des Ziels wird das Ganze noch deutlicher. Ich verdanke diese Einsicht ausgerechnet dem einigermaßen zweifelhaften Vorschlag, mit dem William B. HURLBUT die Erzeugung ethisch unbedenklicher ES-Zellen durch Nukleartransfer

erreichen wollte (HURLBUT 2006). ANT heißt dieses Verfahren, *Altered Nuclear Transfer*, das durch JAENISCHS experimentellen *proof of principle* allgemeine Bekanntheit erlangt hat (MEISSNER und JAENISCH 2006).

HURLBUT's Beweisführung fußt auf der Voraussetzung, dass, wie er selbst sagt, mit der Befruchtung das Entwicklungsziel des Embryos „intrinsicly“ gegeben sei. Darum sei ja auch die Zygote schon als voller Mensch zu schützen, weil der daraus sich entwickelnde Mensch von nichts anderem mehr abhängt als von diesem „inherent program“. Das kann man anzweifeln, aber darauf will ich jetzt nicht eingehen. Sein Argument für ANT lautet nun: Wenn ich am Genbestand der für den Nukleartransfer verwendeten Zelle etwas ändere, liegt nach Fusion dieses (entwicklungsdefekten) Genoms mit einer enukleierten Eizelle etwas „ganz anderes“ vor als das „inherent program“ einer entwicklungsfähigen Zygote. Während er eine durch „normalen“ Kerntransfer geklonte Eizelle für einen Embryo hält, ist für ihn das ANT-Konstrukt eine davon völlig verschiedene Entität, die entsprechend auch keine Schutzwürdigkeit besitzt. Ich habe vor zwei Jahren mit HURLBUT über das Widersprüchliche an seiner Argumentation zu diskutieren versucht, bin aber nicht sehr weit gekommen. Er antwortete mir auf meine Bedenken kurz, er sei natürlich kein Philosoph, aber er habe die Zustimmung von höchster Stelle aus dem Vatikan für sein Verfahren, und er zeigte mir als Beweis dafür einen schon recht abgegriffenen Brief mit dem Siegel der römischen Glaubenskongregation. Gegen soviel Unterstützung aus dem moralischen Hintergrund war ich natürlich machtlos. Das Eintreten für das vollständige Menschsein der Zygote überzeugt dort anscheinend allemal, gleichgültig wie zwielichtig das sonstige argumentative Umfeld sein mag, mit dessen „empirischen Details“ man sich offenbar auch nicht weiter abgeben wollte. Wir wollen die Problematik von HURLBUTS Ansatz an dieser Stelle nicht weiter diskutieren, kommen darauf aber bei den Fallbesprechungen nochmals zurück.

Mit der Unterscheidung von innerem (intrinsischem) und äußerem (extrinsischem) Ziel lässt sich nun der Physisanteil des Biofakts, also sein „Wachsen“, genauer bestimmen: Ist nur die Herstellung selber extrinsisch bestimmt und der weitere Verlauf des Wachstumsprozesses die reine Konsequenz eines bereits bestehenden intrinsischen Potentials oder Programms, dem bisher nur die Startbedingungen für seine Verwirklichung fehlten? Oder kontrolliert und beeinflusst die extrinsische Herstellungsabsicht auch den weiteren Verlauf dieses Wachstums und übt somit einen determinierenden Einfluss auf dessen intrinsisches Potential aus? Entsprechend dieser Fragestellung seien im Folgenden im Ausgang von der iPS-Herstellung weitere Fälle diskutiert, die zeigen sollen, wie brauchbar diese eingeführte Begrifflichkeit für eine ontologische Bewertung der jeweiligen Biofakte und ihrer tatsächlichen oder vermeintlichen Äquivalenz mit Embryonen ist. Als letzter Fall wird die Übertragbarkeit dieses Ziel-Kriteriums auf die künstliche Erzeugung von Embryonen diskutiert. Es soll dabei ausdrücklich nur um die Brauchbarkeit der teleologischen Beurteilung für eine ethische Bewertung gehen, nicht um die ethische Bewertung selbst, die ihre Grundlage auch von anderen Gesichtspunkten her finden kann.

#### **4. Fall 1: induzierte pluripotente Stammzellen (iPS)**

Im Sinne des von HURLBUT postulierten inhärenten Entwicklungsprogramms der Zygote ist eine reprogrammierbare Körperzelle mit keinem derartigen intrinsischen Ziel ausgestattet. Ihre Differenziertheit besagt ja gerade, dass sie auf keine Entwicklung weiterer Möglichkei-

ten mehr angelegt ist, sondern als das zu funktionieren hat, was sie ist. Entsprechend ist ihr Genom auch durch allerhand epigenetische Kniffe in seiner Ablesbarkeit eingeschränkt.

Etwas anderes wäre es freilich, wenn es sich beim Ausgangsmaterial der iPS nicht um differenzierte Körperzellen handelte, sondern um im Gewebe vereinzelt eingelagerte adulte Stammzellen. Diese besäßen ein gewisses, in seinem Umfang von Außenbedingungen abhängiges eigenes Entwicklungspotential. Aber auch hier läge das Ziel, was sie werden sollen, nicht einfach in ihnen selbst, sondern wird extrinsisch von der Umgebung (Stammzellnische, Zellkommunikation) spezifiziert. (Es ist schwer anzugeben, wie weit pluripotente ASCs [*Adult Stem Cells*], wie etwa VERFAILLIES MAPCs [*Multipotent Adult Progenitor Cells*], dieser Beurteilung entsprechen, solange nicht klar ist, ob sie von vornherein als multipotente Stammzellen vorliegen oder erst unter Kulturbedingungen von adulten Stammzellen des Knochenmarks auftreten.)

Das Ingangsetzen der Reprogrammierung entstammt also offensichtlich ganz einer extrinsischen Zielsetzung – das ist der Technikaspekt des Biofakts iPS. Natürlich vollzieht eine dieser Behandlung unterzogene Zelle die mit den exogenen Faktoren mögliche Reprogrammierung als eigentätiges „Wachstum“. Trotzdem ist auch dieses Wachstum in weit stärkerem Maß kontextabhängig als die Regulationsfähigkeit einer abgetrennten Blastomere. Es ist das definierte, vom extrinsischen Ziel der iPS-Produktion geleitete Einhalten einer bestimmten Einwirkungsdauer der Transgene sowie die gezielte Selektion von im richtigen Zustand sich befindenden Zellindividuen, die hier den Ausschlag gibt. Ohne die bleibende Präsenz des extrinsischen Ziels, sprich der Kontrolle durch den Hersteller, geht hier gar nichts. Daran ändert auch die Tatsache nichts, dass es inzwischen sehr verschiedene Protokolle für die Herstellung von iPS-Zellen gibt, die je nach verwendetem Ausgangszelltyp und verwendeter Genfahre eine weniger aufwendige Einflussnahme auf den Reprogrammierungsprozess erfordern. So konnten z. B. SCHÖLER und Mitarbeiter bei der Reprogrammierung von fetalen neuralen Stammzellen des Menschen (NiPS-Zellen) die Zahl der exogenen Faktoren bis auf einen (Oct-4) reduzieren (KIM et al. 2009) und eine Forschergruppe um K. HOCHEDLINGER durch die Verwendung von Adenoviren statt der üblichen Retroviren auf die Integration der Transgene ins Wirtsgenom verzichten (STADTFELD et al. 2008). In all diesen Fällen bleibt es aber ein sehr unspezifisches intrinsisches Ziel des – genomabhängigen – Wachsenkönnens, das hier die Grundlage für die Spezifizierung durch das extrinsische Ziel abgibt. Freilich ist das mehr als nur die passive Potenz des Marmors gegenüber dem Ziel des Bildhauers. Das Biofakt ist wirklich ein *Biofakt* und dementsprechend auch aktiv tätig, statt ausschließlicher Fremderstellung unterworfen zu sein. Aber selbst wenn die induzierte Reprogrammierung nach dem Einschleusen der dafür notwendigen Gene ein vollständig zellautonomer Vorgang wäre (was sie nicht ist, wie die Selektionsmethodiken beweisen), wäre ihr Zustandekommen immer noch vollständig vom Vorliegen der extrinsischen Reprogrammierungsabsicht abhängig. Es gibt hier nicht so etwas wie ein vorgängiges latentes „Reprogrammierungspotential“, das nur die richtigen Bedingungen braucht, um endlich das tun zu können, *wofür* es von Haus aus schon immer da war. Das Fehlen eines derartigen inhärenten Funktions- bzw. Programmaspekts ist es, was hier die Bestimmung durch das extrinsische Ziel so stark macht. Entsprechend hängt auch die Spezifizierung des Endprodukts, des intendierten Biofakts, ausschließlich an dieser extrinsischen Zielsetzung. Wenn der Hersteller iPS-Zellen erzeugen will (und deren ethische Zulässigkeit ist nach allem, was wir bisher erörtert haben, evident), kann nichts und niemand etwas anderes von ihm verlangen.

## **5. Fall 2: Embryonale Stammzellen (ES)**

Damit machen die iPS nur besonders deutlich, was auch für die ES-Erzeugung gilt. Auch ES-Zellen sind keine natürlichen Entitäten, an deren Funktion man ihr intrinsisches Ziel ableiten könnte. Sie haben kein bestimmtes Entwicklungsziel, sondern lediglich eine umfassende Pluripotenz, und wie diese spezifiziert wird, ist (zumindest ist das der Wunsch) vom Hersteller determiniert. Das gälte sogar für den Fall, dass ES-Zellen unter bestimmten Kulturbedingungen zur Bildung eines Embryos auswachsen können. Wenn das nicht der Zielsetzung des Herstellers entspricht, kann nicht von ihm verlangt werden, derartige Kulturbedingungen zu schaffen. Insofern ist das von DENKER (2004) gegen die ES-Forschung geäußerte *Cave* aufgrund ihrer möglichen inhärenten Totipotenz gegenstandslos.

Etwas anderes ist die *Herstellung* von ES-Zellen, und hier geht es nicht allein um die dabei erfolgende Zerstörung von Blastozysten. Die durch diese Zerstörung gewonnene Innere Zellmasse (ICM), bekanntlich das Ausgangsmaterial für die ES-Produktion – aber, was oft übersehen wird, nicht mit ihnen identisch –, hat ein eigenes inneres Ziel: die Bildung eines Epiblasten (plus gewisser extraembryonaler Gewebe). Durch die Kulturbedingungen der ES-Erzeugung wird dieses inhärente Ziel von der extrinsischen Zielsetzung des Herstellers umfunktioniert. Es entstehen veränderte, vom normalen Entwicklungsverlauf verschiedene, embryonale Körper (*embryoid bodies*), aus denen sich mit der Zeit ES-Linien isolieren lassen. Diese Umwidmung des ursprünglichen Entwicklungsziels bliebe aus dem Kontext unserer Überlegungen heraus problematisch bzw. zu rechtfertigen, selbst wenn die Blastozyste als Ganzes dabei nicht zu Schaden käme. Der Entwicklungsweg zum Biofakt ES-Zelle wird hier ganz wie bei der iPS-Gewinnung extrinsisch kontrolliert und diktiert, aber im Gegensatz zu jener liegt hier mit der extrinsischen Kontrolle ein Zwang vor, durch den das ursprüngliche, ICM-immanente Entwicklungsziel verändert wird.

## **6. Fall 3: Klonen durch somatischen Kerntransfer (SCNT)**

Das biotechnische Ziel, einen „therapeutischen Klon“ zu schaffen, zu welchem Zweck auch immer (Zellersatz oder zelluläre Krankheitsmodelle), bestimmt die Entstehung extrinsisch. Trotz aller auch hier notwendigen äußeren Kontrolle des Entwicklungsverlaufs durch den Experimentator entspricht die Entwicklungsfähigkeit eines solchen Konstrukts dem intrinsischen Vermögen der Oozyte. Es ist deren normale Aufgabe, in ihr vorhandene oder neu eintretende Genome zu reprogrammieren. Insofern liegt hier im Unterschied zur ES-Gewinnung keine zwangsweise Änderung der Funktion vor. Von einer solchen könnte man nur im Hinblick auf die Fortpflanzung sprechen, wofür Oozyten als Ausgangspunkte der Bildung weiblicher Gameten von Haus aus da sind. Allerdings ist die Festlegung auf dieses intrinsische Ziel nicht ausschließlich, wie das – programmgemäße – Absterben vieler Oozyten im Zuge der Eireifung zeigt. Insofern ließe sich eine Umwidmung von nicht zur Fortpflanzung kommenden bzw. dafür nicht (mehr) benötigten Oozyten rechtfertigen. Das besagt allerdings nichts gegen andere, aus konsequenzialistischen Gründen erhobene Bedenken gegen die Oozytenspende.

Noch weniger scheint die Verwendung heterologer Oozyten als SCNT-Rezipienten vom Standpunkt der Zielsetzung her problematisch zu sein. Der Vorwurf einer (möglichen) Tier-Mensch-Chimärenbildung ist sachlich unberechtigt. Es sind also wohl nur psychologische Barrieren, welche hier der Durchführung im Wege stehen. Eine andere Frage ist die physiolo-

gische Sinnhaftigkeit des Unternehmens (Inkompatibilitäten in der mitochondrial-nukleären Gen-Kommunikation).

## 7. Fall 4: Reproduktion

In der Tat ist auch die natürliche Reproduktion von einem Zusammenspiel extrinsischer und intrinsischer Zielsetzung gekennzeichnet – allerdings in einer anderen als der eingangs als „sophistisch“ apostrophierten Weise. Es stimmt einfach nicht mit den Fakten überein, und damit komme ich auf HURLBUT zurück, wenn man behauptet, die Entwicklung des Embryos sei restlos von seinem intrinsischen Ziel bestimmt. Sie ist vielmehr eingebettet in eine extrinsische maternale Zielsetzung des koordinierten Zusammenspiels von Eireifung und uteriner Empfängnisbereitschaft. Gewiss haftet dadurch dem menschlichen Embryo nichts Biofaktisches an, aber er entwickelt sich auch nicht selbständig wie ein Frosch. Die zeitliche Feinabstimmung der Embryogenese mit der zyklusabhängigen Konzeptivität ist offenbar so selbstverständlich, dass das Innovative dieses von den Säugern eingeschlagenen Wegs in seinen ersten Anfängen übersehen oder unterbewertet wird. Es werden hier ja nicht nur (zugestanden komplizierte) Bedingungen für die Entwicklung des Embryos bereitgestellt, sondern dessen Entwicklungsziel ist in ein definitiv darauf bezogenes Fortpflanzungsziel des Mutterorganismus eingebettet.

Hier wird nun deutlich, warum an HURLBUTS Vorschlag, mit ANT eine ethisch unbedenkliche ES-Gewinnung möglich zu machen, Einwände anzumelden sind. Wenn das ANT-Konstrukt ein reines Biofakt sein soll, das keinen Schutz verdient, dann offenbar deshalb, weil es als völlig unabhängig von diesem maternalen Fortpflanzungsziel betrachtet wird. Dem kann man zustimmen. Warum aber bei derselben Unabhängigkeit vom maternalen Fortpflanzungsziel ein „normaler“ SCNT-Klon kein Biofakt, sondern ein Embryo sein soll, ist schwer nachzuvollziehen. Wenn für letzteren die Beziehung zum maternalen Fortpflanzungsziel doch von Bedeutung sein soll (und anders kann man ihn nicht zu Recht als Embryo auffassen), wird aber das ANT-Konstrukt zum vorsätzlich defekt gemachten Embryo. Ich sehe nicht, wie man diesem Dilemma entkommen könnte.

Ganz abgesehen von HURLBUT lässt sich von diesem Zusammenhang zwischen embryonalem Entwicklungsziel und maternaler Fortpflanzungsbereitschaft her fragen, in wie weit eine Störung dieses natürlichen Zusammenhangs durch ART überhaupt zu rechtfertigen ist. Eine solche Störung muss zwar nicht schon wegen ihres bloßen Eingriffscharakters als nicht mit der Natur vereinbar und damit der Würde der menschlichen Fortpflanzung widersprechend grundsätzlich abgelehnt werden, aber sie unterliegt einer Begründungspflicht. Es muss um einen entsprechenden Wert gehen, der die Beeinträchtigung bzw. Veränderung des natürlichen Zielzusammenhangs in der ethischen Einschätzung aufwiegt.

- Die Verwendung von ART zur Erzeugung von Embryonen für Forschungszwecke kann das wohl kaum. Sie widerspricht dem intrinsischen Ziel, gegeben durch die natürliche Funktion der Gameten und der Befruchtung ebenso wie dem (übergeordneten) extrinsischen Fortpflanzungsziel. Man kann nicht sagen, dass letzteres einfach eine Frage der Absicht (der Eizellspenderin) sei. Das extrinsische Ziel, um das es hier geht, ist vom Selbstzweck des Organismus her festgelegt. Man kann in Frage stellen, ob dieser Selbstzweck in sich schon ein schutzwürdiges Gut ist; aber davon gehen wir im Fall des Menschen allgemein aus. Auf jeden Fall muss man sich klar sein, dass Eizellspende zu



Forschungszwecken eine komplette Umorientierung der ursprünglichen maternal-extrinsischen Zielsetzung bedeutet.

- Das Problem einer Ziel-Umorientierung existiert bei der assistierten Reproduktion natürlich nicht. Als Beseitigung bzw. Supplementierung von Funktionsstörungen im Bereich des natürlichen Reproduktionszusammenhangs liegt sie auf einer Linie mit dessen extrinsischer Zielsetzung, die Entwicklung eines Embryos zu ermöglichen. Insofern entspricht sie auch dem Heilungsauftrag des Arztes, auch wenn sophisticated dagegen eingewendet wird, Kinderlosigkeit sei keine Krankheit. Es ist selbstverständlich nicht das Faktum der Kinderlosigkeit (die aus vielen verschiedenen Gründen vorliegen kann), sondern die Dysfunktion in der reproduktiven Regulation, die völlig zu Recht als Krankheit (engl. *disorder*) angesehen wird. Problematisch ist dagegen der Weg der absichtlichen Überproduktion von Embryonen, der als extrinsisch determinierte Abweichung vom natürlichen Reproduktionsverlauf angesehen werden kann. Die damit unvermeidliche Konsequenz der Embryonenselektion wäre dann nicht (nur) vom ontologischen Grund einer vorsätzlichen Beseitigung (*per se* schutzwürdigen) menschlichen Lebens her zu beurteilen (abzulehnen) – die Klammern betreffen die Position des absoluten menschlichen Lebensschutzes –, sondern auch, analog zur ES-Gewinnung, die Umorientierung des Entwicklungsverlaufs. Allerdings verfolgt diese, im Gegensatz zur ES-Gewinnung, kein neues Ziel, sondern benützt nur andere Mittel, um das weiter bestehende Reproduktionsziel zu erreichen. Damit stellt sich die Frage, wie übergeordnet das extrinsische Reproduktionsziel dem intrinsischen embryonalen Entwicklungsziel gegenüber ist. Gewiss sind hierauf verschiedene Antworten möglich, die jedoch alle in unterschiedlichen Einschätzungen dieses Zusammenhangs gründen und nicht in einer schon von vornherein feststehenden Alles-oder-nichts-Entscheidung. Insofern ist von diesem Zielsetzungsansatz her auch der Standpunkt nicht ausgeschlossen, die Überordnung des extrinsischen Reproduktionsziels über das davon abhängige embryonale Entwicklungsziel determiniere auch die Wahl der Mittel. Der Einwand, dass es sich hierbei um unerlaubte Mittel handle, ist nur stichhaltig, wenn man den Rahmen der teleologischen Beurteilung verlässt und wieder zur ontologischen Totipotenz-Argumentation zurückkehrt.

## **8. Warum nicht doch lieber Totipotenz?**

Die Antwort auf den Einwand, ob es dann nicht doch sicherer sei, den Embryonenschutz auf die bewährte Grundlage des Totipotenz-Arguments zu stellen, lautet schlicht, dass seine Ontologisierung nicht hält, was sie herzugeben verspricht. Dieses Ungenügen hat nicht nur die Begründungsproblematik der iPS-Forschung gezeigt. Es lässt sich auch grundsätzlich feststellen. Diesen Standpunkt hat für mein Empfinden am deutlichsten Anthony KENNY vertreten (KENNY 2007). Im Anschluss an ihn ist festzuhalten, dass Totipotenz als entwicklungsbiologische Bezeichnung für früh-embryonale Regulationsphänomene geradezu der Beweis für eine *noch nicht* vorhandene Individualität ist, statt deren Vorhandensein zu begründen. Totipotenz als Regulationsphänomen besagt, dass eine embryonale Zelle (oder auch ein Embryo) in diesem Zustand noch nicht auf einen definitiven Entwicklungsweg festgelegt ist, sondern noch Verschiedenes werden kann. Solange das der Fall ist, kann von individueller Identität noch nicht die Rede sein. Ein totipotenter Organismus kann eine Zerstückelung seiner Einheit regenerieren (vgl. die klassischen Totipotenz-Experimente), er ist, wie DRIESCH

das zu Recht genannt hat, ein „harmonisch-äquivalentielles System“ und kein Individuum. Denn bei einem Individuum bedeutet Verletzung seiner Einheit Zerstörung. Damit kann dieser Begriff gerade nicht zur Begründung der Schutzwürdigkeit herangezogen werden, bzw. wenn, dann nur im umgekehrten Sinn: Solange ein Embryo noch totipotent ist, fehlt ihm die Voraussetzung für die personale Schutzwürdigkeit, die individuelle Identität! Wenn man also den Embryo auch zu diesem Zeitpunkt schon vollkommen schützen will, dann braucht es dafür ein anderes Argument als das eines mit der Befruchtung schon gegebenen „vollständigen“ Entwicklungspotentials. Es ist zu diesem Zeitpunkt in Wahrheit noch unvollständig, weil noch nicht hinreichend determiniert.

Gewiss hätte man zu diesem Fazit auch auf eine andere Weise kommen können als auf dem Weg über die iPS-Zellen. Aber manchmal braucht es (zumindest subjektiv) Umwege, um zu einem „Königsweg“ zu kommen, der sich dann auch noch als breiter herausstellt als erwartet.

### Literatur

- DENKER, H. W.: Early human development: new data raise important embryological and ethical questions relevant for stem cell research. *Naturwissenschaften* 91, 1–21 (2004)
- HURLBUT, W. B.: Framing the future: embryonic stem cells, ethics and the emerging era of developmental biology. *Pediatric Research* 59, 4R–12R (2006)
- KARAFYLLIS, N. C.: Biofakte. Grundlagen, Probleme und Perspektiven. *Erwägen Wissen Ethik (EWE)* 17/4, 547–558 (2006)
- KENNY, A.: The beginning of individual human life. *Proceedings of the American Catholic Philosophical Association* 80, 29–38 (2007)
- KIM, J. B., GREBER, B., ARAÚZO-BRAVO, M. J., MEYER, J., PARK, K. I., ZAEHRES, H., and SCHÖLER, H. R.: Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. *Nature* 461, 649–653 (2009)
- KUMMER, C., und HÖHN, D.: Adult oder embryonal? Zu gegenwärtigen Trends in der Stammzellforschung. *Stimmen der Zeit* 220, 834–846 (2002)
- MAHERALI, N., SRIDHARAN, R., XIE, W., UTIKAL, J., EMINLI, S., ARNOLD, K., STADTFELD, M., YACHECHKO, R., TCHIEU, J., JAENISCH, R., PLATH, K., and HOCHEDLINGER, K.: Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell* 1, 55–70 (2007)
- MEISSNER, A., and JAENISCH, R.: Generation of nuclear transfer-derived pluripotent ES cells from cloned Cdx2-deficient blastocysts. *Nature* 439, 212–215 (2006)
- REIK, W., DEAN, W., and WALTER, J.: Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 293, 1089–1093 (2001)
- STADTFELD, M., NAGAYA, M., UTIKAL, J., WEIR, G., and HOCHEDLINGER, K.: Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science* 322, 945–949 (2008)
- YAMANAKA, S.: Elite and stochastic models for induced pluripotent stem cell generation. *Nature* 460, 49–52 (2009)

Prof. Dr. Christian KUMMER  
Hochschule für Philosophie München  
Kaulbachstraße 31a  
80539 München  
Bundesrepublik Deutschland  
Tel.: +49 89 23862324  
Fax: +49 89 23862002  
E-Mail: [chkummer@htph.mwn.de](mailto:chkummer@htph.mwn.de)

## The Dignity of a Cell in Culture

Bernhard FLECKENSTEIN ML (Erlangen)

### *Abstract*

In March 2005, Professor Ian WILMUT, director of the *Department for Gene Expression and Development of Roslin Institute* near Edinburgh, was given the Paul-Ehrlich-and-Ludwig-Darmstaedter award. In his pioneering work, Ian WILMUT had shown that the transfers of nuclei from differentiated somatic cells in denucleated egg cells can lead to the creation of a mammal organism. For this act, the Paul Ehrlich Foundation was criticized by various national media and in some cases also by public institutions. It was claimed that a prestigious state award cofinanced with public money should not go to a researcher whose work might possibly be forbidden in Germany. On the other hand, this discussion started an intensive discourse on the ethics of stem cell research with the question of what the moral basis can be to protect the dignity of individual totipotent cells. The question was asked of whether a researcher's work whose ethical acceptance depended on subjective value concepts should be regulated by penal law. The paper outlines the history of nuclear transfer and continues with a discussion of whether ethical issues should prevent nuclear transfer and, in a wider sense, embryonal stem cell research or whether ethical responsibility can contribute to advancing a relevant future trend in biomedical research.

### *Zusammenfassung*

Im März 2005 erhielt Professor Ian WILMUT, Direktor des *Departments for Gene Expression and Development* im *Roslin Institute* bei Edinburgh, den Paul-Ehrlich-und-Ludwig-Darmstaedter-Preis. Ian WILMUT hatte durch seine Pionierarbeiten gezeigt, dass der Transfer von Kernen aus differenzierten somatischen Zellen in entkernte Eizellen zur Schaffung eines Säugerorganismus führen kann. Die Paul-Ehrlich-Stiftung wurde durch verschiedene nationale Medien und zum Teil durch öffentliche Einrichtungen für ihren Beschluss kritisiert. Es wurde vorgetragen, dass ein hochrangiger Staatspreis, der durch öffentliche Mittel teilfinanziert ist, nicht an einen Wissenschaftler verliehen werden dürfte, dessen Arbeit in diesem Land möglicherweise verboten sein könnte. Andererseits eröffnete diese Diskussion einen intensiven Diskurs über die Ethik der Stammzellforschung mit der Frage, was die moralische Basis sein kann, um die Würde einzelner totipotenter Zellen zu schützen. Es wurde gefragt, ob die Forschertätigkeit, deren ethische Akzeptanz von subjektiven Wertungen abhängt, durch Strafrecht reguliert sein sollte. Dieser Beitrag skizziert die Geschichte des Kerntransfers und leitet über zur Diskussion, ob ethische Prinzipien den Kerntransfer und, im weiteren Sinne, die embryonale Stammzellforschung verhindern sollen, oder ob vielmehr die ethische Verantwortung eher dazu drängt, eine relevante künftige biomedizinische Forschungsrichtung zu fördern.

Virology depends on cell cultures of human and other mammalian origin. Virologists have never asked if there is any moral problem in terminating primary cell cultures or human tumor cell lines by virus infection, by triggering apoptosis or by autoclaving the cultures. I became confronted with the question, if human cells in culture deserve protection by ethical reasons, through my membership in the scientific board of the Paul Ehrlich Foundation. The board is an international committee that yearly selects the winner of the Paul Ehrlich- and Ludwig

Darmstaedter Prize that is awarded each year at Paul Ehrlich's birthday on March 14 in the Paulskirche in Frankfurt. This research award is under the auspices of the President of the German Republic; it is among the highest ranking prizes in Germany to honor original scientific breakthroughs. It is presently endowed with 100.000 € yearly. The Paul Ehrlich Committee has frequently honored scientists who, later on, received the Nobel Prize. These were, during the past years, for instance Harald ZUR HAUSEN who detected human oncogenesis by papillomaviruses, Stanley PRUSINER who coined the term *prion*, Robin WARREN and Barry MARSHALL for the detection of *Helicobacter pylori* as well as Andrew FIRE and Craig MELLO for the description of small interfering RNA.

In March 2005, Ian WILMUT, Director of the Department for Gene Expression and Development in the Roslin Institute near Edinburgh, received the Paul Ehrlich- and Ludwig Darmstaedter Research Award, as he had pioneered the generation of mammalian organisms through the transfer of nuclei from differentiated somatic cells into enucleated oocytes. Ian WILMUT and his colleagues had reported eight years before that the transfer of a cell nucleus that was removed from the cell culture derived from an adult sheep into an enucleated oocyte can result in a totipotent cell. This developed into a sheep that appeared phenotypically normal. This pioneer experiment has proven that the non-sexual reproduction is possible from an adult mammalian organism – an experiment that was termed *cloning*. The first cloned sheep became world-famous under the name *Dolly*. Ian WILMUT has opened, together with Keith CAMPBELL and further co-authors, an entirely new research direction; he has also advocated thoughtful regulations in applying the new techniques. In an early publication that was co-authored with Rudolf JAENISCH, he wrote that human individuals should not be created by cloning. But he did also propose that the new technologies should be used for medical progress in accordance with international law.

The Paul Ehrlich Foundation was criticized by numerous national German media and, in part, by representatives of public institutions, for its decision. It was argued that a highly ranked state research award that is endowed by public resources and stands under the auspices of the Federal President must not be awarded to a scientist whose work would be punishable within the country. This discussion, however, opened the discourse on the ethics of generative medicine, asking for the moral basis or necessity to protect single totipotent cells. It was asked if scientific work whose ethical acceptance depends on subjective judgments should be regulated by penal law. In the laudation during the award ceremony, I summarized briefly the history of nuclear transfer, in order to discuss if ethical principles preclude nuclear transfer and, in a wider sense, embryonic stem cell research, or if, alternatively, ethical responsibility implies the need to advance a highly relevant future biomedical research direction.

Ian WILMUT, born in July 1944, studied animal physiology at the Nottingham University School of Agriculture. He did his Ph. D. thesis at the Darwin College in Cambridge, UK, under his thesis advisor Prof. Chris POLGE, working on the cryoconservation of boar semen. Since then, he remained in the scientific field of reproduction biology, first as a postdoctoral fellow in the laboratory of POLGE. In 1973, he succeeded first time in freezing an early calf embryo, thawing the embryo and implanting into a foster mother. This resulted in the first freeze calf that was named *Frostie*. Cryoconserved calf embryos are relevant for agriculture. In the meantime, the technology is also relevant for species conservation.

In 1973, Ian WILMUT took the position of a senior scientific officer at the Institute in Roslin in the hills south of Edinburgh, Scotland. At that time, it was named *Animal Breeding Research Organization*. It is a governmental institute that is meanwhile administered by the

British Research Council for Biotechnology and Life Sciences. WILMUT was focusing in his research during that time on prenatal disturbances of development in sheep and pigs. In 1981, he took the position of a principal investigator in the Roslin Institute. At that time, he began to follow up the successful work on the genetics and reproduction of sheep, first to create transgenic animals, then to define embryonic stem cells and, finally, the cloning technique. In 2000, he has become chairman of the Department for Gene Expression and Development of the Roslin Institute.

Ian WILMUT was always thinking in practical terms. He wrote that his dedication to medical biotechnology was motivated through the health problems of his father who was diabetic and became blind in consequence of this disease. He had to give up his profession as a teacher, and one of his legs had to be amputated, until he died in 1994.

Ian WILMUT was aiming at biotechnology by the use of domesticated animals, also termed *pharming*. It is the production of valuable pharmaceuticals with the milk of genetically modified animals. The first success was, in 1991, the birth of the transgenic sheep *Tracy*. In cooperation with a biotech company, expression cassettes for the enzyme Alpha-I-Antitrypsin were injected in sheep embryos. *Tracy* secreted this enzyme with milk in large amounts. Alpha-I-Antitrypsin is used for the treatment of a severe congenital lung disease termed cystic fibrosis. WILMUT recognized soon that the simple microinjection of DNA expression cassettes in early embryos was not efficient enough to reach all desired goals of *pharming* within a useful time span. It would remain dependent on applying the methods of mouse genetics in sheep and other domestic animals. It would be necessary to transfer the expression cassettes first into cell cultures in order to test the expression levels. However, to create transgenic sheep, the necessary embryonic stem cells were not available. WILMUT's group tried over years to obtain equivalent stem cells from sheep, until he recognized that this goal can hardly be met. The generation time is spanning years, not weeks. Sheep genetics require an enormous infrastructure and a lot of time. This led him to the conviction that the way to create genetically modified sheep should go through the transfer of entire cell nuclei from genetically modified cell cultures into enucleated oocytes. However, in the 1980s and the early 1990s, it was general opinion that this is simply not possible in mammalian organisms.

In 1977, the British embryologist John GURDON received the Paul Ehrlich- and Ludwig Darmstaedter Preis, after he was successful in transferring isolated nuclei from skin cells of frogs into enucleated oocytes, resulting in viable tadpoles. Karl ILMENSEE and Peter HOPPE published in *Cell* in January 1991 that they had generated mice through the transfer of embryonic nuclei from the inner cell mass of blastocytes into enucleated oocytes. This could not be reproduced by other groups. Professor ILMENSEE lost his position at the University of Geneva, and embryologists such as James MCGRATH and DAVOR SOLTER from Philadelphia declared that cloning of mammalian organisms may be, theoretically, possible, with nuclei from very early embryonic cells, but not with nuclei of differentiated mammals. It was generally accepted that the program of gene expression in a differentiated cell nucleus cannot be reverted.

In the late 1980s, there were the first trials to clone mammals through the transfer of early embryonic cell nuclei into enucleated oocytes. The Danish embryologist Steen WILLADSEN did ingenious pioneering work. WILLADSEN, who worked in Calgary, Canada, laid important foundations to the method of mammalian cloning. He transferred the cell nuclei from the inner cell mass of blastocytes. WILMUT could profit from many of his technical advances in the late 1980s. It led to the unconventional question if the potential for cloning by nuclear transfer is restricted to the totipotency of early embryonic cells – as was generally believed, or

if possibly differentiated cells may provide the nuclei for the transfer into oocytes. WILMUT's research in the early 1990s was mostly in cooperation with Keith CAMPBELL, to search for the relevant parameters for the transfer of totipotent nuclei. It turned out that regulation of the cell cycle is of utmost importance. Surprisingly, nuclear transfer seemed to work better with cells in the non-proliferative G1-phase. This led, in 1995, to the successful transfer, if the nuclei were taken from embryonic cells that had undergone certain phases of differentiation. This resulted in the two cloned sheep *Megan* and *Morag*, as reported in *Nature* in 1996. This has proven that the nuclei of differentiated cells can be used to create a cloned sheep; it was the proof of principle that a nucleus can undergo certain steps of re-differentiation.

Based on these results, Ian WILMUT applied to his government for support to conduct the next project, to investigate the developmental potential of quiescent cells from adult sheep. The result was *Dolly*, born on 5 July 1996, created through the transfer of a nucleus from the mammary gland of an adult sheep; the cells had gone through 13 passages in culture. There were 277 early embryos constructed through nuclear transfer; this resulted in 29 blastocytes. These were implanted into 13 foster sheep; a single viable sheep, *Dolly*, was born. Though many scientists had doubts about this experiment, the identity of the cloned sheep *Dolly* was soon confirmed through microsatellite analysis during the following months.

The existence of *Dolly* was a revolution of cell biology. Against the general opinion, nuclei of quiescent differentiated cells of an adult organism can be reprogrammed through factors of the cytoplasm and can reassume totipotency. This aspect alone is opening new aspects of epigenetics. It leads to ask how genes are inactivated in differentiated cells. It will be relevant for many directions of cell biology. At the same time, applied biotechnology has assumed a new direction. One year after *Dolly*, the sheep *Polly* was born in Roslin; it has secreted the clotting factor IX with the milk. This clotting factor is lacking in haemophilia type B, and the factor was obtained in biologically active form. The possible applications of cloning from adult cells for basic cell biology, for cancer research, for biotechnology, for animal breeding and species conservation may be unlimited.

The birth of *Dolly* suggested immediately that the cloning technology may also be applicable to human cells. Ian WILMUT has clearly expressed that the cloning technique should not be applied for the reproduction of human beings. In his book *Dolly* of 2001, he explains in detail why he is objecting reproductive human cloning (WILMUT et al. 2001). Human cloning could lead to diseases and malformations, as well as a hardly predictable psychology of a cloned human being.

In contrast to reproductive cloning, the scientific or therapeutical cloning appears promising in many directions. This would mean that embryonic stem cell lines are created through nuclear transfer, aiming at regenerative medicine. Cells of patients could be reprogrammed in order to infiltrate diseased organs with healthy tissue. This tissue would be autologous and not rejected by the immune system. On the longer run, therapeutical cloning could help patients with diabetes, Morbus Parkinson and other degenerative diseases of the central nervous system. Ian WILMUT is favoring therapeutical cloning trials, and he is working in the field in consent with the British legal system.

WILMUT's *Nature* paper from February 1997 has stirred more attendance in the ethical discussions than maybe any other publication before. It stimulated ethical philosophers, moral theologians, law specialists, legislatures and international committees, including a plenary session of the United Nations. The ethical considerations need to include nuclear cloning into the general discussion of embryonic stem cell biology. Stem cell biology, in general, will pos-

sess an enormous potential of which we do not know yet how far it will go in the future. The acceptance of scientific progress is of utmost importance for the society to master its future. Stem cell biology has opened enormous perspectives for medicine during the past years:

- Stem cell biology will help to understand early embryonic development and formation of tissues and organs. Stem cell biology will help to detect the factors that are necessary for the processes of cell differentiation.
- Stem cell biology may help in the replacement of non-regenerative damaged tissue, such as the insulin-producing pancreatic apparatus, liver and muscle cells as well as nerve cells or components of the eye.
- Stem cells may be used for the *in vitro* testing of new drugs, and
- the transduction of therapeutical genes may help to develop new pathways of somatic gene therapy.

While adult stem cell transfer is common in cancer therapy, embryonic stem cells and embryonic gonadal cells, as well as cell lines after nuclear transfer, are not yet in clinical routine application. If one transmits embryonic stem cell lines into patients, it is uncertain to which extent they will be recognized by the immune system, and if they may grow out as invasive cancer. On the other hand, there can be no doubt that stem cell biology will have an enormous potential for medicine at a longer range.

Stem cell biology has challenged all ethical philosophers. They must give answers, and at the same time explain what renders the statements legitimate. The ethical philosophy on modern biomedicine has always had the same problem, may it be in stem cell biology or nuclear transfer for therapeutical cloning. Promising biomedical techniques find worldwide acceptance within short time. The statements of ethical philosophers and theologians are restricted, however, to certain cultural regions. The European ethical philosophy has shown over many centuries that there are no consensus models for different cultural circles, for modern societies in the plurality of opinions and for different religions of the world. For instance, the official representative of Christian churches in Germany, Catholic and Protestant, are highly restrictive with regard to embryonic stem cell biology; however, in contrast, numerous Christian theologians are advocating other opinions. Protestant churches in the United States and Great Britain, for instance the Presbyterian Church of Scotland, have argued in favor of stem cell research. Even the Catholic Church that appears from the outside as a solid opinion block, seems to retain uncertainties due to contradictory arguments in the past. THOMAS VON AQUIN has taught that early embryonic phases of human beings do not possess a spiritual soul. He assumed that the soul is not finding into the organism before functional structures exist. This would mean in our present understanding that a certain stage of neural networks is required to sustain the soul. The scholastic philosophy of the Middle Ages could not imagine that the immortal soul could exist before. According to THOMAS' philosophy, the formation of the human genome is the necessary, but not sufficient, condition for the existence of a human spiritual entity. It seems remarkable to me that the Catholic Church has discarded the ideas of Saint THOMAS VON AQUIN. The church has rather followed the ideas of the enlightenment phase of philosophy of the 18<sup>th</sup> century, teaching that full dignity should be allotted to each human being, starting from the earliest state of development (*égalité*). The present position of the Catholic Church has been decreed by Pope PIUS IX some 150 years ago. Nevertheless, Saint THOMAS seems not to be isolated in his church. Jewish religious philosophers do not have qualms against stem cell research. According to Islamic thinking, stem cell research

would be acceptable. The Buddhist religion behaves, at least in part, neutrally with regard to ethical applications of stem cell biology and nuclear transfer.

It will remain difficult to form a globally accepted, comprehensive platform for the ethics of modern biomedicine. Biomedical progress will always create diverging opinions. With regard to medical ethics, there is one general principle, expressed in Latin *Primum nil nocere*. This means that the patient should not suffer harm under whatever condition. This is an ethical principle from which numerous subsequent ethical conclusions are derived. The single individual must not be harmed to the benefit of a larger group or the society.

This is the core of the term *dignity* (*Würde* in German), as termed in Graeco-Roman antiquity and in the Christian Middle Ages, leading to modern European thinking. May it be an ethical principle or not, the medical *ethos* of *primum nil nocere* can be communicated globally. Embryonic stem cell research and therapeutical cloning are fully compatible with this platform of medical ethics, as long as we know that gaining of human cytotoblasts is regulated with regard to somatic and mental protection of possible female donors. Maybe, the work of Hans SCHÖLER's group may lead into the direction that cytotoblasts can be derived from stem cell cultures, solving this problem. The conflict potential of stem cell research and therapeutical cloning could be reduced to the fact that a totipotent blastocyst will be disintegrated enzymatically to a cell suspension. In that, cells continue to grow without differentiating into an organismic structure. The term *destruction of embryos* is rhetorical insincerity. This leads to the central question to which extent a single zygote with haploid pronuclei, or the two-cell-state, or the first diploid nuclei, or the morula, the blastocyst or each single totipotent cell possesses the state of human dignity. In this context, the term *embryo* has remained controversial and ambiguous. From the ethymological root of the term, it would be legitimate to designate the earliest states of development, including the blastocyst, as a *preembryonic* state, and to define the embryonic phase dating with implantation into the uterine mucous membranes. The, among churches, widespread idea exists that all human developmental stages, starting from the zygote, deserve protection. However, it seems wiser to me to assume that there are gradual differences. This includes the fact that it would be absurd if a zygote that is created through assisted reproduction would possess the same degree of life protection as the fully differentiated human organism. NIDA-RUEMELIN commented that losing the right balance of judgment could rather alleviate life protection.

Human dignity, in its legal sense, requires protection, including measures through state institutions. However, it will remain controversial if preembryonic phases of human development, including embryonic stem cell lines and cells generated by nuclear transfer, merit absolute protection. Under the point of view of modern embryology, the totipotent single cell does not deserve the full degree of legal protection. The developmental plan of the body is developing successively through 30–50 mitoses in the sense of a cascade regulation. The individual and its personality are formed progressively. This argues in favor of the view that higher degrees of protection value and dignity are not reached before the implantation of the early embryo into the uterine mucous membrane or, possibly, not until reaching later developmental stages, such as formation of a neural crest or with forming a neuronal network. Johannes FISCHER, Professor for Ethical Theology at the University in Zürich, says: “The idea of embryonic human dignity is due to misunderstanding of the categories. It may be seriously considered under the point of view of moral theology if therapeutical cloning should be ethically acceptable and compatible with the Christian view of human life. Premature morally negative judgment should be avoided. Human love is directed at human beings. An entity



that has only the potential to develop in a human organism, however, is not a human being by itself. It is not the appropriate object of human love. The love-oriented human spirit is focused on human beings, and the suffering human individual is in the center of medical care. This is not true for the single totipotent cells. They do not have the perspective of developing into a human being. Therefore, those who are favoring the use of human preembryonic cells for the purpose of research and therapy need not apologize for their aims, but rather those who oppose this type of research.” (FISCHER 2003.)

According to Johannes FISCHER, it is legitimate to find a balance between the protectional dignity of preembryonal developing states and the need for medical research and patient care. At least it should be possible to assume this ethical position without coming into conflict with penal law. The German Highest Court (*Bundesverfassungsgericht*, Federal Constitutional Court) did not decide in its judgments of the years 1975 and 1993 to which extent the embryonic phases deserve legal protection. The *Bundesverfassungsgericht* has decreed that embryonic states after implantation into the uterus deserve protection. For the early phases of human development, the *Bundesverfassungsgericht* did not give a direction, obviously in view of the expected changes in opinion with regard to future scientific developments. In contrast, the federal legislator has coined the embryonic protection law (*Embryonen-Schutzgesetz*), using extreme ethical positions and including it into penal law. Somehow, it seems to be bizarre that the law claims the absolute protection of life. However, in paragraph 6, sentence 2, it neglects its own principle of life protection, as it threatens to punish all trials to keep cloned embryos alive. Even if those extreme positions are not only reflecting the views of some Christian churches, but are also coincidental with philosophical views of the enlightenment phase, they cannot be universally accepted in view of modern embryology.

Laws are made by human beings, and therefore laws must sometimes be adapted to new developments. Penal law requires broad acceptance in society, and the law is not an ethical position in itself. Reiner ANSELM, Professor for Ethical Philosophy at the Faculty of Theology in the University of Göttingen, has written: “Instead of expecting that penal law forces the own ethical position, it would be better if the law is respected in its function to guarantee coexistence of various value orientations and also of different ethical patterns and moral views. This means that extreme positions of minorities in society should not be implemented by law, but rather the compromise between different groups should be intended in a plural society. If the juridical order extends into personal conviction, theology and churches should even contradict; otherwise the Christian faith could become part of state authority.” (ANSELM 2003.)

In principle, it is not acceptable that a complex conflict of ethical philosophy and moral theology is decided by the German penal law. Ulrich KÖRTNER, Professor for Systematic Theology in Vienna, says that “in a modern plural society, a single group or institution should not decide open questions of values by state authority. Opposing science is easier than differentiated thinking, as long as it is directed against others. Simple solutions are suspect; especially under ethical view.” (KÖRTNER 2003.)

It seems remarkable for me that we observe in German society a certain inability to tolerate plural views. The German embryonic protection law in its paragraph 6, sentence 1, renders therapeutical cloning to an official felony; in this point it is wrong, as well as in numerous other points. The law needs to be adjusted. Germany is presently protagonistic in fighting against stem cell biology through penal law. We should rather aim at the broad acceptance in the majority of society. Ethical opinions of minorities, as well as of coincidental majorities in parliament, should not become penal law. It seems particularly strange that, according to

the present law, an embryonic stem cell line, in the Federal Republic of Germany, can only be used for research if the line was established before 1<sup>st</sup> January 2002. This rule, forced by penal law, is in my opinion out of proportion and thus against the constitution. The embryonic protection law is extending far beyond the terms of the highest court (*Bundesverfassungsgericht*). It is contradictive and hostile against science. In addition, in view of medical progress, it contradicts in a rigorous way against the health interests of women who are seeking medical support for assisted reproduction.

Attempts of German institutions to export paragraph 6, sentence 1, of the embryonic protection law into European and international institutions, in order to obtain worldwide prohibition of embryonic stem cell research and therapeutic cloning, reflect a wrong judgment of the role of penal law. This reflects regionally limited thinking, and it extends far beyond global standards. The Federal Republic of Germany should, in my opinion, not be the internationally visible protagonist in fighting against biomedical science. There is some hope that, in recent years, the public judgment of stem cell biology has changed to the better. Meanwhile, the deadline rule for embryonic stem cell research has been questioned by many scientists, and it has been shifted. Fortunately, parliamentary committees have recently rephrased the problem in Germany. In my opinion, the state should protect the juridical human dignity. However, it should not down-regulate stem cell biology through penal law, as it is the case, in part, under the presently valid rules.

Our country has severely impeded its pharmaceutical industry during two decades through the lack of acceptance of biotechnology and molecular biology in society, in part with intellectually dreadful arguments. Similarly, the more recent legislative down-regulation of plant biotechnology is in this destructive tradition. For the Federal Republic of Germany, it would be better to overcome the lack of acceptance of modern biotechnology and regenerative medicine, instead of chasing the relevant future-oriented research abroad through penal law.

## References

- ANSELM, R.: Die Kunst des Unterscheidens. Theologische Ethik und kirchliche Stellungnahme. In: ANSELM, R., und KÖRTNER, U. H. J. (Eds.): Streitfall Biomedizin – Urteilsfindung in christlicher Verantwortung. S. 47–69. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 2003
- FISCHER, J.: Die Schutzwürdigkeit des menschlichen Lebens aus christlicher Sicht. In: ANSELM, R., und KÖRTNER, U. H. J. (Eds.): Streitfall Biomedizin – Urteilsfindung in christlicher Verantwortung. S. 27–45. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 2003
- KÖRTNER, U. H. J.: Bioethische Ökumene? Chancen und Grenzen ökumenischer Ethik am Beispiel der Biomedizin. In: ANSELM, R., und KÖRTNER, U. H. J. (Eds.): Streitfall Biomedizin – Urteilsfindung in christlicher Verantwortung. S. 71–96. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 2003
- WILMUT, I., CAMPBELL, K., und TUDGE, C.: Dolly – Der Aufbruch ins biotechnologische Zeitalter. München, Wien: Carl Hanser 2001

Prof. Dr. Bernhard FLECKENSTEIN  
Virologisches Institut der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen  
Schlossgarten 4  
91054 Erlangen  
Germany  
Phone: +49 9131 8523563/22761  
Fax: +49 9131 8522101  
Email: fleckenstein@viro.med.uni-erlangen.de

## Large Animal Models for Translational Science in Medicine

Eckhard WOLF ML, Simone RENNER, Barbara KESSLER, Mayuko KUROME, Annegret WÜNSCH, Nikolai KLYMIUK, and Bernhard AIGNER (Munich)

With 7 Figures

### *Abstract*

The translation of novel discoveries from basic research to clinical application is a long, often inefficient and thus costly process. Thus the pipeline of drug development requires optimization both for economic and for ethical reasons, in order to provide patients with appropriate treatments in a reasonable time frame. Consequently, “Translational Medicine” became a top priority in national and international roadmaps of human health research. Appropriate animal models for the evaluation of efficacy and safety of new drugs or therapeutic concepts are critical for the success of translational research. In this context rodent models are most widely used due to the possibility of genetic and environmental standardization, a broad spectrum of strains adapted to specific scientific problems, and their acceptance by the regulatory authorities. However, findings in rodent models do not always reflect the clinical situation. Thus animal models mimicking human anatomy and physiology more closely are urgently required. In this respect the pig is an excellent candidate. As monogastric omnivores pigs share many anatomical and physiological characteristics with humans. The excellent reproductive performance of the pig is ideal for a model organism. The first pig whole genome sequence and many other genomic resources will be available in the near future. Efficient and precise techniques for the genetic modification of pigs have been established, facilitating the generation of tailored disease models. In this article, we provide an overview of the current techniques for genetic modification of pigs and highlight the importance of the pig as animal models for diabetes research and as the most promising donor organism for xenotransplantation. Further, structural needs for a full exploitation of the pig as a model organism for translational research are discussed.

### *Zusammenfassung*

Die Umsetzung neuer Entdeckungen der Grundlagenforschung in klinische Anwendungen ist ein langwieriger, oft ineffizienter und daher kostspieliger Prozess. Die Medikamentenentwicklung muss aus ökonomischen, aber auch aus ethischen Gründen optimiert werden, um Patienten in akzeptablen Zeiträumen mit wirksamen Behandlungsmethoden versorgen zu können. Daher nimmt das Gebiet „Translationale Medizin“ in nationalen und internationalen Strategiepapieren zur Gesundheitsforschung eine führende Position ein. Tiermodelle, die für die Evaluierung von Wirksamkeit und Sicherheit neuer Medikamente und Behandlungsmethoden geeignet sind, haben für den Erfolg translationaler Forschung eine zentrale Bedeutung. In diesem Zusammenhang sind Nagetiermodelle am weitesten verbreitet, da diese im Hinblick auf den genetischen Hintergrund wie auch auf die Umweltbedingungen standardisiert werden können, da es bereits eine Vielzahl verschiedener Stämme zur Bearbeitung bestimmter Fragestellungen gibt, und da diese Modelle auch von den Zulassungsbehörden anerkannt sind. Allerdings reflektieren Befunde an Nagetiermodellen die klinische Situation nicht immer ausreichend gut. Daher werden dringend Tiermodelle benötigt, die anatomische und physiologische Charakteristika des Menschen noch besser widerspiegeln. Diesbezüglich ist das Schwein in hervorragender Weise geeignet. Als monogastrische Omnivoren haben Schweine viele anatomische und physiologische Gemeinsamkeiten mit dem menschlichen Organismus. Die Möglichkeiten der Zucht und die hohe Reproduktionsleistung des Schweins sind ideal für einen Modellorganismus. Zudem werden die erste Gesamtgenomsequenz des Schweins sowie viele andere genomische Ressourcen in absehbarer Zeit verfügbar sein. Darüber hinaus wurden für das Schwein effiziente und gerichtete Methoden der genetischen Modifikation entwickelt, so dass maßgeschneiderte Krankheitsmodelle erstellt werden können. Dieser Artikel gibt eine Übersicht über die derzeit

verfügbaren Methoden zur genetischen Modifikation von Schweinen und beleuchtet die Bedeutung des Schweins als Modellorganismus für die Diabetesforschung und als vielversprechender Spenderorganismus für die Xenotransplantation. Zudem werden strukturelle Notwendigkeiten für eine umfassende Nutzung des Schweins als Modellorganismus für die translationale Forschung diskutiert.

## 1. Requirements for Translational Medicine

The term “Translational Medicine” is being increasingly used to describe strategies of developing discoveries in basic research into clinically applicable novel therapies (WEHLING 2008). Despite increased efforts and investments into research and development (R&D), the output of novel medicines has been declining dramatically over the past years. While 15 years ago novel compounds tested in phase I clinical trials had a chance of 15 % to enter the market, the current proportion is only 8 %. Further, currently 50 % of new drugs fail now in phase III clinical trials, while only 20 % of the drugs failed 10 years ago. The phenomenon of a retarded entry of new drugs and diagnostics to the market in spite of increased scientific discoveries and major financial investments is often addressed as “pipeline problem” (PHILLIPS et al. 2006). This is attributed to the fact that currently used *in vitro* models, animal models and early human trials do not reflect the patient situation well enough to reliably predict efficacy and safety of a novel compound or device. Advanced insights into the molecular pathogenesis of diseases lead to a plethora of innovative therapeutic concepts, which address defined molecular targets. However, the development of these concepts into clinical application requires a serial and systematic evaluation of efficacy and safety all the way through from discovery, preclinical science to the phases of clinical testing.

The “Critical Path Initiative” of the US Food and Drug Administration (FDA) ([www.fda.gov/oc/initiatives/criticalpath/](http://www.fda.gov/oc/initiatives/criticalpath/)) focuses on the scientific developments that are necessary to realize the required systematic processes and mechanisms of evaluation. One of the leading topics is “Biomarker Development”, since biomarkers play major roles both in early (e.g. testing of efficacy and safety in animal models) and late phases of drug development (e.g. establishment of dose-response profiles, evaluation of side-effects). Therefore, biomarker discovery and validation are also central themes in the “Innovative Medicine Initiative (IMI)” of the European Union ([www.imi-europe.org/](http://www.imi-europe.org/)).

Biomarkers are objective and quantitative parameters which may serve as indicators of physiological processes, pathological changes as well as reactions to therapeutic intervention. The development of qualified biomarkers requires an integrated network of technology platforms (Fig. 1). State-of-the-art technologies for molecular profiling at various levels (genome, transcriptome, proteome, metabolome, etc.) are connected with advanced techniques of bioimaging. Quantitative data from the different levels of information are integrated using the fast growing tools of bioinformatics and quantitative biology to optimize the prediction of efficacy and safety of new drugs and biomarkers. Suitable animal models play a pivotal role in this process. Rodent models are most widely used due to the possibility for genetic and environmental standardization, a broad spectrum of strains adapted to specific scientific problems (e.g. [www.informatics.jax.org/](http://www.informatics.jax.org/)), and their acceptance by the regulatory authorities. However, findings in rodent models do not always reflect the clinical situation. Thus animal models mimicking human anatomy and physiology more closely are urgently required. In this respect the pig is an excellent candidate.

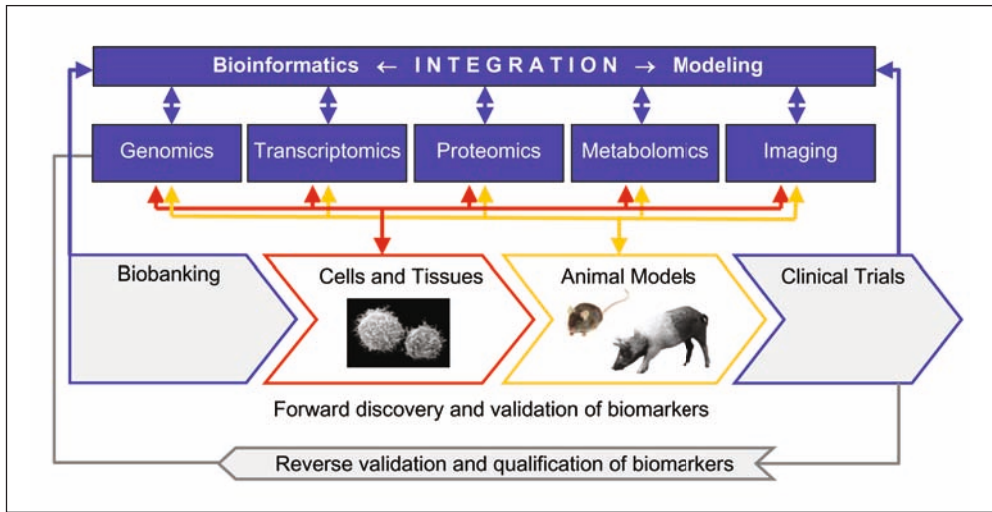


Fig. 1 Central role of mouse and large animal models in the discovery and development of qualified biomarkers

## 2. The Pig as an Ideal Model for Translational Research

Currently mammalian animal models in biomedical research belong mainly to the orders *rodentia* (over 90 %, mostly mice and rats) and *lagomorpha* (around 5 % rabbits). Pigs represent the third largest fraction (about 0.5 %) of mammalian laboratory animals used in Germany ([www.bmelv.de/.../Tierschutzberichte/](http://www.bmelv.de/.../Tierschutzberichte/)). Livestock pig breeds and miniature pigs are relevant models in many fields of medical research, such as surgery (e.g. transplantation, wound healing, tissue engineering, biomechanics), internal medicine (e.g. cardiology, oncology, ophthalmology, dermatology, neurology, pneumology), nutritional medicine, reproductive medicine and infectious diseases (LUNNEY 2007). Some pig breeds such as the Göttingen minipig® are used as non-rodent models for pharmacological and toxicological studies and are fully accepted by regulatory authorities worldwide ([www.minipigs.com/](http://www.minipigs.com/)).

For many of these different applications pigs have advantages over the other available large animal models, such as dogs, sheep or non-human primates. These include a large number of similarities with humans in e.g. anatomy, physiology, metabolism and/or pathology. The omnivores human and pig have a very similar gastrointestinal structure and function, pancreas morphology and metabolic regulation. Examples for high similarity in pathological processes are pig models of type 2 diabetes mellitus. For instance, minipigs can develop type 2 diabetes either spontaneously or after selective breeding, induction by chemicals (alloxan, streptozotocin), dietary manipulations (high energy, high fat, high cholesterol, high sucrose diets) or a combination thereof (LARSEN and ROLIN 2004).

Moreover, pigs are highly reproductive displaying early sexual maturity (with 5–8 months), a short generation interval (of 12 months), parturition of multiple offspring (an average of 10–12 piglets) and all season breeding (WOLF et al. 2000). Reproductive technology and techniques of genetic modification have considerably advanced in the last years (see below). Technical procedures for pig handling, husbandry, anesthesia, analgesia and perioperative care have co-evolved with the long lasting usage of the pig in the laboratory and are

now available both for future non-transgenic and transgenic pig models. A further advantage of the large animal model pig is indeed the size, allowing the imaging of internal vessels and organs using standard technologies in human medicine, or extensive and repeated collection of peripheral samples (blood, urine) as well as abundance of tissue samples *post mortem*. Intense breeding efforts have provided pig breeds differing substantially in important traits such as size, metabolic characteristics and behavior. This allows the researcher to choose desirable traits of one breed within the species pig which meet the requirements of the experimental design at its best.

Standardization of the environment, i.e. pig housing, feeding and hygiene management, is well developed (REHBINDER et al. 1998), whereas standardization of the genetic background may vary depending on the chosen pig breed. If livestock pig breeds are employed for experimentation, the genetic background is mostly not defined. In contrast, minipig outbred strains with full pedigree can be obtained from minipig populations of commercial suppliers ([www.minipigs.com/](http://www.minipigs.com/)). In addition minipig inbred strains are available (MEZRICH et al. 2003, WANG et al. 2006).

### 3. Status of the Pig Genome Project

With a total of approximately 2.7 Gb, the pig genome is similar in size to that of human and is composed of 18 autosomes, plus X and Y sex chromosomes. As a member of the artiodactyls (cloven-hoofed mammals), the pig is evolutionarily distinct from the primates and rodents (reviewed in CHEN et al. 2007). An initial evolutionary analysis based on ~3.84 million shotgun sequences (0.66 × coverage of the pig genome) from the Sino-Danish Pig Genome Project (<http://www.piggenome.dk/>) and the available human and mouse genome data revealed that for each of the types of orthologous sequences investigated (e.g. exonic, intronic, intergenic, 5' UTR, 3' UTR, miRNA), pig is much closer to human than mouse is (WERNERSSON et al. 2005).

A draft sequence of the whole pig genome was completed in 2009. The sequencing strategy adopted by the international Swine Genome Sequencing Consortium (SGSC; <http://www.piggenome.org/>) is to exploit the excellent clone-based (BAC contig) physical map of the pig genome (HUMPHRAY et al. 2007). About 21,000 BAC clones representing a minimal tiling path across the pig genome are being shotgun sequenced to provide 3–4 × coverage. The major part of the funding for this work has been provided by the USDA (\$10 million), however significant funding has also been from the EC project SABRE and from the Institute for Pig Genetics (The Netherlands) which is allowing chromosomes 4, 7 and 14 to be sequenced to greater depth (~6 × coverage). The sequence data are released through Ensembl ([http://www.ensembl.org/Sus\\_scrofa/info/index](http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/info/index)) as sequencing progresses. In addition to the genome sequencing project, projects are underway in several groups to identify single nucleotide polymorphisms (SNP) through a substantial amount of shallow sequencing of additional breeds. The Danish-Chinese Pig Genome Sequence Initiative has performed SNP mining on 800,000 expressed sequence tags (EST) yielding more than 7,900 candidate SNP. An ongoing French project has performed shallow sequencing of one million sequence reads on 7 different breeds – three major commercial breeds (Large White, Landrace and Piétrain) and the Meishan, Wild Boar, Iberic and Göttingen minipig breeds – which detected more than 15,000 SNP. An international consortium is currently working on the generation of a

60k SNP Illumina BeadChip. Recently, the so far largest collection of more than one million porcine EST generated from one normalized and 97 non-normalized cDNA libraries representing 35 different tissues and three developmental stages was analyzed. The EST were assembled to roughly 48,000 contigs and 73,000 singletons, of which approximately 25 % had a high confidence match to UniProt. Approximately 6,000 new porcine gene clusters were identified. Brain and testis were among the tissues with the greatest number of differently expressed genes. This EST collection represents an essential resource for annotation, comparative genomics, assembly of the pig genome sequence, and further porcine transcription studies (GORODKIN et al. 2007).

#### **4. Genetic Engineering of Pigs**

The possibility for experimental alteration of the genome is an important prerequisite for the use of the pig as a model organism for biomedical research and represents a clear advantage of the pig as compared to other large animal models such as the dog and non-human primates.

##### *4.1 Pronuclear DNA Microinjection*

The first technique successfully used to produce transgenic pigs was DNA microinjection into pronuclei of zygotes (HAMMER et al. 1985, BREM et al. 1985). Generally, the efficiency of DNA microinjection is low. In the pig an average of 0.9 % of the injected zygotes that are transferred to recipient females develop to transgenic offspring (WALL 1996). In addition to its low efficiency pronuclear DNA microinjection suffers from the fact that it may yield founder animals that are mosaic, and that random integration of the injected sequences may cause varying expression levels due to position effects of the neighboring DNA or may disrupt functional endogenous sequences (insertional mutagenesis) (reviewed in WOLF et al. 2000).

Despite the overall low efficiency, probably most of the transgenic pig lines existing so far have been established by the pronuclear microinjection technique. However, other techniques of transgenesis – as described below – have gained importance due to their higher efficiency and the potential to introduce targeted modifications in the pig genome.

##### *4.2 Sperm-Mediated Gene Transfer (SMGT)*

SMGT is based on the intrinsic ability of sperm to bind and internalize exogenous DNA and to transfer it into the egg during fertilization (reviewed in LAVITRANO et al. 2006). Although the efficiency of SMGT was discussed controversially (BRINSTER et al. 1989) after its first description in the mouse (LAVITRANO et al. 1989), continued experiments of this group demonstrated that SMGT may work in mice and also in pigs. SMGT in pig is achieved by collection of sperm, incubation of sperm with exogenous DNA and artificial insemination of gilts with DNA-loaded sperm. An important factor for the success of this method seems to be the selection of suitable sperm donor animals (LAVITRANO et al. 2003). It has been hypothesized that sperm from different boars differ in their ability to bind exogenous DNA which would explain the high variability of the SMGT method. Linker based sperm-mediated gene transfer (LB-SMGT) is a variant of the above described method. In LB-SMGT the uptake of exogenous DNA by sperm cells during incubation is improved by receptor-mediated endocytosis

of DNA–antibody complexes (CHANG et al. 2002). Another modification of SMGT is intracytoplasmic sperm injection (ICSI)-mediated gene transfer (KUROME et al. 2006). The first step is the induction of sperm membrane damage (e.g. by freeze-thawing), followed by preincubation with exogenous DNA and finally intracytoplasmic coinjection of the sperm/exogenous DNA complexes into oocytes. This method resulted in transgenic blastocysts (NAGASHIMA et al. 2003) and also in a viable transgenic piglet expressing a GFP reporter gene (KUROME et al. 2006). The efficiency of this method (transgenic offspring per embryos transferred to recipients) was 0.6% and thus in the same range as the efficiency of pronuclear DNA microinjection.

#### 4.3 Lentiviral Gene Transfer

Lentiviruses belong to the family *retroviridae*. Retroviruses transfer their RNA genome into infected cells, where it is reverse transcribed to DNA and integrated into the host genome as a so-called provirus. For prototypic retroviruses the latter step can only occur in dividing cells. Retroviral infection of murine preimplantation embryos generated transgenic mice transmitting the integrated viral DNA (provirus) in a Mendelian manner to their offspring (JAENISCH 1975). In contrast to the prototypic retroviruses used in these early studies, lentiviruses can also transduce non-dividing cells. This allows immediate integration of the vector genome into the early embryo, reducing the risk of mosaic formation. Generally, the construction of a replication-defective, recombinant lentiviral vector comprises (PFEIFER 2004):

- deletion of wild-type viral genes relevant for pathogenesis, replication and infection;
- insertion of exogenous promoter and transgene sequences between the viral long terminal repeats (LTRs); in self-inactivating (SIN) vectors, viral promoter and enhancer sequences in the LTRs are deleted additionally;
- transfer of the vector genome to packaging/helper cells which provide essential viral proteins for the formation of infectious viral particles in *trans*.

After generation of the first transgenic mice and rats using lentiviral gene transfer (LOIS et al. 2002, PFEIFER et al. 2002), this technology was adapted to large animal species (HOFMANN et al. 2003, 2004). For the transfer of a recombinant lentiviral vector based on the human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) to the pig, injection under the zona pellucida of zygotes was found to be practical (Fig. 2A). After transfer of 244 injected embryos to 6 synchronized recipients, 46 piglets were born, 32 (70%) of which carried the transgene. Expression of the transgene was detected in 30 (94%) transgenic founder piglets (HOFMANN et al. 2003). The overall efficiency (transgenic offspring per infected and transferred embryos) of lentiviral gene transfer in this experiment was 13% and thus at least one order of magnitude higher than the average success rate of the pronuclear DNA microinjection technique (Fig. 2B). Other laboratories were able to confirm these high levels of efficiency in the generation of transgenic pigs using another lentiviral vector system based on the equine infectious anemia virus (EIAV) (WHITELAW et al. 2004). Although lentiviral vector systems can only carry < 10 kilobases exogenous DNA, this is considered to be enough for transfer of expression vectors for cDNAs and small interfering RNAs. As prototypic retroviral vectors are often subject to epigenetic silencing by DNA methylation, it was important to investigate this phenomenon in transgenic pigs harboring lentiviral integrants. Our studies revealed that – after segregation to the G1 generation – one third of lentiviral integrants exhibited low expression levels and



hypermethylation (HOFMANN et al. 2006), whereas two thirds of the lentiviral integrants were expressed faithfully through subsequent generations. Thus, lentiviral transgenesis is clearly an attractive alternative to the pronuclear microinjection technique.

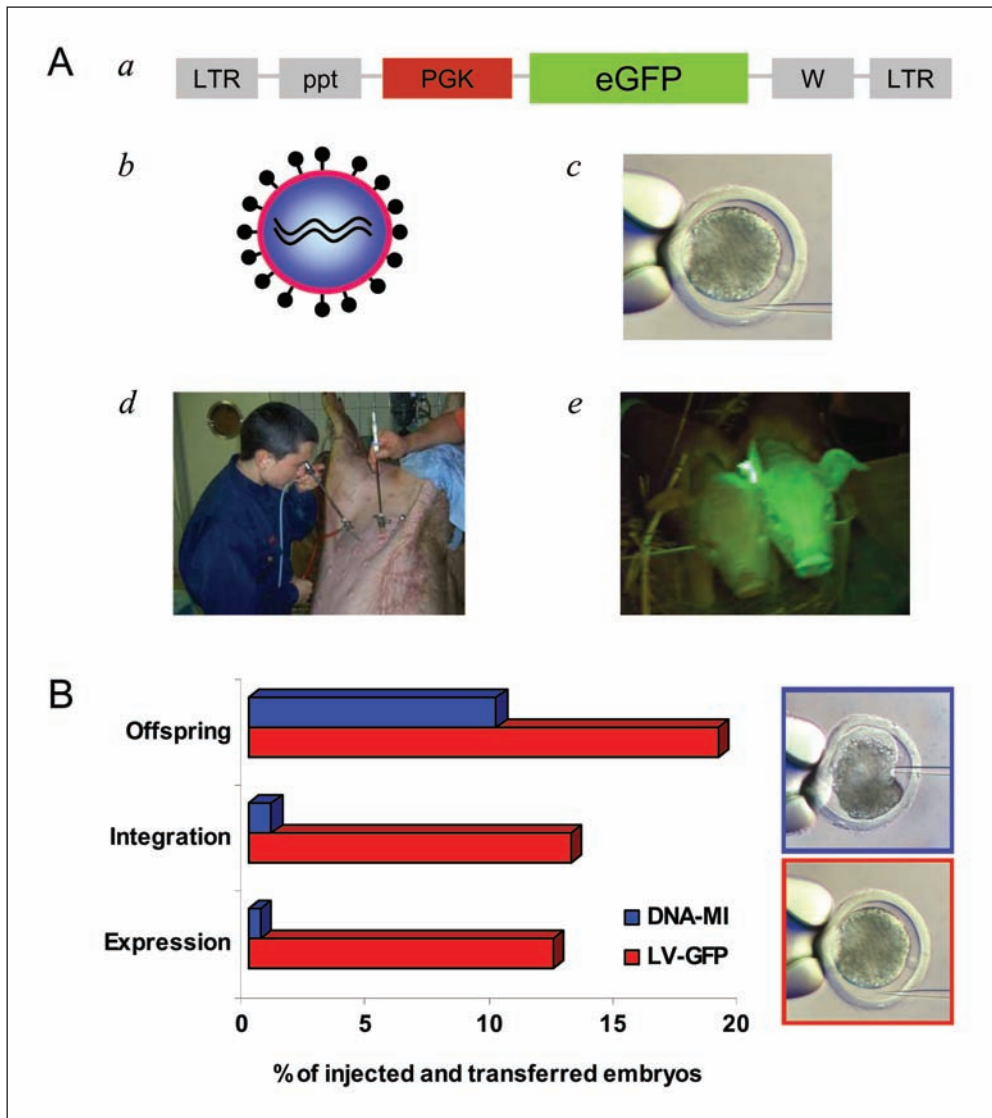


Fig. 2 Lentiviral gene transfer in pigs. (A) Principle: *a*) lentiviral vector; *b*) lentiviral particle; *c*) subzonal injection of a zygote; *d*) laparoscopic embryo transfer; *e*) GFP transgenic founder animal (*right*) and non-transgenic control (*left*). (B) Efficiency of lentiviral gene transfer as compared to the pronuclear DNA microinjection technique. DNA-MI data are taken from WALL 1996.

#### 4.4 Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT)

The use of SCNT (WILMUT et al. 1997) for the generation of transgenic animals was first demonstrated in sheep (SCHNIEKE et al. 1997) and facilitated the first gene targeting experiments in livestock (MCCREATH et al. 2000). Since successful SCNT protocols are available for the pig (POLEJAEVA et al. 2000, ONISHI et al. 2000, BETTHAUSER et al. 2000), this technology is an attractive route for genetic modification of this species. In general, transgenesis by SCNT involves the following steps (Fig. 3):

- transfection/selection of donor cells in cell culture;
- recovery and enucleation of *in vivo* or *in vitro* matured oocytes (metaphase II);
- nuclear transfer by electrofusion or piezo-actuated microinjection (less common) and activation;
- *in vitro* culture of the reconstructed embryos;
- embryo transfer to synchronized recipients.

SCNT is so far the only route to introduce targeted mutations into the pig genome. Via homologous recombination in nuclear donor cells, mutations have been introduced in the *GGTA1* and the *CFTR* genes, and live offspring have been born following SCNT using these cells (LAI et al. 2002, ROGERS et al. 2008). Other attractive characteristics comprise: no generation of mosaic phenotypes and the possibility of pre-selection of donor cells with regard to transgene expression or gender. Further, SCNT from transfected pools of donor cells followed by selection of suitable donor fetuses can be used to speed up transgenesis in the pig (Fig. 4).

However, the efficiency of cloning in pig is still relatively low, ranging between 0.5 % and 5 % offspring per transferred SCNT embryos. As in other species the low efficiency of SCNT and health problems of the resulting offspring are attributed to failures in epigenetic reprogramming (review: SHI et al. 2003). However, these problems occur less frequently in cloned pigs than in cloned cattle and sheep. Nevertheless, one focus of current research is on the increase of efficiency of nuclear transfer in the pig. In this respect, the search for the most suitable donor cell type easily tolerating the procedure of genetic modification prior to nuclear transfer and efficiently supporting embryonic development is very important. As donor cells have to be cultured to perform gene transfer or gene targeting and somatic cells from adult pigs can become senescent during selection of successfully transduced candidates, their use is limited. So far, fetal fibroblasts are commonly used as donor cells for the generation of transgenic cloned piglets. However, even if the most appropriate donor cell type for SCNT can be determined, it has to be taken into account that also different clonal lines derived from one primary cell line can bear different developmental potential for the SCNT embryo. Other strategies to increase the efficiency of SCNT in the pig include optimization of oocyte maturation and embryo culture, fusion and activation protocols, nuclear transfer techniques, pregnancy/farrowing and care have been described elsewhere (VAJTA et al. 2007).

#### 4.5 Somatic Gene Transfer

In addition to the above mentioned methods for germ line genetic modification, several attempts of somatic gene transfer have been used in the pig. These include intramuscular injection of plasmid DNA (DRAGHIA-AKLI and FIOROTTO 2004), hydrodynamic transfer of expression vectors into the pig liver (HERRERO et al. 2005, YOSHINO et al. 2006), biolistic transfer of DNA constructs coated onto gold microparticles into skin or muscle tissue by using a gene

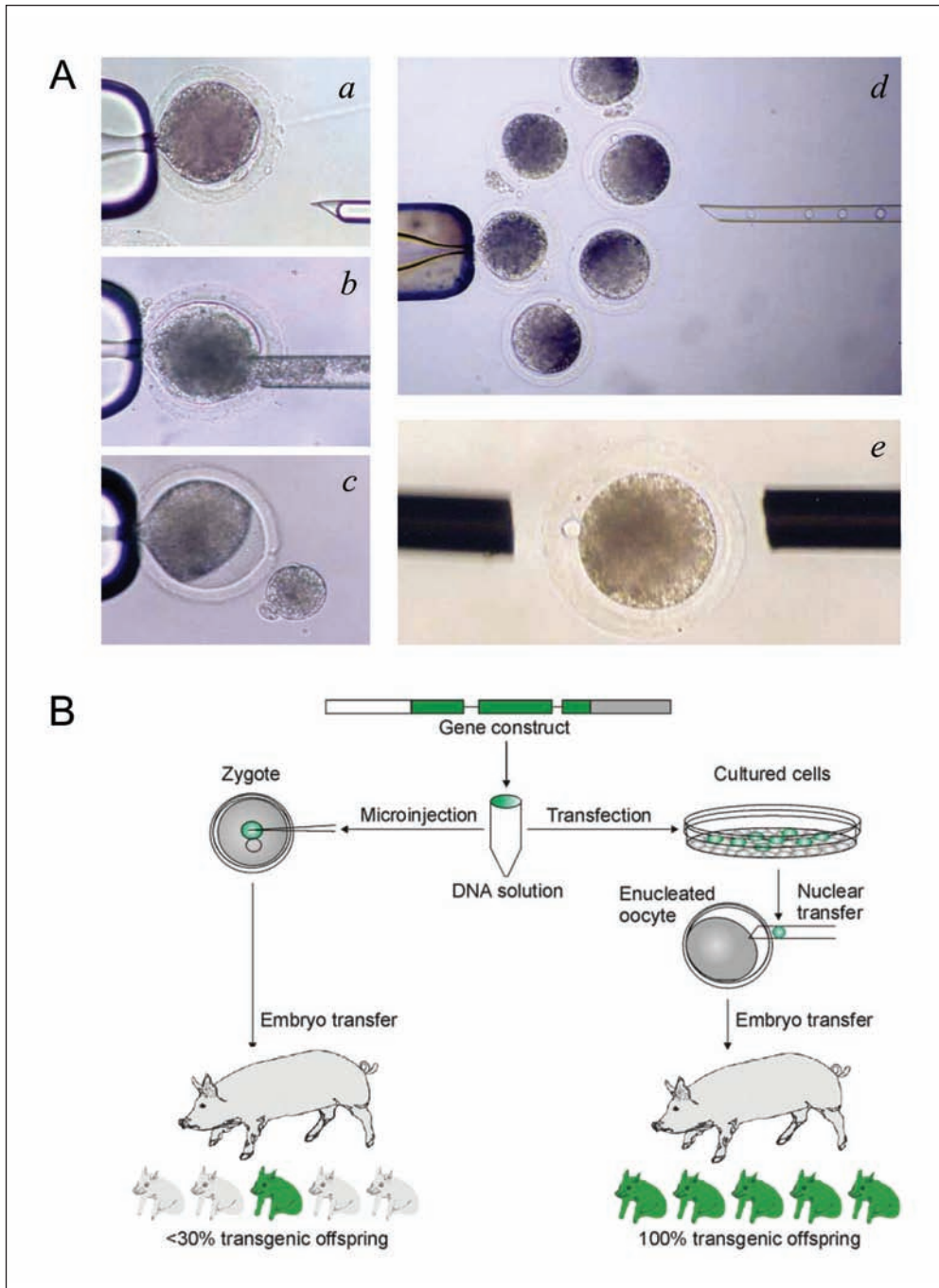


Fig. 3 (A) Steps of nuclear transfer cloning in the pig. *a*–*c*) enucleation of an oocyte; *d*) nuclear transfer; *e*) electrofusion. (B) Generation of transgenic pigs by nuclear transfer from genetically modified cells (*right*) as compared to the DNA microinjection technique (*left*).

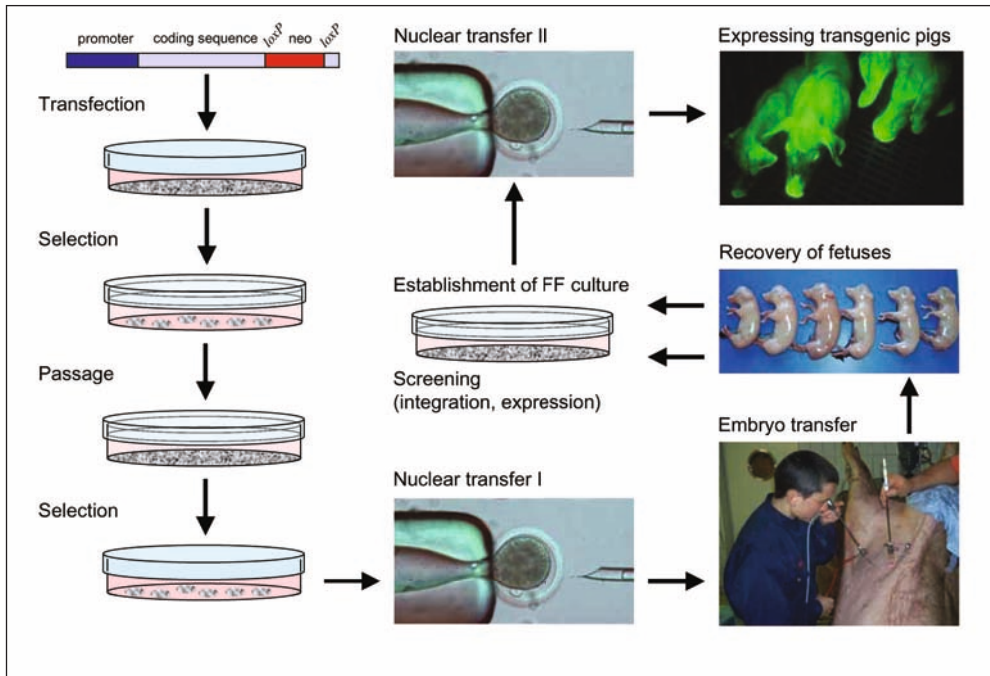


Fig. 4 Efficient generation of expressing transgenic pigs by repeated nuclear transfer from transfected/transgenic cells. An expression vector carrying a removable selection cassette is transfected into nuclear donor cells which are subjected to two rounds of selection. The resulting cell clones are pooled and used for the first round of nuclear transfer. Cloned embryos are transferred to recipients. Pregnancies are terminated (the timing depends on the nature of the construct), fetuses are recovered, and fibroblast cultures are established from each individual fetus. The remnant fetal material is used for integration and expression studies. Transgenic fibroblasts from the fetus with the most suitable expression pattern are then used for the second nuclear transfer to produce life cloned offspring.

gun (FULLER et al. 2006), and various strategies of viral gene transfer (e.g. DONAHUE et al. 2000, RAAKE et al. 2004, HAYASE et al. 2005).

## 5. Pig Models in Type 2 Diabetes Research

Diabetes mellitus type 2 is a chronic metabolic disorder of multiple etiologies and characterized by insulin resistance and progressive dysfunction of pancreatic islet cells. The meal-stimulated insulin secretion from  $\beta$ -cells is reduced and fails to meet the demands of the insulin-resistant state (KAHN et al. 2006). The disease is considered to be a world health crisis. In conjunction with genetic susceptibility, particularly in certain ethnic groups, type 2 diabetes mellitus is brought on by environmental and behavioral factors such as a sedentary lifestyle, overly rich nutrition and obesity (LEAHY 2005). At the turn of this century, 171 million individuals were estimated to suffer from diabetes mellitus, 90% of which were considered cases of type 2 diabetes mellitus. This number is expected to increase up to 366 million by 2030 (WILD et al. 2004). Due to its chronic character, gravity of secondary lesions and therapeutic agents necessary to control these, type 2 diabetes mellitus is associated with very

high expenses (\$ 132 billion in 2002 in the USA) (HOGAN et al. 2003). The most important intervention study in humans suffering from type 2 diabetes mellitus, the UK prospective diabetes study (UKPDS), provided solid evidence that during the course of the disease metabolic control steadily deteriorates irrespectively of dietary or conventional therapeutic interventions. In order to develop new strategies for treatment and prevention, clinically relevant animal models which closely reflect the pathophysiology of human type 2 diabetes mellitus or develop complications of diabetes with an etiology similar to that of the human condition are needed.

Pig models of type 2 diabetes mellitus developed either spontaneously or have been generated by selective breeding, chemical induction or genetic engineering. In the 1970s two lines of Yucatan minipigs with altered glucose tolerance (one line with enhanced and one line with impaired glucose tolerance) were established by selective breeding. Females of the strain with impaired glucose tolerance rapidly became obese and some developed insulin resistance and diabetes (PHILLIPS et al. 1982). However, glucose intolerance was not detected in the F7 generation anymore making these pigs currently not available for further investigations (HAND et al. 1987). The Göttingen minipig being developed in the 1960s by crossbreeding the Vietnamese Hormel and the German improved Landrace swine were considered to serve as a model for the metabolic syndrome when fed a high-fat high-energy diet. Male Göttingen minipigs fed a high-fat high-energy diet became obese (increased body weight and body fat) and developed increased blood glucose and insulin levels (LARSEN et al. 2001) as well as increased insulin secretion following an intravenous glucose load while female pigs became obese and revealed only an increased insulin response during an intravenous glucose tolerance test (JOHANSEN et al. 2001). Chinese Guizhou minipigs fed a high-fat high-sucrose diet for six months revealed elevated fasting blood glucose levels, decreased insulin sensitivity, impaired glucose tolerance as well as increased levels of total cholesterol, triglycerides, free fatty acids and serum TNF $\alpha$ / $\beta$  without chemical destruction of the islets. Also, atherosclerotic lesions were present in the aorta of these pigs (XI et al. 2004). Osabaw pigs which lived in genetic isolation for centuries are generally considered to show a propensity to obesity, a risk factor for the development of type 2 diabetes. Fed a high-fat high-cholesterol diet for twenty to forty weeks, pigs exhibited more severe obesity, but also insulin resistance, glucose intolerance, dyslipidemia and hypertension and were considered as a model for the human metabolic syndrome (DYSON et al. 2006). Familial hypercholesterolemic pigs, carrying a missense mutation within the low density lipoprotein (LDL) receptor, which is inherited in an autosomal fashion, were reported to show hypercholesterolemia and develop severe coronary and abdominal aortic atherosclerosis, even while being fed a low fat pig diet (PRESCOTT et al. 1991, 1995). Considering cardiovascular complications, it is especially useful that pigs develop coronary, aortic, iliac and carotid atherosclerosis in anatomical locations relevant to the human condition also recapitulating the histopathology seen in humans (PRESCOTT et al. 1991, 1995).

Chemical induction of diabetes in pigs can also be applied. For this purpose, substances like streptozotocin (STZ) and alloxan are available. STZ induces DNA strand breaks and subsequently activates repair mechanisms that result in a reduction of cellular nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) and ATP levels below physiological levels, which leads to  $\beta$ -cell death. The mechanism of action of alloxan is similar (YAMAMOTO et al. 1981). Often nicotinamide is added to the STZ treatment to attenuate the diabetic phenotype (moderate degree of fasting and/or postprandial hyperglycemia) as the dose-response relation between STZ

and the level of hyperglycemia in the pig is very steep (YAMAMOTO et al. 1981). Although these pigs might be considered to serve as models for type 1 diabetes mellitus, they show many features that overlap with characteristics of type 2 diabetes mellitus. For example Sinclair minipigs, treated with alloxan and fed an atherogenic diet, developed dyslipidemia and atherosclerotic lesions in the carotid artery (DIXON et al. 1999). Göttingen minipigs treated either with STZ or alloxan in combination with nicotinamide have been used to study differences in pulsatile insulin secretion compared to controls (LARSEN et al. 2003).

In the last fifteen years, the two incretin hormones glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) attracted notice in diabetes research. GIP and GLP-1 are secreted by enteroendocrine cells and are responsible for the so-called incretin effect, the phenomenon that an oral glucose load elicits a higher insulin response than an isoglycemic intravenous glucose load. Type 2 diabetic patients and approximately 50 % of their first-degree relatives show a reduced incretin effect which is mainly related to an impaired insulinotropic action of GIP (NAUCK et al. 1993). Nearly sustained insulinotropic action of GLP-1 in type 2 diabetic patients revealed its therapeutic potential to compensate for the loss of GIP function and initiated the ongoing development of GLP-1 receptor agonists as well as inhibitors of the enzyme dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). DPP-4 rapidly degrades incretin hormones *in vivo*. The reasons for the reduced response to GIP in type 2 diabetes mellitus are unclear (BAGGIO and DRUCKER 2007), but it was suggested that impaired GIP action might be involved in the early pathogenesis of type 2 diabetes mellitus (NAUCK et al. 2004). To address this question we generated pigs expressing a dominant-negative GIP-receptor (GIPR<sup>dn</sup>) under the control of the rat insulin 2 promoter (RIPII), using a novel, highly efficient gene transfer technology based on lentiviral vectors (HOFMANN et al. 2003) (Fig. 5). Expression of GIPR<sup>dn</sup> mRNA was determined in isolated islets of Langerhans by RT-PCR analysis. GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs develop normally and have not developed diabetes mellitus until an age of at least 24 months as indicated by normal blood glucose and serum fructosamine levels. However, in an oral glucose tolerance test performed in 5-month-old animals, GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs exhibited reduced insulin secretion and elevated glucose levels compared to non-transgenic littermate controls. The area under the curve (AUC) for insulin was 49 % smaller, the AUC for glucose 26 % larger in GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs than in their non-transgenic littermate controls. To demonstrate the specificity of this approach, stimulation tests with GIP and the potent GLP-1 receptor agonist Exendin-4 were performed. The insulinotropic effect of intravenously administered GIP was blunted, whereas Exendin-4 elicited significantly higher serum insulin levels in GIPR<sup>dn</sup> pigs compared to control animals, indicating a compensatory hyperactivation of the GLP-1/GLP-1R axis. Also, the expression of a GIPR<sup>dn</sup> led to an impaired intravenous glucose tolerance in 11-month-old GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs compared to non-transgenic littermate control animals. Quantitative-stereological analyses of the pancreas revealed a significant reduction of the total  $\beta$ -cell volume in 5-month-old GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs that was even more pronounced at the age of 1–1.4 years. The reduced total  $\beta$ -cell volume could be traced back to a highly diminished  $\beta$ -cell proliferation rate in young GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs (RENNER et al., accepted). Thus, this is the first large animal model for the analysis of incretin function that mimics important aspects of human type 2 diabetes mellitus.

Taken together, there are already several pig models available, showing metabolic abnormalities as they are present in human type 2 patients as well as cardiovascular complications.

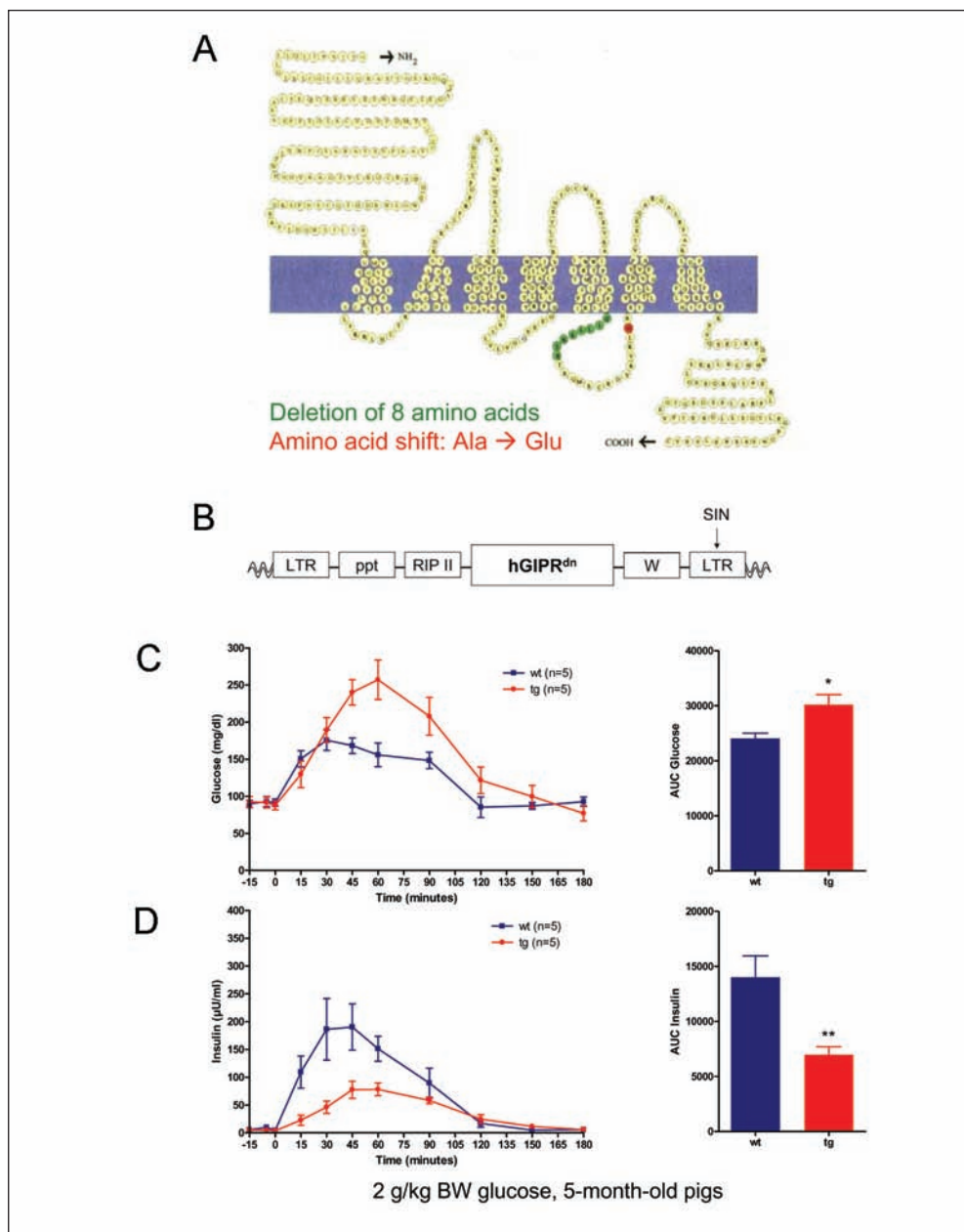


Fig. 5 Disturbed oral glucose tolerance in 5-month-old pigs expressing a dominant negative GIP receptor (GIPR<sup>dn</sup>) in their pancreatic islets. (A) Structure of the GIPR<sup>dn</sup>; (B) design of the lentiviral vector; (C) increased blood glucose and (D) reduced insulin secretion in GIPR<sup>dn</sup> transgenic pigs as compared to non-transgenic littermate controls (RENNER et al., accepted).

## 6. Pigs as Organ Donors for Xenotransplantation

The steadily increasing life expectancy worldwide has led to growing numbers of patients suffering from chronic degenerative, metabolic and ischemic diseases and end-stage organ failure. Organ transplantation is either the only cure (e.g. heart transplantation) or one of the best treatments as judged by long-term survival statistics and by its ability to make a significant improvement of the quality of life (e.g. kidney, islet cell transplantation). Transplantation is, however, not only relevant for the aging population. Heart transplantation can even be necessary in newborns or during infancy – for this young patient group it is especially challenging to find appropriately matched organs in the limited time available for intervention. Overall, demand already surpasses by far the number of available donors. The donor gap is greatest for patients with end-stage renal failure. In Germany, the number of patients awaiting kidney transplantation is approximately 9,000, while little more than 2,000 transplants are performed per year. Despite numerous efforts, there has not been any increase in the number of organ donors in Central Europe. Donation data from the Eurotransplant region (Eurotransplant coordinates the international exchange of organs in six European countries, serving 120 million people) shows significant differences between member countries with respect to the number of organ donations per million inhabitants ([www.eurotransplant.nl/](http://www.eurotransplant.nl/)). However, there has not been a significant change in the total number of organs donated per year over the period from 1992 to 2005. Alternatives to the use of cadaveric human donors for organ transplantation have either medical or ethical limitations. Living donation, which can only be used for kidney and in selected cases for liver and lung transplantation, always requires legal restrictions in order to protect the donor and to prevent organ trafficking. Furthermore, the procedure necessarily poses a potential threat to the health or even the life of the donor.

New alternatives to allotransplantation are urgently needed, both to benefit patients on the waiting list and to relieve the economic burden on social and health care systems. Most important and promising in this respect is the development of xenotransplantation, which may offer a solution to the current worldwide shortage of human donor organs including hearts and kidneys and can supply sufficient islets for successful cellular transplantation therapy in diabetics. Among the candidate organs or tissues for pig-to-primate xenotransplantation, the pancreatic islets are probably closest to clinical application. In March 2006, two studies were published in *Nature Medicine* demonstrating that long-term survival and function of non-genetically modified porcine islets in diabetic nonhuman primate models is possible (CARDONA et al. 2006, HERING et al. 2006). Both studies used sophisticated regimens for immunosuppression which, however, might be difficult to apply in a clinical setting due to their severe side-effects. Therefore, other strategies to overcome rejection of transplanted islets are warranted, thereby reducing the need for immunosuppression.

The most profound barrier to xenotransplantation is the immunological rejection of the organ graft (reviewed in YANG and SYKES 2007). Two antibody-mediated processes, hyperacute rejection (HAR) and acute humoral xenograft rejection (AHXR), rapidly attack vascularized organs from pigs that have been transplanted into untreated primates. HAR is mediated primarily by natural antibodies directed against the carbohydrate epitope Gal $\alpha$ 1–3Gal $\beta$ 1–4GlcNAc ( $\alpha$ 1,3Gal), which is synthesized by the enzyme  $\alpha$ 1,3-galactosyl transferase ( $\alpha$ 1,3GalT encoded by *GGTA1*). *GGTA1* is functional in most species (including pigs), but not in humans or their most recent ancestors, the Old World monkeys. Since humans and Old World monkeys do not synthesize  $\alpha$ 1,3Gal themselves, but are exposed to this antigen – e.g. via micro-



bial organisms – high levels of  $\alpha 1,3\text{Gal}$ -specific natural antibodies are present in the sera of these species. After pig-to-primate xenotransplantation, these natural antibodies bind  $\alpha 1,3\text{Gal}$  epitopes on the endothelium of vascularized xenografts, the complement system is activated, leading to activation of the coagulation cascade and the rapid (within minutes to hours) graft rejection process known as HAR. HAR may be overcome by using donor pigs overexpressing of human complement regulatory proteins, such as CD46 (membrane cofactor protein) (DIAMOND et al. 2001), CD55 (decay acceleration factor), or CD59 (membrane inhibitor of reactive lysis) (CHEN et al. 1999), or donor pigs which lack  $\alpha 1,3\text{Gal}$  epitopes due to targeted inactivation of *GGTA1* (LAI et al. 2002). However, organs from the latter pigs are not protected against AHXR, which is induced by xenoreactive antibodies specific for non- $\alpha 1,3\text{Gal}$  antigens. Thus, efficient protection of HAR and AHXR requires both inactivation of *GGTA1* and inhibition of the complement cascade.

Prominent features of humoral xenograft rejection are endothelial cell activation and injury, disrupting the anti-coagulant properties of the endothelium and thus leading to thrombotic microangiopathy and disseminated intravascular coagulation (DIC). This process is catalyzed by molecular incompatibilities between regulators of coagulation on the xenograft endothelium and their soluble targets in the recipient circulation (for review see COWAN 2007). Transgenic strategies to overcome these incompatibilities include expression of human thrombomodulin, human TFPI, and – for protection of the graft endothelium – CD39 and heme-oxygenase 1 (COOPER et al. 2008).

If HAR and AHXR are prevented, the xenograft is subjected to cell-mediated rejection. Within the DFG-funded Transregio Research Unit FOR 535 (Fig. 6), our lab has focused on the development and evaluation of strategies to overcome graft rejection by activated T cells and natural killer (NK) cells.

Expression of human TNF $\alpha$ -related apoptosis inducing ligand (hTRAIL) was chosen as a strategy to control post-hyperacute rejection mechanisms mediated by cellular components of the immune system. Although TRAIL exerts its apoptosis-inducing effect mainly on tumor cells, it has other immune modulating effects which might be beneficial for the protection of pig-to-primate xenografts. TRAIL is able to induce primary plasma cell apoptosis and to shorten the lifespan of neutrophils (KAMOHARA et al. 2004, RENSHAW et al. 2003, URSINI-SIEGEL et al. 2002). Moreover, TRAIL acts as a cell cycle inhibitor for T cells independent of their differentiation status or antigen specificity (LUNEMANN et al. 2002, SONG et al. 2000). Recently, TRAIL was reported to inhibit the primarily T cell-mediated rejection of corneal allografts (XIE et al. 2003). Thus, expression of human TRAIL in transgenic pigs may provide a reasonable strategy to protect pig tissues against cell-mediated rejection after xenotransplantation to primates. Transgenic pigs were generated by pronuclear microinjection of an expression vector for human TRAIL under control of the murine H-2K<sup>b</sup> promoter. Expression of the transgene was analyzed by Western blot and immunohistochemistry. Biological activity of TRAIL on transgenic porcine lymphocytes was evaluated in co-culture experiments using Jurkat and Hut 78.2 cells as targets. In three lines of transgenic pigs, hTRAIL protein was detected in the membrane fractions of various tissues. Highest expression levels were observed in spleen and lung. Human TRAIL expression on porcine lymphocytes was augmented upon activation of cells. Transgenic pig lymphoblasts induced apoptosis in Jurkat and Hut 78.2 cells, which was inhibited by neutralizing anti-TRAIL antibodies, demonstrating a TRAIL-specific effect (KLOSE et al. 2005) (Fig. 7). Ubiquitous expression of human TRAIL was achieved in transgenic pigs without detrimental side effects. Pigs expressing biologically

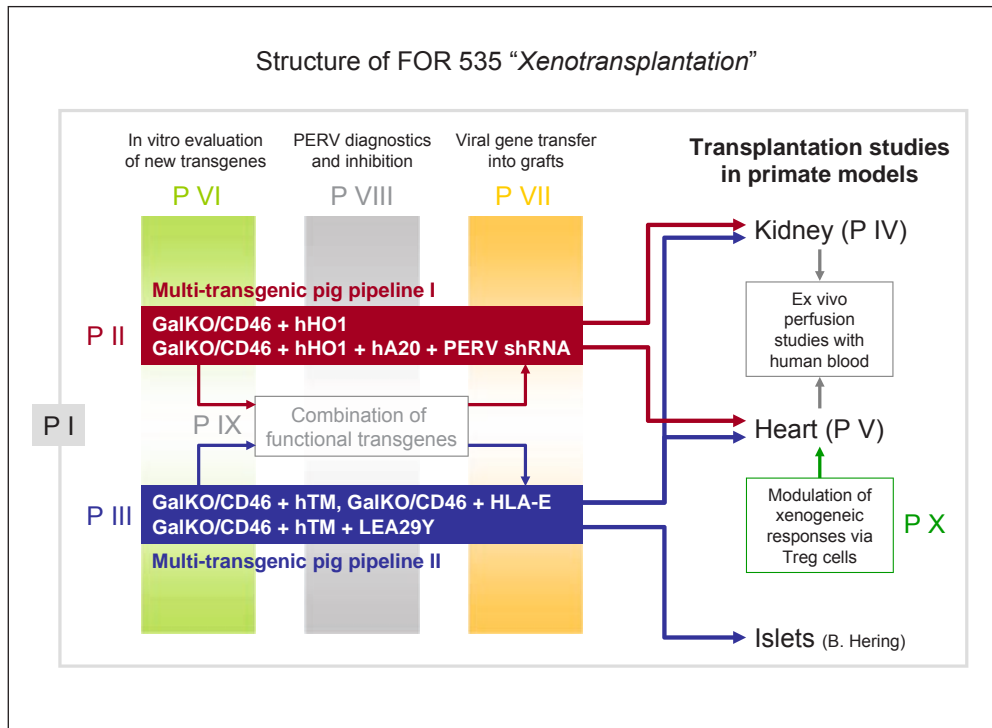


Fig. 6 Structure of the German xenotransplantation consortium.

active human TRAIL will be used for future xenotransplantation experiments to modulate primate anti-pig cellular immune responses. In the meanwhile we have TRAIL transgenic pigs in F3 generation with no evidence for loss of transgene expression. These pigs have been used for the generation of multitransgenic pigs by crossing with CD46- or CD55-transgenic animals.

Several lines of evidence indicate that also NK cells participate in pig-to-primate xenograft rejection both via antibody-dependent and -independent mechanisms (RIEBEN and SEEBACH 2005). A majority of human NK cells express the inhibitory receptor CD94/NKG2A, which binds specifically HLA-E, a trimeric complex consisting of the HLA-E heavy chain,  $\beta$ 2-microglobulin ( $\beta$ 2m) and a peptide derived from the leader sequence of some MHC class I molecules (CREW 2007). To use this mechanism for protection of pig tissues against human NK cytotoxicity, we generated transgenic pigs expressing HLA-E with a HLA-B7 signal sequence and human (hu)  $\beta$ 2m from genomic constructs. Northern blot analysis revealed the presence of the expected transcript sizes for both transgenes. Moreover, FACS and Western blot analyses demonstrated consistent expression of HLA-E and hu $\beta$ 2m in peripheral blood mononuclear cells. Immunohistochemistry revealed the presence of HLA-E and hu $\beta$ 2m on endothelial cells of many organs, including heart and kidney. Lymphoblasts and endothelial cells derived from these HLA-E/hu $\beta$ 2m transgenic pigs were effectively protected against human NK cell-mediated cytotoxicity, depending on the level of CD94/NKG2A expression on the NK cells. Further, HLA-E/hu $\beta$ 2m expression on porcine endothelial cells inhibited the

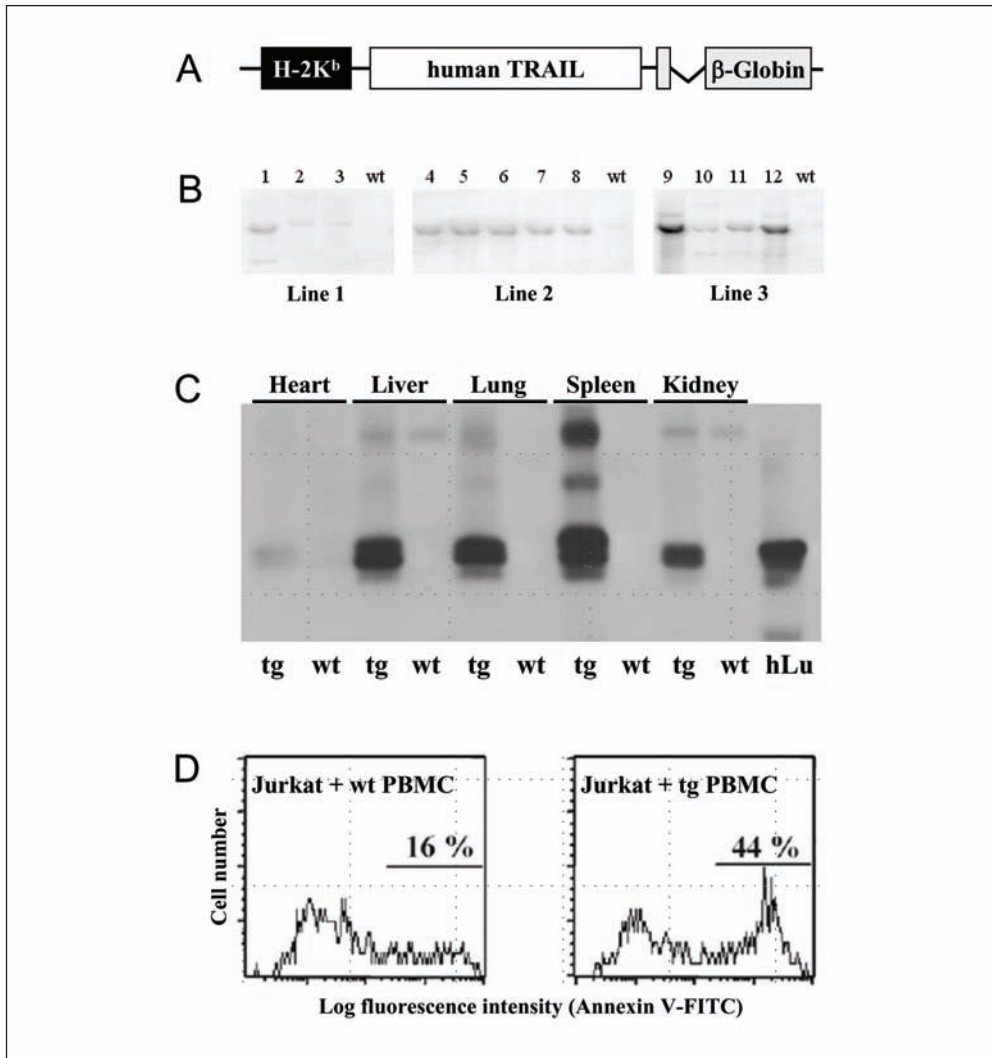


Fig. 7 Expression of biologically active human TRAIL in transgenic pigs. (A) Expression vector; (B) Southern blot analysis of three different transgenic lines; (C) Western blot analysis for human TRAIL in membrane fractions of various organs from transgenic (tg) pigs and non-transgenic littermate controls (wt); (D) human TRAIL expressed on transgenic pigs cells induces apoptosis in responsive human Jurkat T cells (from KLOSE et al. 2005).

secretion of the pro-inflammatory cytokine IFN- $\gamma$  by co-cultured human NK cells (WEISS et al. 2009). This novel approach against cell-mediated xenogeneic responses has major implications for the generation of multitransgenic pigs as organ donors for clinical xenotransplantation.

A potential obstacle to clinical xenotransplantation is the risk of transmission of infectious agents, especially porcine endogenous retroviruses (PERVs), from pigs to humans. This issue has been extensively reviewed elsewhere (DENNER 2008a, b).

## 7. Conclusions and Perspectives

Translational science in medicine requires model organisms which predict the efficacy and safety of new therapies more faithfully than the classical rodent models. In many aspects the pig as a monogastric omnivore is a most interesting candidate. Major advantages include the broad spectrum of phenotypic and genetic variability, the high reproductive performance and the possibility for genetic modification. Although the pig is already an important species for experimentation, improvements are necessary to fully exploit the potential of the pig as a model organism for translational research. As for the mouse resource centers are necessary for the development, archiving and distribution of new pig models. The National Swine Research and Resource Center (NSRRC; [www.nsrcc.missouri.edu/](http://www.nsrcc.missouri.edu/)) is an important starting point, which needs complementary institutions in other continents. A worldwide network will be able to generate, characterize and distribute the required pig models in a reasonable time frame. Further, major investments need to be made in the establishment of standardized phenotyping protocols as it has been done for the mouse ([www.eumorphia.org/](http://www.eumorphia.org/)). With these measures genetically modified and other pig models will become an important refinement of late preclinical testing, thus increasing the chance for success and avoidance of toxicity in clinical trial. In this respect, pig models and other large animal models are important elements of translational science in medicine and are expected to catalyze the development from discovery to therapy.

### Acknowledgments

Our studies on the development of large animal models for translational research were/are supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (FOR 535, FOR793, FOR1041, GRK1029), the Bundesministerium für Bildung und Forschung (MoBiMed), the Mukoviszidose e. V., and the Bayerische Forschungsförderung (492/02, FORZEBRA).

### References

- BAGGIO, L. L., and DRUCKER, D. J.: Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132, 2131–2157 (2007)
- BETTHAUSER, J., FORSBERG, E., AUGENSTEIN, M., CHILDS, L., EILERTSEN, K., ENOS, J., FORSYTHE, T., GOLUEKE, P., JURGELLA, G., KOPPANG, R., LESMEISTER, T., MALLON, K., MELL, G., MISICA, P., PACE, M., PFISTER-GENSKOW, M., STRELCHENKO, N., VOELKER, G., WATT, S., THOMPSON, S., and BISHOP, M.: Production of cloned pigs from in vitro systems. *Nature Biotechnol.* 18, 1055–1059 (2000)
- BREM, G., BREINIG, B., GOODMAN, H. M., SELDEN, R. C., GRAF, F., KRUFF, B., SPRINGMANN, K., HONDELE, J., MEYER, J., WINNACKER, E. L., and KRAUSSLICH, H.: Production of transgenic mice, rabbits and pigs by microinjection into pronuclei. *Zuchthygiene* 20, 251–252 (1985)
- BRINSTER, R. L., SANDGREN, E. P., BEHRINGER, R. R., and PALMITER, R. D.: No simple solution for making transgenic mice. *Cell* 59, 239–241 (1989)
- CARDONA, K., KORBUTT, G. S., MILAS, Z., LYON, J., CANO, J., JIANG, W., BELLO-LABORN, H., HACQUOIL, B., STROBERT, E., GANGAPPA, S., WEBER, C. J., PEARSON, T. C., RAJOTTE, R. V., and LARSEN, C. P.: Long-term survival of neonatal porcine islets in nonhuman primates by targeting costimulation pathways. *Nature Med.* 12, 304–306 (2006)
- CHANG, K., QIAN, J., JIANG, M., LIU, Y. H., WU, M. C., CHEN, C. D., LAI, C. K., LO, H. L., HSIAO, C. T., BROWN, L., BOLEN, J. Jr., HUANG, H. I., HO, P. Y., SHIH, P. Y., YAO, C. W., LIN, W. J., CHEN, C. H., WU, F. Y., LIN, Y. J., XU, J., and WANG, K.: Effective generation of transgenic pigs and mice by linker based sperm-mediated gene transfer. *BMC Biotechnol.* 2, 5 (2002)
- CHEN, K., BAXTER, T., MUIR, W. M., GROENEN, M. A., and SCHOOK, L. B.: Genetic resources, genome mapping and evolutionary genomics of the pig (*Sus scrofa*). *Int. J. Biol. Sci.* 3, 153–165 (2007)

- CHEN, R. H., NAFICY, S., LOGAN, J. S., DIAMOND, L. E., and ADAMS, D. H.: Hearts from transgenic pigs constructed with CD59/DAF genomic clones demonstrate improved survival in primates. *Xenotransplantation* 6, 194–200 (1999)
- COOPER, D. K., EZZELARAB, M., HARA, H., and AYARES, D.: Recent advances in pig-to-human organ and cell transplantation. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 8, 1–4 (2008)
- COWAN, P. J.: Coagulation and the xenograft endothelium. *Xenotransplantation* 14, 7–12 (2007)
- CREW, M. D.: Play it in E or G: utilization of HLA-E and -G in xenotransplantation. *Xenotransplantation* 14, 198–207 (2007)
- DENNER, J.: Is porcine endogenous retrovirus (PERV) transmission still relevant? *Transplant. Proc.* 40, 587–589 (2008a)
- DENNER, J.: Recombinant porcine endogenous retroviruses (PERV-A/C): a new risk for xenotransplantation? *Arch. Virol.* 153, 1421–1426 (2008b)
- DIAMOND, L. E., QUINN, C. M., MARTIN, M. J., LAWSON, J., PLATT, J. L., and LOGAN, J. S.: A human CD46 transgenic pig model system for the study of discordant xenotransplantation. *Transplantation* 71, 132–142 (2001)
- DIXON, J. L., STOOPS, J. D., PARKER, J. L., LAUGHLIN, M. H., WEISMAN, G. A., and STUREK, M.: Dyslipidemia and vascular dysfunction in diabetic pigs fed an atherogenic diet. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 19, 2981–2992 (1999)
- DONAHUE, J. K., HELDMAN, A. W., FRASER, H., McDONALD, A. D., MILLER, J. M., RADE, J. J., ESCHENHAGEN, T., and MARBAN, E.: Focal modification of electrical conduction in the heart by viral gene transfer. *Nature Med.* 6, 1395–1398 (2000)
- DRAGHIA-AKLI, R., and FIOROTTO, M. L.: A new plasmid-mediated approach to supplement somatotropin production in pigs. *J. Anim. Sci.* 82 E-Suppl, E264–E269 (2004)
- DYSON, M. C., ALLOOSH, M., VUCHETICH, J. P., MOKEKKE, E. A., and STUREK, M.: Components of metabolic syndrome and coronary artery disease in female Ossabaw swine fed excess atherogenic diet. *Comp. Med.* 56, 35–45 (2006)
- FULLER, D. H., LOUDON, P., and SCHMALJOHN, C.: Preclinical and clinical progress of particle-mediated DNA vaccines for infectious diseases. *Methods* 40, 86–97 (2006)
- GORODKIN, J., CIRERA, S., HEDEGAARD, J., GILCHRIST, M. J., PANITZ, F., JORGENSEN, C., SCHEIBYE-KNUDSEN, K., ARVIN, T., LUMHOLDT, S., SAWERA, M., GREEN, T., NIELSEN, B. J., HAVGAARD, J. H., ROSENKILDE, C., WANG, J., LI, H., LI, R., LIU, B., HU, S., DONG, W., LI, W., YU, J., WANG, J., STAEFELDT, H. H., WERNERSSON, R., MADSEN, L. B., THOMSEN, B., HORNHOJ, H., BUJIE, Z., WANG, X., WANG, X., BOLUND, L., BRUNAK, S., YANG, H., BENDIXEN, C., and FREDHOLM, M.: Porcine transcriptome analysis based on 97 non-normalized cDNA libraries and assembly of 1,021,891 expressed sequence tags. *Genome Biol.* 8, R45 (2007)
- HAMMER, R. E., PURSEL, V. G., REXROAD, C. E. Jr., WALL, R. J., BOLT, D. J., EBERT, K. M., PALMITER, R. D., and BRINSTER, R. L.: Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature* 315, 680–683 (1985)
- HAND, M. S., SURWIT, R. S., RODIN, J., VAN ORDER, P., and FEINGLOS, M. N.: Failure of genetically selected miniature swine to model NIDDM. *Diabetes* 36, 284–287 (1987)
- HAYASE, M., DEL MONTE, F., KAWASE, Y., MACNEILL, B. D., MCGREGOR, J., YONEYAMA, R., HOSHINO, K., TSUJI, T., DE GRAND, A. M., GWATHMEY, J. K., FRANGIONI, J. V., and HAJJAR, R. J.: Catheter-based antegrade intracoronary viral gene delivery with coronary venous blockade. *Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 288, H2995–H3000 (2005)
- HERING, B. J., WIJKSTROM, M., GRAHAM, M. L., HARDSTEDT, M., AASHEIM, T. C., JIE, T., ANSITE, J. D., NAKANO, M., CHENG, J., LI, W., MORAN, K., CHRISTIANS, U., FINNEGAN, C., MILLS, C. D., SUTHERLAND, D. E., BANSAL-PAKALA, P., MURTAUGH, M. P., KIRCHHOF, N., and SCHURMAN, H. J.: Prolonged diabetes reversal after intra-portal xenotransplantation of wild-type porcine islets in immunosuppressed nonhuman primates. *Nature Med.* 12, 301–303 (2006)
- HERRERO, M. J., DASÍ, F., NOGUERA, I., SANCHEZ, M., MORET, I., SANMARTIN, I., and ALINO, S. F.: Mouse and pig nonviral liver gene therapy: success and trials. *Gene Ther. Mol. Biol.* 9, 169–180 (2005)
- HOFMANN, A., KESSLER, B., EWERLING, S., KABERMANN, A., BREM, G., WOLF, E., and PFEIFER, A.: Epigenetic regulation of lentiviral transgene vectors in a large animal model. *Mol. Ther.* 13, 59–66 (2006)
- HOFMANN, A., KESSLER, B., EWERLING, S., WEPPERT, M., VOGG, B., LUDWIG, H., STOJKOVIC, M., BOELHAUVE, M., BREM, G., WOLF, E., and PFEIFER, A.: Efficient transgenesis in farm animals by lentiviral vectors. *EMBO Rep.* 4, 1054–1060 (2003)
- HOFMANN, A., ZAKHARTCHENKO, V., WEPPERT, M., SEBALD, H., WENIGERKIND, H., BREM, G., WOLF, E., and PFEIFER, A.: Generation of transgenic cattle by lentiviral gene transfer into oocytes. *Biol. Reprod.* 71, 405–409 (2004)
- HOGAN, P., DALL, T., and NIKOLOV, P.: Economic costs of diabetes in the US in 2002. *Diabetes Care* 26, 917–932 (2003)

- HUMPHRAY, S. J., SCOTT, C. E., CLARK, R., MARRON, B., BENDER, C., CAMM, N., DAVIS, J., JENKS, A., NOON, A., PATEL, M., SEHRA, H., YANG, F., ROGATCHEVA, M. B., MILAN, D., CHARDON, P., ROHRER, G., NONNEMAN, D., JONG, P. DE, MEYERS, S. N., ARCHIBALD, A., BEEVER, J. E., SCHOOK, L. B., and ROGERS, J.: A high utility integrated map of the pig genome. *Genome Biol.* 8, R139 (2007)
- JAENISCH, R.: Infection of mouse blastocysts with SV40 DNA: normal development of the infected embryos and persistence of SV40-specific DNA sequences in the adult animals. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 39 Pt 1, 375–380 (1975)
- JOHANSEN, T., HANSEN, H. S., RICHELSEN, B., and MALMLOF, R.: The obese Gottingen minipig as a model of the metabolic syndrome: dietary effects on obesity, insulin sensitivity, and growth hormone profile. *Comp. Med.* 51, 150–155 (2001)
- KAHN, S. E., HULL, R. L., and UTZSCHNEIDER, K. M.: Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 444, 840–846 (2006)
- KAMOYARA, H., MATSUYAMA, W., SHIMOZATO, O., ABE, K., GALLIGAN, C., HASHIMOTO, S., MATSUSHIMA, K., and YOSHIMURA, T.: Regulation of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and TRAIL receptor expression in human neutrophils. *Immunology* 111, 186–194 (2004)
- KLOSE, R., KEMTER, E., BEDKE, T., BITTMANN, I., KESSLER, B., ENDRES, R., PFEFFER, K., SCHWINZER, R., and WOLF, E.: Expression of biologically active human TRAIL in transgenic pigs. *Transplantation* 80, 222–230 (2005)
- KUROME, M., UEDA, H., TOMII, R., NARUSE, K., and NAGASHIMA, H.: Production of transgenic-clone pigs by the combination of ICSI-mediated gene transfer with somatic cell nuclear transfer. *Transgenic Res.* 15, 229–240 (2006)
- LAI, L., KOLBER-SIMONDS, D., PARK, K. W., CHEONG, H. T., GREENSTEIN, J. L., IM, G. S., SAMUEL, M., BONK, A., RIEKE, A., DAY, B. N., MURPHY, C. N., CARTER, D. B., HAWLEY, R. J., and PRATHER, R. S.: Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science* 295, 1089–1092 (2002)
- LARSEN, M. O., GOTFREDSEN, C. F., WILKEN, M., CARR, R. D., PORKSEN, N., and ROLIN, B.: Loss of beta-cell mass leads to a reduction of pulse mass with normal periodicity, regularity and entrainment of pulsatile insulin secretion in Gottingen minipigs. *Diabetologia* 46, 195–202 (2003)
- LARSEN, M. O., and ROLIN, B.: Use of the Gottingen minipig as a model of diabetes, with special focus on type 1 diabetes research. *ILAR J.* 45, 303–313 (2004)
- LARSEN, M. O., ROLIN, B., WILKEN, M., CARR, R. D., SVENDSEN, O., and BOLLEN, P.: Parameters of glucose and lipid metabolism in the male Gottingen minipig: influence of age, body weight, and breeding family. *Comp. Med.* 51, 436–442 (2001)
- LAVITRANO, M., BUSNELLI, M., CERRITO, M. G., GIOVANNONI, R., MANZINI, S., and VARGIOLU, A.: Sperm-mediated gene transfer. *Reprod. Fertil. Dev.* 18, 19–23 (2006)
- LAVITRANO, M., CAMAIONI, A., FAZIO, V. M., DOLCI, S., FARACE, M. G., and SPADAFORA, C.: Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice. *Cell* 57, 717–723 (1989)
- LAVITRANO, M., FORNI, M., BACCI, M. L., DI STEFANO, C., VARZI, V., WANG, H., and SEREN, E.: Sperm mediated gene transfer in pig: Selection of donor boars and optimization of DNA uptake. *Mol. Reprod. Dev.* 64, 284–291 (2003)
- LEAHY, J. L.: Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch. Med. Res.* 36, 197–209 (2005)
- LOIS, C., HONG, E. J., PEASE, S., BROWN, E. J., and BALTIMORE, D.: Germline transmission and tissue-specific expression of transgenes delivered by lentiviral vectors. *Science* 295, 868–872 (2002)
- LUNEMANN, J. D., WAICZIES, S., EHRLICH, S., WENDLING, U., SEEGER, B., KAMRADT, T., and ZIPP, F.: Death ligand TRAIL induces no apoptosis but inhibits activation of human (auto)antigen-specific T cells. *J. Immunol.* 168, 4881–4888 (2002)
- LUNNEY, J. K.: Advances in swine biomedical model genomics. *Int. J. Biol. Sci.* 3, 179–184 (2007)
- MCCREATH, K. J., HOWCROFT, J., CAMPBELL, K. H., COLMAN, A., SCHNIEKE, A. E., and KIND, A. J.: Production of gene-targeted sheep by nuclear transfer from cultured somatic cells. *Nature* 405, 1066–1069 (2000)
- MEZRICH, J. D., HALLER, G. W., ARN, J. S., HOUSER, S. L., MADSEN, J. C., and SACHS, D. H.: Histocompatible miniature swine: an inbred large-animal model. *Transplantation* 75, 904–907 (2003)
- NAGASHIMA, H., FUJIMURA, T., TAKAHAGI, Y., KUROME, M., WAKO, N., OCHIAI, T., ESAKI, R., KANO, K., SAITO, S., OKABE, M., and MURAKAMI, H.: Development of efficient strategies for the production of genetically modified pigs. *Theriogenology* 59, 95–106 (2003)
- NAUCK, M. A., BALLER, B., and MEIER, J. J.: Gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes* 53, Suppl. 3, S190–S196 (2004)
- NAUCK, M. A., HEIMESAAT, M. M., ORSKOV, C., HOLST, J. J., EBERT, R., and CREUTZFELDT, W.: Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7–36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 91, 301–307 (1993)

- ONISHI, A., IWAMOTO, M., AKITA, T., MIKAWA, S., TAKEDA, K., AWATA, T., HANADA, H., and PERRY, A. C.: Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei. *Science* 289, 1188–1190 (2000)
- PFEIFER, A.: Lentiviral transgenesis. *Transgenic Res.* 13, 513–522 (2004)
- PFEIFER, A., IKAWA, M., DAYN, Y., and VERMA, I. M.: Transgenesis by lentiviral vectors: lack of gene silencing in mammalian embryonic stem cells and preimplantation embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 2140–2145 (2002)
- PHILLIPS, K. A., VAN BEBBER, S., and ISSA, A. M.: Diagnostics and biomarker development: priming the pipeline. *Nature Rev. Drug Discov.* 5, 463–469 (2006)
- PHILLIPS, R. W., PANEPINTO, L. M., SPANGLER, R., and WESTMORELAND, N.: Yucatan miniature swine as a model for the study of human diabetes mellitus. *Diabetes* 31, 30–36 (1982)
- POLEJAEVA, I. A., CHEN, S. H., VAUGHT, T. D., PAGE, R. L., MULLINS, J., BALL, S., DAI, Y., BOONE, J., WALKER, S., AYARES, D. L., COLMAN, A., and CAMPBELL, K. H.: Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature* 407, 86–90 (2000)
- PRESCOTT, M. F., HASLER-RAPACZ, J., LINDEN-REED, J., and RAPACZ, J.: Familial hypercholesterolemia associated with coronary atherosclerosis in swine bearing different alleles for apolipoprotein B. *Ann. New York Acad. Sci.* 748, 283–292 (1995)
- PRESCOTT, M. F., MCBRIDE, C. H., HASLER-RAPACZ, J., VON LINDEN, J., and RAPACZ, J.: Development of complex atherosclerotic lesions in pigs with inherited hyper-LDL cholesterol bearing mutant alleles for apolipoprotein B. *Amer. J. Pathol.* 139, 139–147 (1991)
- RAAKE, P., DEGENFELD, G. VON, HINKEL, R., VACHENAUER, R., SANDNER, T., BELLER, S., ANDREES, M., KUPATT, C., SCHULER, G., and BOEKSTEGERS, P.: Myocardial gene transfer by selective pressure-regulated retroinfusion of coronary veins: comparison with surgical and percutaneous intramyocardial gene delivery. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 44, 1124–1129 (2004)
- REHBINDER, C., BANEUX, P., FORBES, D., VAN HERCK, H., NICKLAS, W., RUGAYA, Z., and WINKLER, G.: FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health. *Lab. Anim.* 32, 1–17 (1998)
- RENNER, S., FEHLINGS, C., HERBACH, N., HOFMANN, A., WALDTHAUSEN, D. C. VON, KESSLER, B., ULRICH, K., CHODNEVSKAJA, I., MOSKALENKO, V., AMSELGRUBER, W., GOEKE, B., PFEIFER, A., WANKE, R., and WOLF, E.: Glucose intolerance and reduced proliferation of pancreatic b-cells in transgenic pigs with impaired GIP function. *Diabetes* (2010, accepted)
- RENSHAW, S. A., PARMAR, J. S., SINGLETON, V., ROWE, S. J., DOCKRELL, D. H., DOWER, S. K., BINGLE, C. D., CHILVERS, E. R., and WHYTE, M. K.: Acceleration of human neutrophil apoptosis by TRAIL. *J. Immunol.* 170, 1027–1033 (2003)
- RIEBEN, R., and SEEBACH, J. D.: Xenograft rejection: IgG1, complement and NK cells team up to activate and destroy the endothelium. *Trends Immunol.* 26, 2–5 (2005)
- ROGERS, C. S., HAO, Y., ROKHLINA, T., SAMUEL, M., STOLTZ, D. A., LI, Y., PETROFF, E., VERMEER, D. W., KABEL, A. C., YAN, Z., SPATE, L., WAX, D., MURPHY, C. N., RIEKE, A., WHITWORTH, K., LINVILLE, M. L., KORTE, S. W., ENGELHARDT, J. F., WELSH, M. J., and PRATHER, R. S.: Production of CFTR-null and CFTR-DeltaF508 heterozygous pigs by adeno-associated virus-mediated gene targeting and somatic cell nuclear transfer. *J. Clin. Invest.* 118, 1571–1577 (2008)
- SCHNIEKE, A. E., KIND, A. J., RITCHIE, W. A., MYCOCK, K., SCOTT, A. R., RITCHIE, M., WILMUT, I., COLMAN, A., and CAMPBELL, K. H.: Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* 278, 2130–2133 (1997)
- SHI, W., ZAKHARTCHENKO, V., and WOLF, E.: Epigenetic reprogramming in mammalian nuclear transfer. *Differentiation* 71, 91–113 (2003)
- SONG, K., CHEN, Y., GOKE, R., WILMEN, A., SEIDEL, C., GOKE, A., HILLIARD, B., and CHEN, Y.: Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is an inhibitor of autoimmune inflammation and cell cycle progression. *J. Exp. Med.* 191, 1095–1104 (2000)
- URSINI-SIEGEL, J., ZHANG, W., ALTMAYER, A., HATADA, E. N., DO, R. K., YAGITA, H., and CHEN-KIANG, S.: TRAIL/Apo-2 ligand induces primary plasma cell apoptosis. *J. Immunol.* 169, 5505–5513 (2002)
- VAJTA, G., ZHANG, Y., and MACHATY, Z.: Somatic cell nuclear transfer in pigs: recent achievements and future possibilities. *Reprod. Fert. Dev.* 19, 403–423 (2007)
- WALL, R. J.: Transgenic livestock: progress and prospects for the future. *Theriogenology* 45, 57–68 (1996)
- WANG, X., OU, J., HUANG, L., NISHIHARA, M., LI, J., MANABE, N., and ZHANG, Y.: Genetic characteristics of inbred Wuzhishan miniature pigs, a native Chinese breed. *J. Reprod. Dev.* 52, 639–643 (2006)
- WEISS, E. H., LILIENTHAL, B. G., MÜLLER, S., MÜLLER, E., HERBACH, N., KESSLER, B., WANKE, R., SCHWINZER, R., SEEBACH, J. D., WOLF, E., and BREM, G.: HLA-E/human beta2-microglobulin transgenic pigs: Protection against xenogeneic human anti-pig natural killer cell cytotoxicity. *Transplantation* 87, 35–43 (2009)

- WEHLING, M.: Translational medicine: science or wishful thinking? *J. Transl. Med.* 6, 31 (2008)
- WERNERSSON, R., SCHIERUP, M. H., JORGENSEN, F. G., GORODKIN, J., PANITZ, F., STAERFELDT, H. H., CHRISTENSEN, O. F., MAILUND, T., HORNSHOJ, H., KLEIN, A., WANG, J., LIU, B., HU, S., DONG, W., LI, W., WONG, G. K., YU, J., WANG, J., BENDIXEN, C., FREDHOLM, M., BRUNAK, S., YANG, H., and BOLUND, L.: Pigs in sequence space: a 0.66X coverage pig genome survey based on shotgun sequencing. *BMC Genomics* 6, 70 (2005)
- WHITELAW, C. B., RADCLIFFE, P. A., RITCHIE, W. A., CARLISLE, A., ELLARD, F. M., PENA, R. N., ROWE, J., CLARK, A. J., KING, T. J., and MITROPHANOUS, K. A.: Efficient generation of transgenic pigs using equine infectious anaemia virus (EIAV) derived vector. *FEBS Lett.* 571, 233–236 (2004)
- WILD, S., ROGLIC, G., GREEN, A., SICREE, R., and KING, H.: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27, 1047–1053 (2004)
- WILMUT, I., SCHNIEKE, A. E., MCWHIR, J., KIND, A. J., and CAMPBELL, K. H.: Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385, 810–813 (1997)
- WOLF, E., SCHERNTHANER, W., ZAKHARTCHENKO, V., PRELLE, K., STOJKOVIC, M., and BREM, G.: Transgenic technology in farm animals—progress and perspectives. *Exp. Physiol.* 85, 615–625 (2000)
- XI, S., YIN, W., WANG, Z., KUSUNOKI, M., LIAN, X., KOIKE, T., FAN, J., and ZHANG, Q.: A minipig model of high-fat/high-sucrose diet-induced diabetes and atherosclerosis. *Int. J. Exp. Pathol.* 85, 223–231 (2004)
- XIE, L., SHI, W., and GUO, P.: Roles of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in corneal transplantation. *Transplantation* 76, 1556–1559 (2003)
- YAMAMOTO, H., UCHIGATA, Y., and OKAMOTO, H.: Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* 294, 284–286 (1981)
- YANG, Y. G., and SYKES, M.: Xenotransplantation: current status and a perspective on the future. *Nature Rev. Immunol.* 7, 519–531 (2007)
- YOSHINO, H., HASHIZUME, K., and KOBAYASHI, E.: Naked plasmid DNA transfer to the porcine liver using rapid injection with large volume. *Gene Ther.* 13, 1696–1702 (2006)

Prof. Dr. Eckhard WOLF  
Chair for Molecular Animal Breeding and Biotechnology,  
and Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA)  
Gene Center and Department of Veterinary Sciences  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Feodor-Lynen-Str. 25  
81377 Munich  
Germany  
Phone: +49 89 218076800  
Fax: +49 89 218076849  
E-Mail: ewolf@lmb.uni-muenchen.de



## Von der Genetik zur Epigenetik und Epigenomforschung – Essay zur Geschichte der Vererbungsforschung und zur Zukunft der prädiktiven Medizin<sup>1</sup>

Thomas CREMER ML (München)

Mit 10 Abbildungen

### *Zusammenfassung*

Rasche Fortschritte in der Genomforschung haben zur Vision einer personalisierten Vorhersagemedizin geführt mit dem Ziel, bei gegenwärtig gesunden Individuen besondere Risiken für das zukünftige Auftreten schwerer Krankheiten festzustellen. Diese neue, wichtige Anwendung soll dem Wohlergehen von Individuen (wem sonst?) dienen. Das unterscheidet sie grundlegend von den Zielen der Eugenik während des frühen 20. Jahrhunderts, bei denen es um das Wohlergehen der Allgemeinheit, einer Nation oder sogar einer menschlichen „Rasse“ ging, die anderen „Rassen“ gegenüber als überlegen angesehen wurde. Im Hinblick auf die deutsche Geschichte der „Rassenhygiene“ während des Dritten Reichs möchte ich die Gefahr ansprechen, dass eine Gesellschaft, die über Vererbung weiter im mendelistischen Denkraum des frühen 20. Jahrhunderts denkt, ein großes Risiko läuft, für neue Formen der Eugenik anfällig zu werden in der surrealen Hoffnung, „schlechte“ Modifikationen (Allele) von Genen aus dem Genpool einer menschlichen Population zu entfernen und nur die guten Allele zu behalten. Der krass vereinfachte Denkraum der Vererbung von MENDELs eugenisch motivierten Erfolgsleuten führte zu schrecklichen Konsequenzen einer staatlich geförderten Eugenik, die von Zwangssterilisationen (in zahlreichen Ländern) bis zum Mord (in Deutschland während der nationalsozialistischen Herrschaft) reichten. Gregor MENDEL, der 1884 starb, war dagegen selbst kein Mendelist mit eugenischen Zielsetzungen, und die Bedeutung seiner fundamentalen Erkenntnisse über die Vererbung im 19. Jahrhundert für die Entwicklung der Genetik im 20. Jahrhundert kann kaum überschätzt werden. Um die Fehler einer eugenischen Politik der Vergangenheit zu vermeiden, ist es notwendig, sich den historischen Kontext und die fehlerhaften Konzepte vor Augen zu halten, die zur Entwicklung der Eugenik geführt haben und aus einer Überschätzung des faktischen Wissens über die Vererbung komplexer Körpermerkmale resultierten. Überschätzung des eigenen Wissensstands und der eigenen Fähigkeiten war immer ein Bestandteil menschlicher Bestrebungen innerhalb und außerhalb des Bereichs naturwissenschaftlicher Forschung. Sie hat zu einer Fortsetzung eugenischer Bestrebungen auch nach dem Zweiten Weltkrieg beigetragen.

Das Ziel dieses Essays besteht darin, einen brauchbaren Denkraum – so weit ich dazu fähig bin – zum heutigen Wissensstand der Vererbungsprozesse vorzustellen. Dazu erläutere ich die Entwicklung wesentlicher Konzepte der Vererbung von der Blütezeit des Mendelismus in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts bis zur Gegenwart. Während des letzten Jahrzehnts wurde die Genetik durch die Entwicklung des neuen Forschungsfelds der Epigenetik immens bereichert. Im Zentrum epigenetischer Forschung stehen lang andauernde, über viele Zellgenerationen innerhalb eines Organismus und sogar auf Nachkommen vererbare Verpackungszustände des aus DNA und Proteinen bestehenden Chromatins. Dazu gehören „offene“ für die Transkription von Genen geeignete und „geschlossene“, inaktive Chromatinkonfigurationen. Inzwischen ist klar geworden, dass selbst die vollständige DNA-Basensequenz eines Individuums weder heute noch in Zukunft ausreicht, um das erbbedingte Risiko von Menschen für wichtige Krankheiten vorherzusagen. Genetisch präzise regulierte genetische Mechanismen kontrollieren epigenetische Chromatinmodifikationen, von denen die von einem bestimmten Zelltyp benötigte Regulierung der An- und Abschaltung tausender Gene abhängt. Diese epigenetischen Modifikationen können in tief greifender Weise von Umweltfaktoren beeinflusst werden. Dadurch kann – je nach den Bedingungen der Umwelt, in der ein Mensch lebt – sein tatsächliches Risiko für multifaktorielle Erkrankungen im Verlauf seines Lebens wesentlich steigen oder auch sinken. Zu die-

---

1 Erweiterte und vollständig überarbeitete Fassung eines Vortrags „Gute Gene – schlechte Gene: Überlegungen zu den Gefahren einer Vorhersagemedizin im Korsett überholter mendelistischer Ansichten“ (Good Genes and Bad Genes: the Dangerous Marriage of Old Mendelistic Views and New Predictive Medicine). Third Weissenburg Symposium „Medicine at the Interphase between Science and Ethics“ 30. 5. – 1. 6. 2007.

sen durch ein Zusammenwirken von genetischen und umweltbedingten Einflüssen hervorgerufenen Erkrankungen zählen z. B. Krebserkrankungen, die Alzheimerische Demenz, psychiatrische Erkrankungen wie Depressionen und Schizophrenien, der Diabetes mellitus, Herzinfarkte, Schlaganfälle und vieles mehr. Das tatsächliche Erkrankungsrisiko kann sich selbst bei eineiigen Zwillingen, die bekanntlich von ihren Eltern das gleiche, diploide Genom ererbt haben, im Laufe ihres Lebens erheblich unterscheiden. In jüngster Zeit wird immer deutlicher, dass zum Verständnis der zelltypspezifischen Regulation von Genexpressionsmustern auch die Erforschung der Zellkernarchitektur mit ihren zelltypspezifischen Mustern der dreidimensionalen Anordnung des Chromatins erforderlich ist.

Ethische Überlegungen und gesetzgeberische Erfordernisse der Vorhersagemedizin erfordern eine langfristig begleitende, offene Diskussion in unserer Gesellschaft. Die Häufigkeit einiger autosomal rezessiver Erbkrankheiten, z. B. der im Mittelmeerraum verbreiteten Thalassämien, wurde in einigen Regionen mit einer besonders hohen Frequenz von gesunden Überträgern des defekten Gens durch Screening-Verfahren der Bevölkerung und die pränatale Diagnose deutlich vermindert. Die Vorstellung, man könne mittels Eugenik mutierte Gene für Mendelsche Erbkrankheiten aus dem Genpool einer Bevölkerung eliminieren, ist nicht nur vergeblich, sondern äußerst gefährlich. Das Konzept der unvermeidbaren, genetischen Bürde liefert den entscheidenden wissenschaftlichen Grund für diese Einschätzung. Gene und ihre Allele können nicht einfach als nützlich oder schädlich, gut oder schlecht, gesundheitsfördernd oder krankmachend klassifiziert werden. Denn die meisten Gene und ihre Allele haben vielfältige Effekte auf verschiedene Aspekte des menschlichen Phänotyps, von denen einige segensreich und andere nachteilig sein können. Ob wünschenswerte oder nicht wünschenswerte Effekte eines Allels im Vordergrund stehen, hängt von Allelen an anderen Genorten ebenso ab wie von speziellen Erfordernissen der Umwelt, in der ein Mensch lebt. Wenn diese Umwelt für alle oder einzelne Menschen ungesund ist, sollten wir darangehen, die Umwelt zu ändern, nicht die Gene. Abgesehen von der Tatsache, dass wirksame eugenische Maßnahmen zur Veränderung der Frequenzen bestimmter Allele in einer Population eine Erzwungung von Handlungsmaßstäben erfordern, die die persönliche Freiheit zur Fortpflanzung in einer verhängnisvollen, völlig unakzeptablen Weise einschränkt oder ganz beendet, wissen wir nicht einmal mit Sicherheit, ob die Entfernung einer bestimmten genetischen Bürde aus dem Genpool einer Bevölkerung ihre Gesundheit insgesamt (*inclusive fitness*) verbessern oder verschlechtern würde. Glücklicherweise sind Vorstellungen einer neuen Eugenik gegenwärtig nicht zugkräftig, zumindest in den Kreisen von Humangenetikern, aber die Gefahr, dass eugenische Vorstellungen, vielleicht unbeabsichtigt, durch politische Maßnahmen zur Gesundheitsvorsorge in einer Bevölkerung wieder hoffähig gemacht werden, besteht weiter, zumindest im weltweiten Maßstab. Diese Gefahr erfordert eine aufmerksame, andauernde Beobachtung dieser Entwicklung, damit im Bedarfsfall rechtzeitig gegengesteuert werden kann. Angesichts all der komplexen Überlegungen zu den wissenschaftlich-technischen Möglichkeiten und Grenzen der heutigen und zukünftigen Vorhersagemedizin dürfen wir nicht die gute, alte Aufgabe von Ärzten vergessen, die darin besteht, Menschen als Individuen zu helfen, gesund zu bleiben, und, wenn eine Krankheit zuschlägt, so schnell wie möglich die Gesundheit zurückzuerlangen oder wenigstens Krankheitsfolgen so weit wie möglich zu mildern. Dieses Ziel sollte der Kompass sein für jedes menschliche Konzept einer personalisierten Medizin, einschließlich der Vorhersagemedizin.

## Abstract

Rapid advances in genome research have led to the vision of a personalized, predictive medicine, where presently healthy individuals know about their future risks to develop certain diseases. This new and major application is centered (or not?) on the well being of individuals and thus clearly different from the goals of eugenics in the early 20<sup>th</sup> century, which had in mind the asserted well being of the public, a nation or even a human “race” considered to be superior over other races. Considering the German history of “Rassenhygiene” (racial hygiene) during the Third Reich, I wish to discuss the danger that a society, which continues to think within the Mendelistic framework of the early 20<sup>th</sup> century, runs a great risk of susceptibility to new forms of eugenics based on the surreal hope to eliminate “bad” genes and retain “good” ones in the gene pool of a human population. The starkly oversimplified and dangerous framework of genetic thinking by MENDEL’s followers and the abhorrent consequences of eugenic policies before and during World War II should not belittle the groundbreaking experiments and conclusions of Gregor MENDEL in the 19<sup>th</sup> century, who provided the fundament of genetics. MENDEL, who died in 1884, was not a Mendelist with eugenic goals. In order to avoid the mistakes of the past it is necessary to be aware of this historical context and the misconceptions, which resulted from an overestimation of the factual knowledge about the hereditary transmission of complex phenotypic characters. Overestimation of one’s own knowledge and capabilities has always been an ingredient of human endeavors in and outside the domain of science and has fostered new eugenic thoughts even after World War II.

The goal of this essay is to provide – as best as I can – a sound framework of scientific knowledge about heredity with emphasis on its obvious and less obvious limitations. I outline major conceptual developments from the Mendelistic heydays in the 1920s and 1930s to present days much more sophisticated concepts of heredity. During the last decade genetic research has been immensely enriched and expanded by the development of epigenetics, a new field of research centered on the long lasting, even hereditary transmissible influence of chromatin packaging into “open”,

active or “closed”, inactive chromatin configurations. By now it has become most obvious that even the complete sequence of DNA base pairs of an individual does not suffice to estimate a person’s risks of future major diseases. Genetically precisely controlled epigenetic chromatin modifications play a major role for the cell type specific expression patterns of thousands of genes. These modifications are profoundly influenced by environmental factors. Accordingly, the actual risk for a multifactorial disease, such as cancer, Alzheimer’s dementia, psychotic disorders, diabetes mellitus, myocardial infarction, stroke and so forth, can change with time depending on the special circumstances of the environment in which a person lives and thus become quite different with time even in monozygotic twins who share the same genome. Furthermore, the cell type specific regulation of gene expression patterns needs to be understood in the context of nuclear architecture including cell type specific higher order chromatin arrangements. These developments from genome to epigenome research have a profound impact on the future potential of predictive medicine.

The legal and ethical implications of predictive medicine require a continued, open discussion in our society. The frequency of certain autosomal recessive Mendelian disorders in a few communities with particular high risks has been successfully diminished based on screening procedures for healthy carriers of a defective gene, as well as prenatal diagnosis. The hope of eugenics to eliminate mutated genes, which give rise to Mendelian disorders, or alleles, which increase the risk of important multifactorial diseases, in an entire gene pool, however, is futile and most dangerous. The scientific reason for this negative rating of eugenics is based on the concept of the genetic burden. Genes and their alleles cannot be classified into useful or harmful, good or bad, healthy or sick ones, because most genes and their alleles have multifaceted effects on different aspects of the phenotype, some beneficial, others detrimental. The preponderance of desirable or undesirable effects of a given allele for an individual depends on the presence of alleles at numerous other gene loci, as well as on the special demands of the environment, in which an individual lives. If an environment is unhealthy we should try to improve the environment not the genes. Aside from the fact that an effective eugenic policy with the goal to change allelic frequencies in a population would demand an enforcement of rules, which would destroy personal freedom of procreation in disastrous, clearly unacceptable ways, we do not even know with any certainty whether the removal of a given genetic burden would help to improve the health of the population. Luckily ideas of new eugenics seem presently not popular at least in the circles of human geneticists, but the danger that it might be implicitly fostered by political actions concerned with the improvement of the lasting health of individuals should continuously be taken into account and resisted. Considering all the complex scientific considerations about technical possibilities and limitations of the present and future predictive medicine, we must not forget the good old task of a medical doctor, namely to help individual human beings to stay healthy and, when sickness strikes, get healthy again as quickly and as much as possible. This intent should be the compass for any human concept of personalized medicine including predictive medicine.

## 1. Zielsetzung des Essays

Menschen können gesund oder krank sein. Niemand würde heute noch grundsätzlich bestreiten wollen, dass Erbanlagen dabei eine Rolle spielen. Wir wünschen uns alle Gesundheit und fürchten uns vor Genmutationen, die zu schweren Krankheiten führen. Die Einteilung von Erbanlagen in „gute“ und „schlechte“ Gene scheint darum auf den ersten Blick sinnvoll. Ein gesund geborenes Kind, das als Folge einer Neumutation eines einzigen Gens nach wenigen Lebensjahren wie ein Greis aussieht und an Gefäßschäden leidet, die zum Herzinfarkt oder Schlaganfall führen, ist in seiner Entwicklung in tragischer Weise behindert.<sup>2</sup> Warum sollten wir ein solches mutiertes Gen nicht als „schlechtes“ oder „krankes“ Gen bezeichnen? Dagegen wäre wenig einzuwenden, wenn wir es überall und ausschließlich mit eindeutigen Mendelschen Erbgängen zu tun hätten, bei denen wir die Entstehung einer schweren Erbkrankheit anhand eines einzelnen „schlechten“ Gens eindeutig vorhersagen könnten. In diesem Essay möchte ich deutlich machen, warum auf der Ebene der Gene die Einteilung in

2 Bei dem sehr seltenen Hutchinson-Gilford-Syndrom kommt es zu einem vorzeitigen Altern. Die Ursache dieses Syndroms ist eine Mutation des Gens für das Strukturprotein Lamin A, das zur Anheftung von Chromatin an die Lamina benötigt wird. Diese Lamina kleidet die Innenseite der Kernhülle aus. Die Lebenserwartung beträgt im Mittel nur etwa 13 Jahre. Da die Betroffenen sich nie fortpflanzen, handelt es sich hier ausschließlich um Neumutationen. <http://de.wikipedia.org/wiki/Progerie>.

die Denkschubladen gut oder schlecht sachlich falsch ist. Schwerwiegende, gesundheitspolitische Fehlentwicklungen wären die absehbare Folge, wenn die zukünftigen Möglichkeiten einer diagnostischen und therapeutischen Anwendung genetischen Wissens im Denkraum überholter, gen-deterministischer Vorstellungen beurteilt und eingesetzt würden.

Ziel dieses Essays ist es, einen erweiterten Denkraum vorzustellen, der die Komplexität der Wechselwirkungen zwischen Vererbung und Umwelt, zwischen Notwendigkeit und unvorhersehbarem Zufall bei der Ausbildung und Veränderung aller Eigenschaften eines Menschen – kurz seinem Phänotyp – sehr viel besser berücksichtigt als der alte mendelistische Rahmen. Mit diesem Ziel möchte ich Leser auf eine Zeitreise von den Anfängen der Genetik am Beginn des 20. Jahrhunderts bis zum heutigen Stand mitnehmen. Anhand ausgewählter Beispiele möchte ich einen Einblick in die komplizierten und unvorhersehbaren Wege und Fehlwege der theoretischen und experimentellen Genetik im 20. Jahrhundert geben. Wir werden sehen, wie grundlegend sich die Vorstellungen von der Vererbung im Verlauf dieses Jahrhunderts verändert haben. Das Resultat: Noch immer verstehen wir sehr wenig von der Komplexität der Wechselwirkungen zwischen Vererbung und Umwelt. Albert EINSTEIN wird die Aussage zugeschrieben, man solle die Dinge so einfach wie möglich, aber nicht einfacher machen. Bei meiner kurzen Darstellung der Wege, Sackgassen und Umwege, die zum gegenwärtigen Kenntnisstand der Vererbung geführt haben, werde ich versuchen, dieser Maxime zu folgen. Es ist einfacher, Wissenschaftsgeschichte als Erfolgsgeschichte darzustellen, mit einer Zeitleiste, aus der hervorgeht, wer wann welchen Schritt auf dem zielgenauen Weg zur jeweils neuesten Erkenntnis getan hat. Der Nachteil einer derartigen Erfolgsgeschichte ist nicht nur, dass sie den wirklichen Ablauf der Wissenschaftsgeschichte grob verfälscht. Es ist schlimmer: Wissenschaftler, die versuchen, der Öffentlichkeit die Erfolge ihrer Wissenschaft in dieser Weise zu verkaufen, laufen Gefahr, die Sicherheit der Aussagen ihrer Wissenschaft und ihre Prognosen in überheblicher Weise zu überschätzen und die Öffentlichkeit für dumm zu verkaufen. Das ist die eine Seite. Die andere Seite ist, sich mit dem Vorurteil zufrieden zu geben, es sei nun einfach jede Meinung zu jedem Sachverhalt irgendwie beliebig und darum im Grunde gleich berechtigt. Das gilt jedenfalls mit Bestimmtheit für die Geschichte der Vererbungsforschung nicht.<sup>3</sup> Wissenschaftler müssen den Mut aufbringen, der Öffentlichkeit Chancen und Risiken, die sich ihrer Überzeugung nach aus naturwissenschaftlichen Erkenntnissen ergeben, nach bestem Wissen und Gewissen deutlich zu machen. Manche Erkenntnisse sind hart, das Energieproblem lässt sich nicht mit Vorschlägen zur Konstruktion eines *Perpetuum mobile* lösen. Man kann viele Erkenntnisse in Frage stellen, aber vernünftigerweise nicht die Hauptsätze der Thermodynamik. Auch in der Geschichte der Vererbungsforschung gibt es harte Erkenntnisse, die sich nicht einfach aushebeln lassen. Andererseits war und ist diese Erkenntnisgeschichte keine Erfolgsgeschichte nach Art einer neuen Jakobsleiter *per aspera ad astra*, auf der wir Erkenntnisprozesse auf Erkenntnisprozesse hinaufsteigen bis zur vollständigen molekularen Entschlüsselung der Evolution aller Facetten unseres Phänotyps. Das Genom ist auch kein Gral, den es zu finden galt oder noch zu finden gilt. Nicht nur philosophische, auch naturwissenschaftliche Erkenntnis führt vor allen Dingen zu neuen Fragezeichen und weiteren Fragen. In der Lebenswirklichkeit gilt es zu handeln und zu bestehen, ohne Antwort auf alle wesentlichen Fragen zu haben, ja möglicherweise ohne in der Lage zu sein, die wesentlichsten Fragen zu stellen. Diesem Anspruch ist ein Naturwissenschaftler natürlich ebenso ausgesetzt wie jeder andere Mensch. Er ist und bleibt selbst ein Fragender,

---

3 CREMER 1985.

und mit diesem Eingeständnis sollte er sich, wie jeder andere Mensch auch, an öffentlichen Debatten beteiligen. Die gesellschaftlichen Folgen naturwissenschaftlicher Erkenntnis sind ihm und dürfen ihm ebenso wenig gleichgültig sein wie anderen Menschen. Noch Fragen zu haben, die dringend einer Antwort bedürfen, bedeutet ja auch ganz selbstverständlich nicht, ohne Halt, Richtung und persönlichen Mut zu handeln. Aber ein Naturwissenschaftler sollte ebenso wenig wie ein Geisteswissenschaftler oder Theologe mit dem Anspruch eines abgeschlossenen, unwiderleglich wahren Erkenntnishorizontes auftreten, der anderen nur noch mitgeteilt werden muss und aus dem ebenso unwiderleglich eindeutige Folgerungen für das gesellschaftliche Handeln zu ziehen sind. Mit diesem intellektuellen Anspruch an mich selbst, aber auch an meine Leser möchte ich mich auf unsere gemeinsame Zeitreise begeben.

Bei der gemeinsamen Beschäftigung von Spezialisten und Nicht-Spezialisten mit der Vererbungsforschung geht es nicht um eine akademische Bildungsreise, sondern um die Einschätzung der gesellschaftlichen Folgen dieser Forschung und eine vorausschauende rechtliche Steuerung ihrer vielfältigen positiven, aber eben auch gefährvollen Anwendungen. Der Physiker Hans Peter DÜRR, Träger des *Right Livelihood Award* 1987 („Alternativer Nobelpreis“), hat dazu den Begriff der T-Intelligenz eingeführt: „Die schwierigen und drängenden Probleme unserer Zeit werden sich nicht lösen lassen, wenn es uns nicht gelingt, unser vielfältiges Spezialwissen geeignet zu einem größeren Ganzen zu vernetzen und zu vereinen. Das Ziel unserer Erziehung muss sein, eine T-Intelligenz heranzubilden, eine Intelligenz, die man durch den Großbuchstaben ‚T‘ charakterisieren kann. Der vertikale Balken des ‚T‘ soll hierbei Tiefe und Professionalität auf einem bestimmten Fachgebiet symbolisieren. Denn ohne Kenntnis von Details können wir die Komplexität eines Geschehens nicht ausreichend ermessen. Dieses Detailwissen muss jedoch mit einer globalen Betrachtungsweise verbunden, muss in einen größeren Zusammenhang eingebettet sein, wie dies durch den Horizontalbalken des ‚T‘ zum Ausdruck kommt. Ganzheitliche Schau und konkretes detailliertes Handeln bezeichnen in gewisser Weise entgegengesetzte Erfahrungshaltungen, die sich wechselseitig ergänzen. Wir müssen lernen, beide in unser Leben einzubinden.“<sup>4</sup> Als Leserin oder Leser dieses Essays stelle ich mir kluge, also zum Denken und Fragen gewillte Mitmenschen vor, die sich auf meinem Berufsfeld als „blutige“ Laien empfinden, so wie ich ganz selbstverständlich auf ihren Berufsfeldern ein unwissender Mensch bin. In absoluten Maßstäben, also an der tatsächlichen Schwierigkeit der zu bewältigenden gesellschaftlichen Probleme gemessen, sitzen wir als Ignoranten im selben Boot, weniger steuernd als von den Ereignissen wie von Sturmwinden getrieben, und es scheint mir nützlich, wenn auch unüblich, diesen Zustand zum Beginn einer wesentlichen Debatte einzuräumen. Wir sind, gemessen an der Größe der zu bewältigenden Probleme – es ist peinlich, aber so ist es nun einmal –, Idioten (vom griechischen *idiótes*), also „unwissende Menschen“, „Laien“, „Pfuscher“, „Stümper“, auf den meisten Gebieten. Selbst dort – vielleicht gerade dort – wo wir uns als Spezialisten einschätzen, müssen wir einsehen, dass wir auf existenziell bedeutsame Zukunftsfragen unseres Fachgebiets keine sicheren Antworten wissen. Wir wären Narren, wenn wir diesen Zustand leugnen wollten, und solche Leugnung wäre zugleich das Ende jeder weiterführenden Diskussion. Den Mund zu halten, scheint manchmal das Beste, wenn man keine Antwort weiß. Dieser Rat wurde und wird Andersdenkenden gern erteilt. Aber die großen Probleme lassen sich mit Schweigen nicht lösen. Wir müssen also über vorläufige Erkenntnisse debattieren und dabei für Revisionen unserer Ansichten durch bessere Erkenntnisse offen bleiben.

---

4 DÜRR 2005.

Unsere Reise beginnt mit dem Konzept der Mendelschen Vererbung und der Entfaltung des mendelistischen Denkrahmens zum Problem der Vererbung in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts (Abschnitt 2). Im Zentrum des Denkrahmens der damaligen Vererbungsforschung standen deterministische Genwirkungen. Dieser Denkrahmen hat die Entwicklung eugenischer Utopien – wie kann man in einer Population den Anteil guter Gene vermehren und den Anteil schlechter Gene vermindern? – gefördert und bis zur Zäsur des Zweiten Weltkriegs weithin bestimmt (Abschnitt 3). Die damaligen Vorstellungen von der Rolle der Gene bei der Vererbung hatten massive gesellschaftliche Auswirkungen. Eugenische Zielsetzungen wurden durch die Verbrechen während der nationalsozialistischen Diktatur diskreditiert, aber auch nach dem Ende des Zweiten Weltkriegs von bedeutenden Wissenschaftlern propagiert (Abschnitt 3).

Der Mangel an verlässlichem Wissen begünstigte (und begünstigt auch heute) ein Schubladendenken: In den Geistes- und Sozialwissenschaften, aber auch in der Psychologie wurde lange die Vorstellung vertreten, dass phänotypische Unterschiede in kognitiven Fähigkeiten und im Verhalten im Wesentlichen von der Umwelt hervorgerufen werden (Abschnitt 4.1). Merkmale wurden daraufhin abgeklopft, ob sie durch Gene *oder* durch die Umwelt hervorgerufen sind. Mendelsche Erbkrankheiten gehören nach dieser Devise in die Genschublade, Infektionskrankheiten dagegen in die Umweltschublade. Auch Ideologien spielten im Kampf der Meinungen zum Einfluss von Erbe und Umwelt eine große Rolle. In der Sowjetunion kam es unter STALIN zu Verfolgungen von Wissenschaftlern, die an mendelistischen Anschauungen festhielten, denn deterministische Konzepte von Genwirkungen passten nicht zum Lenkungsanspruch des Diktators und der kommunistischen Partei (Abschnitt 4.2). Die Behauptung, menschliche Vererbungsforscher der damaligen Zeit seien durch die Bank Vertreter eines schlichten Schubladendenkens gewesen und erst die heutigen Humangenetiker hätten einen der tatsächlichen Komplexität der Wechselbeziehungen von Genen *und* Umwelt entsprechenden Denkrahmen erfunden, wäre eine unangemessene Vereinfachung. Auch damals führende Vererbungsforscher wussten von Einflüssen der Umwelt auf die Entstehung des individuellen Phänotyps, doch fehlten Methoden, um die komplexen Einflüsse der Umwelt auf die Regulation der Gene zu erforschen (Abschnitt 4.3).<sup>5</sup> In den vielen Fällen phänotypischer Eigenschaften, in denen Gene und Umwelt eine offenkundige Rolle spielen, bemühte man sich, den relativen Einfluss der Gene vom relativen Einfluss der Umwelt zu trennen und mit Hilfe eines Heritabilitätskoeffizienten quantitativ zu bestimmen (Abschnitt 5). Dass die in Abbildung 1 vorgestellte gen-deterministische Sicht bei der Propagierung der Eugenik in der Öffentlichkeit eine wichtige Rolle gespielt hat, scheint mir eine Tatsache, auch wenn sie im Rahmen dieses Essays nicht gründlich belegt werden kann.

Im Abschnitt 6 beschäftigen wir uns mit der Frage: Was sind eigentlich Gene? Die molekulare Natur der Gene und des Genoms einer Zelle waren in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts ebenso unbekannt wie die Mechanismen der Genregulation. Unter dem Genom einer tierischen oder pflanzlichen Zelle verstehen wir heute ihre gesamte DNA, die sich zum allergrößten Teil im Zellkern (Kern-Genom) und zu einem geringen, aber bedeutsamen Teil auch in den Mitochondrien, den Energielieferanten im Zytoplasma (Mitochondrien-Genom bei Tieren und Pflanzen), bzw. in den Chloroplasten befindet, die nur in Pflanzen vorkommen. Wir werden sehen, wie sehr sich der Begriff des Gens im Verlauf von hundert Jahren verändert hat und warum es auch heute noch schwierig ist, eine Definition vorzuschlagen, der alle Genetiker zustimmen. Die materielle Natur von Genen war für die Genetiker in der ersten

---

5 JOHANNSEN 1909.

Hälfte des 20. Jahrhunderts ein Rätsel. Im Verlauf der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts wurden Gene mit Abschnitten der DNA identifiziert. Ein Gen kann vielfältige Modifikationen seiner DNA-Sequenz aufweisen, die in menschlichen Populationen verbreitet sind. In der Fachsprache der Genetiker nennen wir diese Modifikationen Allele. Ein Gen hat typischerweise nicht nur eine einzige, sondern vielfältige Auswirkungen auf den Phänotyp. Die Schutzwirkung eines bestimmten Allels im Hinblick auf eine bestimmte Krankheit kann mit einer erhöhten Gefährdung für eine andere Krankheit einhergehen. Welche – positiven oder negativen – Auswirkungen ein bestimmtes Allel eines Gens bei einem bestimmten Menschen zeigt, lässt sich in aller Regel nicht beurteilen, wenn man dieses Allel isoliert für sich betrachtet. Denn die Auswirkungen hängen meist wesentlich von den Allelen vieler anderer Gene seines Genoms und vielfältigen Einflüssen der Umwelt ab. Erst in diesem bei einem Individuum meist unbekanntem Kontext können gesundheits- oder auch krankheitsfördernde Wirkungen einzelner Allele bewertet werden. Ein bestimmtes Allel kann für ein Individuum in einem bestimmten genetischen und umweltabhängigen Kontext vorteilhaft, in einem anderen Kontext nachteilig sein. Schon deshalb ist der Versuch, eine Positivliste „guter“, „gesunder“ Allele und eine Negativliste „schlechter“, „kranker“ Allele aufzustellen, vom Ansatz her verfehlt. Gene wirken in Netzwerken, die wir auch heute zumeist noch kaum oder gar nicht verstehen. Die vielfältigen Wirkungen dieser Netzwerke gilt es aufzuklären, wenn wir ihre Einflüsse auf Gesundheit und Krankheit verstehen wollen.

Das Bemühen der Genetiker und Molekularbiologen während der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts zu verstehen, wie Gene zur Bildung von Proteinen führen, war bekanntlich außerordentlich erfolgreich. Begriffe wie DNA, Boten(Messenger)-RNA und ihre Bedeutung bei der Proteinsynthese in den Ribosomen der Zelle gehören zur naturwissenschaftlichen Allgemeinbildung oder können bei Bedarf „ergoogelt“ werden. Dazu gehört die von Francis CRICK als zentrales Dogma der Molekularbiologie bezeichnete Tatsache, dass die in der DNA-Basensequenz enthaltene Information die Synthese von Proteinen mit definierter Aminosäuresequenz ermöglicht, dass es aber keinen Mechanismus gibt, mit dem eine Zelle anhand der Aminosäuresequenz das dazu gehörige Gen synthetisieren könnte. Das Problem des genetischen Codes wurde schon wenige Jahre nach der Beschreibung der DNA-Struktur geknackt. Das Problem der Genregulation erwies sich als ungleich schwieriger. Wir kennen zwar Transkriptionsfaktoren, mit deren Hilfe Gene an- und abgeschaltet werden können. Wir kennen den Aufbau komplizierter Proteinmaschinen, die für die Synthese von RNA an einem „abzulesenden“ DNA-Abschnitt (Transkription) verantwortlich sind,<sup>6</sup> oder für die Vermehrung der DNA (Replikation) oder die Reparatur von DNA-Schäden.<sup>7</sup> Wir kennen hunderte von Proteinen, aus denen diese Maschinen aufgebaut sind, aber wir verstehen bestenfalls in Ansätzen, wie diese winzigen Maschinen eigentlich funktionieren. Es ist nicht meine Absicht, hier die zahlreichen Erfolgsgeschichten dieses erstaunlichen Erkenntnisfortschritts auszubereiten. Was mich interessiert und was ich vermitteln möchte, ist das Erstaunen, wie wenig wir noch immer darüber wissen, wie die Aktivität und Inaktivität von zehntausenden Genen in jedem Zelltyp so reguliert wird, dass dieser Zelltyp seine Aufgaben im Kontext anderer Zelltypen eines Gewebes und eines gesamten Individuums angemessen erfüllt.

Im Abschnitt 7 betrachten wir das Problem der genetischen Bürde. Die Auseinandersetzung mit diesem Begriff führt zur Erkenntnis, warum die schematische Einteilung des

---

6 ALADJEM 2007.

7 BRANZEI und FOIANI 2008, WANG 2007.

menschlichen Genoms in „gesunde Gene“ und „kranke Gene“ kein wissenschaftlich haltbares Konzept darstellt.

Im Abschnitt 8 lernen wir ein neues Forschungsfeld kennen: die Epigenetik. Zusätzlich zu der in der DNA festgeschriebenen Sprache der Gene gibt es bei der Vererbung eine Chromatinsprache. Dabei geht es um das Verständnis einer unterschiedlichen Verpackung der Gene in dem aus DNA und zahlreichen Proteinen aufgebauten Chromatin des Zellkerns. Durch solche Verpackungsunterschiede wird festgelegt, welche Gene über viele Zellgenerationen dauerhaft angeschaltet oder dauerhaft abgeschaltet bleiben. Umwelteinflüsse können im Rahmen epigenetischer Mechanismen zu Epimutationen führen, also zur dauerhaften An- oder Abschaltung von Genen ohne eine Veränderung ihrer DNA-Basenabfolge mit tiefgreifenden Einflüssen auf die Gesundheit eines Individuums. Während die Epigenetik aufblüht und hunderte Forschergruppen weltweit beschäftigt, zeichnet sich bereits ab, dass auch die Erforschung epigenetischer Mechanismen und ihrer Verknüpfung mit den genetischen Mechanismen nicht ausreicht, um die zelltypspezifischen Besonderheiten der Genregulation zu verstehen. Neben Verpackungsunterschieden gibt es auch Unterschiede der Chromatinanordnung in den Zellkernen verschiedener Zelltypen, die ebenfalls wesentlich für das Verständnis der Genregulation und anderer Funktionen des Zellkerns, wie DNA-Replikation und DNA-Reparatur, sind. Beides, lokale epigenetische Modifikation des Chromatins und seine Anordnung im Zellkern, zusammen sind die Domäne der Epigenomforschung. Sie hat zu einer Erweiterung des Denkrahmens in der Vererbungsforschung geführt, die sich als ebenso tiefgreifend erweisen wird, wie die Einführung des Mendelschen Paradigmas zu Beginn des 20. Jahrhunderts (Abschnitt 9). Dieser neue Umbruch wird die Grundlagenforschung ebenso wie die angewandte Vererbungsforschung in der Humanmedizin, der Veterinärmedizin und den Agrarwissenschaften des 21. Jahrhundert bereichern, ja vermutlich dominieren.

Im Abschnitt 10 beschäftigen wir uns in knapper Form mit der neuen, erst entstehenden Disziplin der prädiktiven Medizin (Vorhersagemedizin). Ihr Ziel ist es, drohende Risiken für eine bestimmte Erkrankung bei Individuen vorherzusagen und Möglichkeiten zu eröffnen, um die Manifestation dieser Erkrankung zu verhindern oder wenigstens die Auswirkungen durch frühzeitige Behandlung abzumildern. Im Abschnitt 11 folgt ein Resümee unserer Zeitreise von der Genetik zur Epigenetik und Epigenomforschung. Die Fortsetzung unserer Reise in die unbekannte Zukunft folgt, ob wir vorbereitet sind oder nicht. Ein überholter genetischer Denkrahmen behindert die Gestaltung einer verantwortungsbewussten Gesundheitspolitik nicht nur, sondern beschwört die Gefahr einer neuen Eugenik herauf, bei der Menschen aufgrund ihres Genoms diskriminiert werden.

## **2. Entstehung genetisch bedingter Eigenschaften und Erkrankungen: der mendelistische Denkrahmen**

In der Mitte des 19. Jahrhunderts führte der Benediktinermönch Gregor MENDEL (1822–1884) systematische Kreuzungsversuche zwischen Erbsenpflanzen durch. MENDELS Geniestreich lag darin, dass er bei seinen Experimenten einen reduktionistischen, quantitativen Ansatz verfolgte. MENDEL suchte für seine Kreuzungsexperimente systematisch nach Erbsensorten, die phänotypische Merkmale mit zwei klaren Alternativen aufwiesen. Er fand Sorten für sieben derartige Merkmale, darunter grüne oder gelbe Erbsenfarbe, glatte oder runzelige Oberfläche der Erbsen, hoher oder niedriger Wuchs der Pflanzen usw. Die Züchtung einer reinen Sorte mit grünen oder



einer reinen Sorte mit gelben Erbsen ergab ausschließlich Nachkommen mit grünen oder gelben Erbsen. Als Ergebnis seiner Kreuzungsexperimente mit verschiedenen reinen Sorten postulierte MENDEL 1866 das Vorhandensein dominanter und rezessiver Faktoren der Vererbung (Abb. 1).<sup>8</sup> Grün gefärbte Erbsen beispielsweise entstehen immer dann, wenn die Eizelle nach der Befruchtung zwei Erbfaktoren (Gene) für die Farbe grün enthält. Für das Auftreten gelb gefärbter Erbsen genügt dagegen ein Gen für die gelbe Farbe. Dieser Faktor hat eine dominante Wirkung über den rezessiven Faktor für die grüne Farbe. MENDELS Deutung blieb ein zunächst rein abstrakter Erklärungsversuch, denn er wusste noch nichts von den Chromosomen als den Trägern der Vererbungsfaktoren. Grundlegende Erkenntnisse zum Bau und der Funktion von Zellen – dazu gehören die Vermehrung von Zellen im Rahmen des mitotischen Zellzyklus und die Entdeckung der Chromosomen sowie die Entdeckung der Meiose und des Befruchtungsvorgangs – gelangen erst während der letzten Jahrzehnte des 19. Jahrhunderts. MENDEL erlebte seinen Ruhm als Gründervater der Genetik nicht, denn seine Untersuchungen fanden erst am Beginn des 20. Jahrhunderts weltweite Beachtung, als drei Botaniker, Carl Erich CORRENS (1864–1933), Erich TSCHERMAK (1871–1962) und Hugo DE VRIES (1848–1935), MENDELS Resultate bestätigten.<sup>9</sup> Bald darauf formulierten Theodor BOVERI (1862–1915) und Walter S. SUTTON (1877–1916) die Chromosomentheorie der Vererbung.<sup>10</sup> Gene sind in den Chromosomen angeordnet. Chromosomen kommen als Paare vor (homologe Chromosomen). Verschiedene Chromosomenpaare unterscheiden sich in ihrem Gengehalt. Zwei homologe väterliche und mütterliche Chromosomen enthalten die gleichen Gene, wenn auch oft in unterschiedlichen Modifikationen (Allele). Der Begriff Genetik wurde 1905 von William BATESON (1861–1926) geprägt und gab den auf den Mendelschen Versuchen aufbauenden Vererbungswissenschaften ihren Namen. 1909 definierte der dänische Genetiker Wilhelm JOHANNSEN (1857–1927) die Begriffe Genotyp (oder „Anlagetypus“ als Ausdruck für Unterschiede der erblichen Anlagen eines Individuums) und Phänotyp (oder „Erscheinungstypus“ als zusammenfassende Bezeichnung der quantitativ erfassbaren Merkmale dieses Individuums).

Eine Fülle experimenteller Beweise für die Chromosomentheorie der Vererbung entstand seit 1910 im Rahmen von Kreuzungsexperimenten an der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, die von der Gruppe um Thomas Hunt MORGAN (1866–1945) durchgeführt wurden.<sup>11</sup> Diese Gruppe bewies auch die gekoppelte Vererbung von Genen, die auf demselben Chromosom nah benachbart sind, und sie benutzte diese Genkoppelung, um die ersten Genkarten für einzelne *Drosophila*-Chromosomen aufzustellen. MENDEL dagegen hatte noch angenommen, dass die Vererbung verschiedener dominanter oder rezessiver Eigenschaften grundsätzlich unabhängig voneinander erfolgt. Das gilt jedoch nur für Gene, die auf verschiedenen Chromosomen liegen, oder Gene, die weit entfernt auf demselben Chromosom vorkommen und häufig durch Austausche (Rekombinationen) zwischen homologen Chromosomenpaaren während der Keimzellreifung (Miose) getrennt werden. Soweit die Erfolgsgeschichte aus heutiger Perspektive. Aus der damaligen Sicht der Vererbungsforscher war die Chromosomentheorie keineswegs eine rasch akzeptierte Angelegenheit. Der englische Genetiker Cyril D. DARLINGTON (1903–1981) stellte 1960 in einem Rückblick auf diese so erfolgreiche Theorie lapidar fest: „Ihre Aufnahme in England könnte kaum ungünstiger ausgefallen sein. Sieben Männer waren

8 MENDEL 1866.

9 CREMER 1985; dort: Kapitel 2.11: Die Geburt der Genetik. Das Paradigma von Gregor Mendel, S. 191–213.

10 CREMER 1985; dort: Kapitel 2.12: Chromosomentheorie der Vererbung nach 1900: Walter S. Sutton und Theodor Boveri, S. 214–230.

11 [http://en.wikipedia.org/wiki/Thomas\\_Hunt\\_Morgan](http://en.wikipedia.org/wiki/Thomas_Hunt_Morgan).

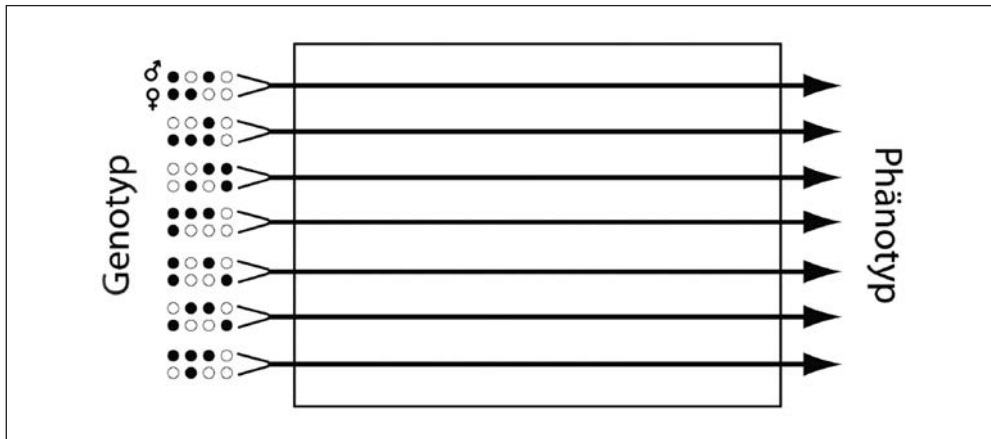


Abb. 1. Der mendelistische Denkrahmen der Vererbung: der Phänotyp als Mosaik der Wirkungen einzelner Gene. Jeder von MENDEL 1865 postulierte Vererbungsfaktor (Gen) liegt im Zellkern in zwei Kopien vor. Eine Kopie wurde vom Vater (♂), die andere von der Mutter (♀) geerbt. Jedes Gen wiederum kann in zwei Zuständen vorkommen: als dominantes (ausgefüllter Kreis) und als rezessives Allel (offener Kreis). Für die Ausprägung des dominanten Merkmals genügt das Vorkommen des dominanten Allels in einer Kopie, während ein rezessives Merkmal phänotypisch meist nur dann klar erkennbar ist, wenn beide Allele rezessiv sind. Für die beiden im diploiden Genom eines Individuums an einem Genlocus vorhandenen Kopien eines Gens gibt es demnach vier Möglichkeiten: 1. Beide Kopien sind dominant (zwei gefüllte Kreise) oder 2. beide sind rezessiv (zwei offene Kreise). Diese beiden Zustände nennt man homozygot. 3. Die vom Vater ererbte Kopie ist rezessiv (offener Kreis) und die von der Mutter ererbte dominant (gefüllter Kreis). 4. Die vom Vater ererbte Kopie ist dominant (gefüllter Kreis), die von der Mutter ererbte ist rezessiv (offener Kreis). Die Zustände 3 und 4 nennt man heterozygot. Aus diesen Grundtatsachen folgen die Mendelschen Gesetze (oder bescheidener die Mendelschen Regeln). Gesunde heterozygote Eltern, die beide eine rezessive Mutation an einem Genlocus eines Autosoms (das sind beim Menschen die Chromosomen 1–22) tragen, haben bei jedem Kind ein 25%iges Risiko, dass dieses Kind diese Mutation von beiden Eltern erbt und erkrankt (autosomal-rezessive Erbkrankheiten). Bei einer Mutation mit einer dominanten Auswirkung beträgt das Risiko für jedes Kind eines oder einer Betroffenen 50%, die gleiche autosomal-dominante Erbkrankheit zu bekommen. Diese Risiken sind statistische Risiken, die anhand vieler betroffener Familien ermittelt werden. Ein individuelles Paar mit einem 25%- oder 50%igen Risiko, das mehrere Kinder bekommt, kann gesunde und kranke oder nur gesunde oder nur kranke Kinder haben. Die Grenzen des hier dargestellten Mendelschen Schemas lernen wir später kennen. Abb. 10 zeigt ein erweitertes Schema, das der Komplexität der Vererbungsvorgänge bei der Ausbildung normaler und pathologischer Merkmale unseres Phänotyps besser gerecht wird. Der hier dargestellte mendelistische Denkrahmen betont die deterministische Vorstellung von Genwirkungen auf den Phänotyp, die typisch für viele Eugeniker während der ersten Jahrzehnte des 20. Jahrhunderts war (siehe Abschnitt 3). Damals führende Vererbungsforscher hatten bereits wesentlich komplexere Vorstellungen und beschäftigten sich intensiv mit dem Einfluss der Umwelt auf den Phänotyp (siehe Abschnitt 4).

vielleicht gewillt, ihren Glauben an die Chromosomentheorie zu versichern und Gründe dafür anzugeben. Aber siebenhundert vertraten eine Meinung gegen diese Ansicht.<sup>12</sup>

Jeder Humangenetiker kennt zahlreiche Beispiele Mendelscher Erbkrankheiten, die belegen, dass die Mutation einer oder beider Kopien eines bestimmten Gens ausschließlich nachteilige Wirkungen haben kann:

12 DARLINGTON 1960: „Its reception in England could scarcely have been more unfavourable. Seven men might have been willing to assert their belief in the chromosome theory and give their reasons for it. But against this view were seven hundred who held a contrary opinion.“

- das zum Tod verurteilte Neugeborene mit Epidermolysis bullosa (autosomal-rezessiv), dessen Oberhaut (Epidermis) mit dem Unterhautgewebe (Dermis) nicht richtig verankert ist und sich ständig in großen Blasen abhebt, auch im Mund und in der Schleimhaut der Speiseröhre; Blasen, die aufbrechen, entzünden sich und bereiten große Schmerzen;
- das geistig völlig gesunde Kind mit Hutchinson-Gilford-Progerie (autosomal-dominant), das mit 12 Jahren wie ein Greis aussieht und bald an einem Herzinfarkt oder einem Schlaganfall sterben wird;
- das Kind, das nach einer zunächst normalen Entwicklung zunehmend dement wird (zahlreiche autosomal-rezessive Stoffwechselstörungen);
- der junge Mann mit Muskeldystrophie Duchenne (X-chromosomal-rezessiv), der mit zwanzig Jahren qualvoll erstickt, weil seine Atemmuskulatur versagt;
- Mütter oder Väter, die wegen einer fortschreitenden Chorea Huntington ihre heranwachsenden Kinder nicht länger versorgen können und selbst zu „Pflegefällen“ werden.

Auf den ersten Blick passen alle oben angeführten Erkrankungsbeispiele in das mendelistische Schema eines eindimensionalen, kausalen Zusammenhangs zwischen der Mutation eines Gens und der Hervorrufung eines bestimmten Phänotyps, das viele Mendelisten während der ersten Jahrzehnte des 20. Jahrhunderts für das fraglos einzig richtige und ausreichende Schema hielten. Ihre genetisch-deterministische Sicht der Vererbung wurde schon vom Ansatz der Mendelschen Untersuchungen vorgegeben. MENDELS systematische Suche nach möglichst leicht erkennbaren, von Umwelteinflüssen unabhängigen und qualitativ eindeutig unterscheidbaren phänotypischen Merkmalspaaren war die Voraussetzung dafür, dass er klare Beziehungen zwischen dominanten und rezessiven Genmodifikationen (Allelen) und phänotypischen Merkmalen finden konnte. In diesem genialen Ansatz sind aber zugleich die Grenzen der mendelistischen Vererbungsregeln enthalten: MENDEL fand die von ihm formulierten Gesetzmäßigkeiten der Vererbung nicht deshalb, weil alle qualitativ unterscheidbaren und quantitativ bestimmbaren phänotypischen Merkmale in deterministischer Weise von den rezessiv oder dominant wirksamen Modifikationen (Allelen) eines bestimmten von den Eltern ererbten Genpaares abhängen, sondern weil er systematisch gerade nach solchen Merkmalen suchte. Bald nach der 1900 erfolgten Bestätigung der Mendelschen Ergebnisse bei Pflanzen fand man eine Mendelsche Vererbung auch bei Tieren und beim Menschen. Viele Mendelisten dieser Zeit betrachteten den Phänotyp als ein Mosaik von Merkmalen: Jeder Mendelsche Vererbungsfaktor (Gen) ist für ein bestimmtes phänotypisches Merkmal verantwortlich. Das war eine damals wissenschaftlich ebenso legitime, wie aus heutiger Sicht unangebrachte und irreführende Vereinfachung der Beziehungen zwischen dem menschlichen Genotyp – der Summe aller Gene eines Menschen – und dem Phänotyp von Individuen. Die Vorstellungen, die von der Gruppe der Genetiker nach der Bestätigung der Mendelschen Befunde entwickelt wurden, haben zu einer gefährlichen Verengung des Denkens über die Vererbung beigetragen. Die Äußerung des Mitentdeckers der DNA-Struktur JAMES WATSON von „guten“, „gesunden“ im Vergleich zu „schlechten“, „kranken“ Genen (siehe Abschnitt 3) perpetuiert noch heute eine Vorstellung, die aus dieser verengten mendelistischen Sicht der Entstehung genetisch bedingter Eigenschaften und Erkrankungen im frühen 20. Jahrhundert stammt. „War Mendel ein Mendelist? Wer sich nur für das Resultat interessiert, zu dem das Wachstum naturwissenschaftlicher Erkenntnis führt, wird diese Frage vielleicht als eine Art intellektueller Haarspalterei empfinden. Wer sich aber dafür interessiert, wie naturwissenschaftliche Erkenntnis wächst, kann diese Frage zum Anlass nehmen, über die Gestaltänderung einer bedeutenden

Theorie im Verlauf einer Zeitspanne von hundert Jahren nachzudenken.“<sup>13</sup> Wir werden in den Abschnitten 6 und 8 erfahren, dass diese Gestaltänderung auch heute noch nicht abgeschlossen ist. Auch heute noch gibt es keine geschlossene Theorie der Vererbung, die alle ihre Facetten erklären würde. Im Gegenteil haben gerade die letzten Jahre zu weiteren bedeutenden Veränderungen geführt (siehe Abschnitt 8).

Das genetische Milieu, man spricht auch vom genetischen Kontext oder genetischen Hintergrund, spielt bei vielen Mendelschen Krankheiten eine viel größere Rolle, als es viele Anhänger des klassischen Mendelismus vermutet hätten. Bei zahlreichen Mendelschen Erbkrankheiten ist schon lange bekannt, dass betroffene Mitglieder innerhalb einer Familie sequenzidentische Genmutationen tragen und dennoch schwere, weniger schwere oder nur geringfügige phänotypisch erkennbare Symptome zeigen können. Fachleute bezeichnen dieses Phänomen als unterschiedliche Expressivität.<sup>14</sup> In manchen Fällen sind die Unterschiede so extrem, dass je nach genetischem Kontext eine identische Genmutation zu völlig unterschiedlichen Krankheitsphänotypen führen kann. Solche Unterschiede können im Rahmen des ursprünglichen Konzepts Mendelscher Erbkrankheiten – eine bestimmte Genmutation führt zu einem bestimmten Krankheitsbild – nicht erklärt werden.

Die Möglichkeiten zur Diagnose Mendelscher Erbkrankheiten auf molekularer Ebene haben in den letzten beiden Jahrzehnten rapide zugenommen. Aber diese Krankheiten betreffen nur ein kleines Segment der Medizin. Die Vorstellung einer Entstehung eines normalen, körperlichen Merkmals oder der Erklärung einer komplexen Krankheit durch die Analyse eines einzelnen Gens erwies sich im Verlauf des 20. Jahrhunderts selbst bei Merkmalen und Krankheiten, die eindeutig nach dem Mendelschen Schema vererbt werden, als eine irreführende Vereinfachung.

### 3. Alte und neue eugenische Utopien

Der Begriff Eugenik wurde von Sir Francis GALTON (1822–1911) eingeführt und beinhaltet die Vorstellung einer „guten“ Vererbung.<sup>15</sup> GALTON war davon überzeugt, dass nicht nur äußerlich erkennbare Merkmale, wie die Körpergröße, sondern auch Unterschiede in psychischen Eigenschaften und Begabungsunterschiede zwischen Menschen erblich sind. Im

---

13 CREMER 1985, S. 213.

14 WOLF 1997.

15 GALTON 1904: „Eugenics is the science which deals with all influences that improve the inborn qualities of a race; also with those that develop them to the utmost advantage. The improvement of the inborn qualities, or stock, of some one human population will alone be discussed here. What is meant by improvement? What by the syllable *eu* in ‚eugenics,‘ whose English equivalent is ‚good‘? There is considerable difference between goodness in the several qualities and in that of the character as a whole. The character depends largely on the *proportion* between qualities, whose balance may be much influenced by education. We must therefore leave morals as far as possible out of the discussion, not entangling ourselves with the almost hopeless difficulties they raise as to whether a character as a whole is good or bad. Moreover, the goodness or badness of character is not absolute, but relative to the current form of civilization. [...] All creatures would agree that it was better to be healthy than sick, vigorous than weak, well-fitted than ill-fitted for their part in life; in short, that it was better to be good rather than bad specimens of their kind, whatever that kind might be. So with men. There are a vast number of conflicting ideals, of alternative characters, of incompatible civilizations; but they are wanted to give fullness and interest to life. Society would be very dull if every man resembled the highly estimable Marcus Aurelius or Adam Bede. The aim of eugenics is to represent each class or sect by its best specimens; that done, to leave them to work out their common civilization in their own way.“

Deutschland des beginnenden 20. Jahrhunderts wurde an Stelle des international üblichen Begriffs Eugenik der Begriff Rassenhygiene geprägt.<sup>16</sup> Dieser Begriff ist untrennbar mit den Gräueln des Nationalsozialismus verknüpft. Die Rassenhygiene und ihre aus heutiger Sicht wissenschaftlich haltlosen Begründungen sind kein Problem von Nazi-Deutschland allein, ihre Wurzeln gründen in der internationalen eugenischen Bewegung. Während des Dritten Reichs wurde an rassenhygienischen Vorstellungen nichts neu erfunden, sondern nur realisiert, was schon früher an radikalen Vorstellungen vorgeschlagen worden war – mit Ausnahme der einen schrecklichsten Konsequenz: Ermordung der in der Sprache der Unmenschlichkeit angeblich „Minderwertigen“.

### 3.1 Eugenik bis zum Ende des Zweiten Weltkriegs

Die Anhänger der bald nach der Entdeckung der Mendelschen „Vererbungsgesetze“ aufblühenden internationalen eugenischen Bewegung hielten Maßnahmen mit dem Ziel einer Verbesserung der genetischen Qualität des Menschen für notwendig und nicht aufschiebbar. Sie wurden dabei von der Überzeugung geleitet, dass die Lebensverhältnisse der Industrienationen, insbesondere die Fortschritte der hygienischen Verhältnisse und der medizinischen Möglichkeiten, die natürliche Selektion bereits weitgehend außer Kraft gesetzt hätten.<sup>17</sup> Ohne einschneidende eugenische Maßnahmen, so dachten die Eugeniker, wäre die rasche Ausbreitung von Anlagen mit ungünstigen Wirkungen in menschlichen Populationen unvermeidlich, und es käme schon innerhalb weniger Generationen zu einem dramatisch voranschreitenden Verfall des Genpools ganzer Völker mit fürchterlichen Folgen. Der Staat war verantwortlich, entsprechende Gegenmaßnahmen im Rahmen von Gesetzen zu organisieren. Zum Teil wurde für die befürchtete genetische „Degeneration“ auch die Forderung der christlichen Religion nach Nächstenliebe verantwortlich gemacht, die ihren Ausdruck in der Unterstützung der Schwachen und Kranken findet. Zwar forderten auch die Eugeniker in der großen Mehrheit den Schutz des Staates für Schwache. Aber das durfte unter gar keinen Umständen dazu führen, dass Menschen mit „kranken“ Genen die Fortpflanzung ermöglicht wurde. Denn für die Eugeniker stand hier das genetische Schicksal der Menschheit auf dem Spiel. Sie verband der Wille – aus ihrer Innensicht würden die Eugeniker betonen: die Einsicht in die zwingende Notwendigkeit –, Menschen mit „schlechten“ oder „kranken“ Erbanlagen von der Fortpflanzung abzuhalten (negative Eugenik) und damit der genetischen Degeneration Einhalt zu gebieten. Gleichzeitig wollten sie eine besonders starke Vermehrung von Menschen mit „guten“ Erbanlagen erreichen (positive Eugenik). Der Wunsch nach positiver Eugenik ging übrigens Hand in Hand mit massiven rassistischen Vorurteilen vieler Eugeniker.

Was ist zu den wissenschaftlichen Grundlagen der Eugenik aus heutiger Sicht zu sagen? Gerade weil DNA-Mutationen planlos und ohne jeden Zusammenhang mit den Bedürfnissen

<sup>16</sup> KEVLES 1985.

<sup>17</sup> Die Form der Vererbung, bei der jede beliebige Neukombination der Allele in der Meiose die gleichen Fortpflanzungschancen hat, bezeichnete August WEISMANN als Panmixie. Unter den Bedingungen der Panmixie kommt es zu einem raschen, genetisch bedingten Verlust körperlicher und geistiger Fähigkeiten, der als Regression bezeichnet wird. Dieser gefährliche Vorgang wird in den Augen der Eugeniker durch Gegenselektion noch verschlimmert: die vielen Menschen mit mäßigen oder eindeutig schlechten Erbanlagen – sie waren nach Auffassung der Eugeniker natürlich vor allem in den unteren Schichten zu finden – vermehren sich viel stärker als die Eliten mit ihren „hochwertigen“ Genen. Siehe z. B. Otmar Freiherr von VERSCHUER 1934. Dort heißt es: „Der Volkskörper wird hauptsächlich von vier Gefahren bedroht: 1. Entartung durch gehemmte Auslese. 2. Entartung durch Gegenauslese. 3. Schädigung des Erbguts. 4. Rassische Überfremdung.“

von Individuen auftreten, und gerade weil die Genome der Individuen aller lebenden Spezies das Ergebnis einer unerhört langen Evolutionsgeschichte mit fortwährender Selektion sind, ist es verständlich, dass nur wenige spontane Veränderungen in der DNA-Schrift der Keimbahn zu verbesserten Überlebenschancen der Nachkommen führen. In dem Moment, in dem die Selektion vollständig aufgehoben würde, sollte es von Generation zu Generation zu einer kumulativen Ansammlung nachteiliger Mutationen in der Keimbahn und schließlich unvermeidlich zum Zusammenbruch („genetic meltdown“) kommen. Die Prognose der Eugeniker im frühen 20. Jahrhundert, es käme ohne massive staatliche Eingriffe in die Fortpflanzung schon in wenigen Generationen zum genetischen Zusammenbruch, erwies sich als grobe Fehleinschätzung. Ursachen dieser Fehleinschätzung waren einerseits übertriebene Befürchtungen eines Nachlassens der Selektion in modernen Zivilisationen, andererseits die Unkenntnis der genetischen Komplexität sowohl menschlicher Individuen als auch menschlicher Populationen. In der mendelistischen Sichtweise waren die Gene jeweils für sich wirk-same Einheiten, und es gab damals noch keine Hinweise zum Ausmaß der in genetischen Netzwerken vorhandenen, funktionellen Redundanz. Der genetische Verfall der Menschheit gehört nicht zu den großen Problemen des 21. Jahrhunderts.

Die Eugeniker betrachteten sich durchweg als Mitglieder einer menschlichen Elite, und sie waren sich oder gaben sich zumindest sehr sicher, was als gut oder schlecht, eugenetisch oder dysgenetisch zu gelten hatte. Diese Arroganz ist erstaunlich angesichts der auch damals schon offenkundigen Grenzen des Wissens über die Vererbungsgrundlagen. Sie ging mit der Überzeugung der Mendelisten Hand in Hand, dass die phänotypischen Merkmale, typischerweise jedes für sich, durch einen einzigen Genlocus determiniert werden. Die Überschätzung der deterministischen Macht „guter“ und „schlechter“ Gene durch die Eugeniker hatte verheerende Folgen. Schon vor der nationalsozialistischen Diktatur wurden von den Verfechtern der internationalen eugenischen Bewegung nicht nur in Deutschland, sondern in zahlreichen anderen Ländern Millionen Menschen als genetisch minderwertig gebrandmarkt.

Obwohl Großbritannien der Ausgangspunkt der eugenischen Bewegung war, wurden dort keine gesetzgeberischen Maßnahmen zur Durchsetzung eugenischer Ziele eingeführt. Dies geschah zuerst in den fortschrittsgläubigen USA.<sup>18</sup> Schon früh im 20. Jahrhundert kam es dort zu gesetzlichen Eheverboten und weiteren Maßnahmen, bis hin zur Zwangssterilisation.<sup>19</sup> Von 1900 bis in die 1970er Jahre wurden zehntausende Amerikaner zwangsweise sterilisiert. Die Schätzungen für Deutschland während der nationalsozialistischen Diktatur belaufen sich auf mehrere hunderttausend Menschen, die Opfer einer Zwangsterilisation wurden, aber auch in anderen europäischen Ländern war die Zwangssterilisation, wenn auch in geringerem Aus-

---

18 In einer 1913 erschienenen Monographie über die Rassenhygiene in den USA (Geza von HOFMANN 1913) wird nach der üblichen Abhandlung der Mendelschen Regeln im Einleitungskapitel „die Verbreitung rassenhygienischer Ideen in den Vereinigten Staaten abgehandelt, die in zahlreichen Staaten bereits Einfluss auf die Gesetzgebung genommen hatten“. Darin ging es nicht nur um Eheverbote bei Menschen mit Alkoholismus, Lungenschwindsucht, Epilepsie, Geisteskrankheiten, Schwachsinn bis zu gewohnheitsmäßigen Verbrechen, sondern im Bedarfsfälle auch um das gesetzlich geregelte „Unfruchtbarmachen der Minderwertigen“. Eine lesenswerte Darstellung der eugenischen Bewegung in den USA hat kürzlich Alexandra A. STERN (2005) vorgelegt. Zehntausende Amerikaner wurden im Zeitraum zwischen 1900 bis in die 1970er Jahre zwangsweise sterilisiert.

19 Auf der Grundlage des Gesetzes zur Verhütung erbkranken Nachwuchses (GzVeN) wurden zwischen 1934 und 1945 schätzungsweise 360 000 Menschen in den Reichsgrenzen von 1937 sterilisiert (1 % der Bevölkerung zwischen 16 und 50 Jahren). Hinzu kommen weitere 40 000 in den ab 1938 annektierten und besetzten Gebieten sowie Tausende, die ohne Anwendung des Gesetzes zwangssterilisiert wurden (WEINGART et al. 1996). Zur heutigen Lage einer Sterilisation bei Einwilligungsunfähigen in Deutschland siehe PILATZ et al. 2008.

maß, ein übliches, gesellschaftlich gebilligtes Verfahren. In den USA führte die Befürchtung einer Überflutung mit „minderwertigem Menschenmaterial“ zu rassistisch motivierten Einwanderungsbeschränkungen. Vor allem durch Einwanderer aus Süd- und Osteuropa sah man das „reine amerikanische Blut vergiftet“.

Deutsche Erbforscher und Rassenhygieniker propagierten bereits während der Zeit der Weimarer Republik, dass wenigstens 10% der deutschen Bevölkerung sich überhaupt nicht fortpflanzen sollten, weil ihr Erbgut „minderwertig“ sei. Im Gesetz zur Verhütung erbkranken Nachwuchses, das gleich zu Beginn der nationalsozialistischen Herrschaft verabschiedet wurde, aber noch während der Weimarer Zeit vorbereitet worden war, heißt es: „§1. (1) Wer erbkrank ist, kann durch chirurgischen Eingriff unfruchtbar gemacht (sterilisiert) werden, wenn nach den Erfahrungen der ärztlichen Wissenschaft mit großer Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist, dass seine Nachkommen an schweren körperlichen oder geistigen Erbschäden leiden werden. (2) Erbkrank im Sinne dieses Gesetzes ist, wer an einer der folgenden Krankheiten leidet: 1. angeborenem Schwachsinn, 2. Schizophrenie, 3. zirkulärem (manisch-depressivem) Irresein, 4. erblicher Fallsucht, 5. erblichem Veitstanz (Huntingtonsche Chorea), 6. erblicher Blindheit, 7. erblicher Taubheit, 8. schwerer erblicher körperlicher Missbildung.“<sup>20</sup> Diese Liste entsprach den damaligen Vorstellungen der internationalen eugenischen Bewegung von Krankheiten, bei denen negative Eugenik für besonders wichtig gehalten wurde. Das Beiwort „erblich“ in diesem Gesetzestext täuscht bereits damals existierende Möglichkeiten vor, erbliche von nicht erblichen Formen bei den genannten Merkmalen klar zu trennen. Das jedoch war ganz und gar nicht der Fall. Bestenfalls konnte man aufgrund einer Familienanamnese eine erbliche Störung vermuten. Bemerkenswerterweise ist die Chorea Huntington in dieser Liste die einzige klar definierte autosomal-dominante Mendelsche Erbkrankheit. Die anderen Erkrankungen bilden keine ätiologische Einheit, sie haben vielfältige Ursachen. Darunter sind auch Beispiele für autosomal-dominante, autosomal-rezessive und X-chromosomal-rezessive Erbgänge. Viel häufiger sind hier jedoch multifaktorielle Krankheitsbilder, bei denen ungünstige Kombinationen von Allelen zahlreicher Gene eine erhöhte Gefährdung (genetische Disposition) für das Auftreten der Erkrankung bewirken. Ob die genetische Disposition tatsächlich zur Erkrankung führt, hängt jedoch typischerweise von den Auswirkungen weiterer ungünstiger Umwelteinflüsse und epigenetischer Faktoren ab (siehe Abschnitt 5 und 8). Auch heute sind die beteiligten genetischen, epigenetischen und umweltbedingten Faktoren bestenfalls in Ansätzen bekannt (Abschnitte 8 und 9). Doch bestehen realistische Chancen, dass diese Wissenslücken in den kommenden Jahrzehnten mehr und mehr aufgefüllt werden können.

Im führenden deutschsprachigen Lehrbuch der menschlichen Erblehre der 1920er und 1930er Jahre, dem Baur-Fischer-Lenz<sup>21</sup>, wurde die Schizophrenie wie andere typisch multifaktorielle Krankheiten als autosomal-rezessive Erbkrankheit betrachtet. Fritz LENZ (1887–1976)<sup>22</sup> schrieb zur Schizophrenie: „Wenn ein Erbleiden wie die Schizophrenie, dem

20 Gesetz zur Verhütung des erbkranken Nachwuchses vom 14. Juli 1933. <http://www.verfassungen.de/de/de33-45/ euthanasie33.htm>.

21 BAUR et al. 1936.

22 Fritz LENZ wurde 1923 auf den ersten Lehrstuhl für Rassenhygiene an der Ludwig-Maximilians-Universität in München berufen. Während der Nazizeit wurde er Direktor der Abteilung Eugenik am Kaiser-Wilhelm-Institut für Anthropologie in Berlin. Nach dem Krieg war er bis zu seiner Emeritierung Professor für Menschliche Erblehre in Göttingen. 1937 war LENZ Mitglied einer Kommission, in der die Zwangssterilisierung der sogenannten „Rheinlandbastarde“ beschlossen wurde. Opfer dieses Beschlusses wurden mehrere hundert Kinder, die aus Beziehungen von rheinländischen Frauen mit Afrikanern der französischen Besatzungstruppen nach dem Ersten Weltkrieg stammten und im Nazijargon als rassistisch minderwertig galten. Quelle: Wikipedia: Rheinlandbastard.

gegen 1 % aller Geborenen verfallen, in höherem Grade polymer wäre“ [d. h. von vielen Genloci abhängig], „so müssten die beteiligten Erbeinheiten geradezu unheimlich häufig sein.“<sup>23</sup> LENZ' Verneinung dieser Möglichkeit erinnert an den messerscharfen Schluss *Palmströms*, „dass nicht sein kann, was nicht sein darf“, in Christian MORGENSTERN'S (1871–1914) Gedicht „Die unmögliche Tatsache“. Es versteht sich von selbst, dass allein das Ernstnehmen dieser Möglichkeit schon damals alle Überlegungen des Erbgesundheitsgesetzes „zur Ausmerzung eines das Volksganze schädigenden Nachwuchses“ durch Zwangssterilisation *ad absurdum* geführt hätte. Im Rahmen der damaligen mendelistischen Sicht der Vererbung lag das Hauptproblem, das den Erfolg einer negativen Eugenik in Frage stellte, darin, die vielen rezessiven Gene aus dem Genpool zu entfernen, die zwar in einer Kopie harmlos sind, aber in zwei Kopien zu einer schweren autosomal-rezessiven Erbkrankheit führen. Die erforderlichen, politischen Eingriffe in die Freiheit individueller menschlicher Entscheidungen und die Zwangsmaßnahmen, um Allelfrequenzen vieler Genloci, die im Rahmen genetischer Dispositionen für multifaktorielle Krankheiten in einer Bevölkerung wichtig sind, mit Programmen einer negativen und positiven Eugenik innerhalb weniger Generationen in einer geplanten Weise zu verändern, sind wahrlich atemberaubend. Die schon damals offensichtlichen Schwierigkeiten eugenischer Programme verhinderten aber nicht die ideologische Radikalisierung, und zwar nicht nur bei Politikern, sondern auch bei den damals die Politiker beratenden Fachleuten.<sup>24</sup> Wie konnte es geschehen, dass viele auf dem Feld der menschlichen Vererbung forschende Wissenschaftler der damaligen Zeit – nicht nur in Deutschland – ihren Wissensstand so maßlos überschätzt und radikale eugenische Lösungen propagiert haben? Würde es sich hier um eine teils tragische Verirrung, teils auch kriminelle Machtanmaßung handeln, die heute nicht mehr vorstellbar ist, könnte man diese Fragen Historikern überlassen – ab damit in die

---

23 BAUR et al. 1936, S. 623.

24 „Erb-Auffrischungszucht beim deutschen Menschen“ benannte der Psychiater und Rassenhygieniker Ernst RÜDIN (1874–1952) in einem Brief an den Herrn Reichsgesundheitsführer vom 23. 10. 1942 als eine Frage, die besonders dringlich erforscht werden müsse, um die Verluste von Tüchtigen im Kriegsheer auszugleichen. Weiter meinte RÜDIN: „Rassenhygienisch von hervorragender Wichtigkeit, weil bedeutsam als Grundlage zu einer humanen und sicheren Gegenwirkung gegen kontraselektorische Vorgänge jeder Art in unserem deutschen Volkskörper wäre die Erforschung der Frage, welche Kinder (Kleinkinder) können, als Kinder schon, klinisch und erbbiologisch (sippenmässig) so einwandfrei als minderwertig eliminationswürdig charakterisiert werden, dass sie mit voller Überzeugung und Beweiskraft den Eltern bzw. gesetzlichen Vertretern sowohl im eigenen Interesse als auch in demjenigen des deutschen Volkes zu Euthanasie empfohlen werden können?“ Zitiert nach Jürgen PFEIFFER 2004, S. 983–985. RÜDIN gehörte zu den international anerkannten, deutschen Vererbungsforschern. Er wolle kein Arzt werden, schrieb der 24-Jährige, „der nur dem Augenblick lebt und am einzelnen Patienten zu reparieren versucht, was eben gerade schon kaputt ist“. Er „fühlte einen tiefen Drang, Unglück und Krankheit an ihrer Wurzel auszurotten“. 1931 wurde er Abteilungsleiter in der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie in München, aus der nach dem Zweiten Weltkrieg das Max-Planck-Institut für Psychiatrie hervorging. RÜDIN war wesentlich an der Ausarbeitung des Gesetzes zur Verhütung erbkranken Nachwuchses vom 14. Juli 1933 beteiligt und veröffentlichte 1934 gemeinsam mit Dr. med. A. GÜTT und Dr. jur. F. RUTTKE, zwei leitenden Beamten im Innenministerium, einen ausführlichen Gesetzeskommentar (GÜTT et al. 1934): „Nicht die wirtschaftlichen Gesichtspunkte stehen im Vordergrund, sondern der entschlossene Wille unserer Regierung, den Volkskörper zu reinigen und die krankhaften Erbanlagen allmählich auszumerzen.“ Die Verfasser zitieren Adolf HITLER, der angeregt durch die wissenschaftliche Literatur zur menschlichen Erblehre und Rassenhygiene bereits in seinem Buch *Mein Kampf* Klartext geredet hatte: „Der Staat muss Sorge tragen, dass nur, wer gesund ist, Kinder zeugen darf. Umgekehrt aber muss es als verwerflich gelten, gesunde Kinder dem Staat vorzuenthalten! Die Forderung, dass defekten Menschen die Zeugung anderer, ebenso defekter Nachkommen unmöglich gemacht wird, ist eine Forderung klarster Vernunft und bedeutet in ihrer planmäßigen Durchführung die humanste Tat der Menschheit. Sie wird Millionen von Unglücklichen unverdiente Leiden ersparen, in der Folge aber zu einer steigenden Gesundheit überhaupt führen.“ (Zitiert nach GÜTT et al. 1934, S. 5.)



Schublade der Geschichtsforschung. Leider ist die Gefahr der kollektiv verstärkten Selbstüberschätzung von *Homo sapiens* eher die Regel als die Ausnahme. Naturwissenschaftler, die Forschungsgemeinschaften mit einem bestimmten Denkraum bilden, sind dagegen ebenso wenig immun wie Geisteswissenschaftler oder Theologen oder Politiker.

### 3.2 Eugenische Zielsetzungen nach dem Zweiten Weltkrieg

Im Folgenden will ich anhand der Äußerungen von vier Nobelpreisträgern, es handelt sich um Linus PAULING, Hermann MULLER, Francis CRICK und James WATSON, beispielhaft zeigen, dass die Vorstellungen von der Notwendigkeit einer negativen und positiven Eugenik in Verbindung mit der mendelistischen Sichtweise der Vererbung auch nach dem Zweiten Weltkrieg durch herausragende Wissenschaftler weiter vertreten und sogar Zwangsmaßnahmen zu ihrer Durchsetzung diskutiert wurden. Ich zitiere diese Äußerungen als zeitgeschichtliche Dokumente aus zwei Gründen. Sie demonstrieren einen Optimismus der Machbarkeit, der Teil des Aufschwungs der Molekularbiologie in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts gewesen ist, und eine Verkenning der immensen Gefahren, die aus dem Versuch einer politischen Verwirklichung eugenischer Utopien mit dem Ziel einer geplanten Veränderung des Genpools unvermeidlich erwachsen.

#### 3.2.1 Linus Carl PAULING

Linus PAULING (1901–1994; 1954 Nobelpreis für Chemie für seine Arbeiten zur Natur der chemischen Bindung; 1963 Friedensnobelpreis für seinen Einsatz gegen Atomwaffentests) veröffentlichte 1949 zusammen mit weiteren Wissenschaftlern in der Wissenschaftszeitschrift *Science* eine bahnbrechende Arbeit.<sup>25</sup> Die Autoren zeigten, dass ein strukturell verändertes Hämoglobin die molekulare Ursache der autosomal-rezessiv vererbten Sichelzellanämie ist. Verantwortlich ist eine als HbS bezeichnete Variante des  $\beta$ -Globin-Gens – das Protein  $\beta$ -Globin ist eine der Komponenten des Hämoglobins. Menschen, die zwei HbS-Gene erben, werden schwer krank und sterben ohne massive Therapie früh. Dagegen haben sogenannte heterozygote Genträger, das sind Menschen, die in ihrem Genom nur ein HbS-Allel tragen, während die andere Genkopie die Information für das normale  $\beta$ -Globin enthält, eine natürliche Resistenz gegen Malaria. Viele der heute in den USA lebenden Nachkommen von Menschen, die als Sklaven aus Malaria-verseuchten Regionen Afrikas auf den amerikanischen Kontinent verschleppt wurden, sind – im Gegensatz zu den Nachfahren europäischer Einwanderer – Träger eines HbS-Allels. Darum ist die Sichelzellanämie in den USA eine Krankheit, die nur bei Amerikanern afrikanischer Abstammung vorkommt. Die Diskussion über diese Krankheit gewinnt deshalb, ob beabsichtigt oder unbeabsichtigt, leicht einen rassistischen Kontext. Wenn man das berücksichtigt, ist man umso mehr erstaunt über Linus PAULINGS gut gemeinten Vorschläge: „Auf der Stirn eines jeden jungen Menschen sollte eine Tätowierung als Symbol angebracht sein, das den Besitz des Sichelzell-Gens oder irgendeines anderen Gens, wie z. B. das Gen für Phenylketonurie, anzeigt, das in einer einzelnen Dosis vorliegt. Würde man das tun, dann würden zwei junge Leute, die dasselbe, schwer defekte Gen in einer einzelnen Dosis tragen, diese Situation auf den ersten Blick erkennen, und sie würden davon abgehalten, sich ineinander zu verlieben. Es ist meine Meinung, dass eine Gesetzgebung auf dieser Linie mit

---

<sup>25</sup> PAULING et al. 1949.

zwingend vorgeschriebenen Untersuchungen auf defekte Gene vor der Heirat und eine Form der halb-öffentlichen Darstellung des Besitzes solcher Gene eingeführt werden sollte.“<sup>26</sup>

### 3.2.2 Hermann Joseph MULLER

1949 hielt Hermann Joseph MULLER (1890–1967; 1946 Nobelpreis für Medizin oder Physiologie für seine Entdeckung der Entstehung von Mutationen durch energiereiche Strahlung) als Präsident der Amerikanischen Gesellschaft für Humangenetik eine Ansprache an die Mitglieder dieser Gesellschaft. Darin betonte er die Gefahr einer genetischen Verschlechterung der Menschheit.<sup>27</sup> Sein Gedankengang lässt sich kurz so zusammenfassen: Mutationen ereignen sich spontan, oder sie werden, beispielsweise durch energiereiche Strahlen, induziert. Die meisten dieser Mutationen sind rezessiv und im homozygoten Zustand schädlich. Viele dieser Mutationen können jedoch partiell dominante Wirkungen entfalten und zu größerer Empfänglichkeit für Krebs, Diabetes, Hochdruck, infektiöse Krankheiten und Geisteskrankheiten führen. Die allmähliche Anhäufung dieser Mutationen bewirkt die genetische Bürde („genetic load“) der Menschheit. In ‚primitiven‘ Gesellschaften war die genetische Bürde in jeder Generation für den Tod von etwa 20% der Individuen aus genetischen Ursachen verantwortlich. Zusätzlich zu den viel zahlreicheren genetischen Defekten, die aus früheren Generationen ererbt wurden, tragen 20% der Bevölkerung einen genetischen Defekt, der erst in der vorangegangenen Generation entstanden ist. Durch diese genetische Bürde wird die evolutionäre Tauglichkeit („fitness“) reduziert. Der Ausfall der Selektion als Folge der modernen Medizin und der verbesserten Lebensbedingungen (Hygiene, Ernährung, Behausung) führt zu einem Anwachsen der genetischen Bürde, d. h. zu einer Verschlechterung des Genpools. Im Abschnitt 7 werden wir sehen, dass MULLERS Vorstellung von der ausschließlich nachteiligen Wirkung der genetischen Bürde einer Population eine heute nicht mehr haltbare, gefährliche Vereinfachung war.

Von Ende 1934 an bis in den Spätsommer 1937 arbeitete MULLER auf Einladung des international hoch angesehenen Genetikers Nikolai Ivanovič VAVILOV (1887–1943) in Moskau als Senior-Genetiker am Institut für Genetik der UdSSR-Akademie der Wissenschaften. Er hatte die Stirn (und Naivität) 1936 einen Brief an den „Comrade Stalin“ zu schreiben, in dem er versuchte, STALIN von den Möglichkeiten der freien Samenwahl zu überzeugen: „Viele Mütter werden stolz sein, wenn sie morgen, befreit von den Fesseln des religiösen Aberglaubens, ihr Keimplasma mit dem von Lenin oder Darwin vereinen, und der Gesellschaft ein Kind beschenken, dass an ihren biologischen Merkmalen teilhat.“<sup>28</sup> MULLER empfahl STALIN sein Verfahren als Antithese zur ‚Rassenreinigung‘ („race purification“) und sogenannten ‚Eugenik‘ der Nazis und ihrer Anhänger („so called ‚Eugenics‘ of the Nazis and their kin“). Mit seinen Vorschlägen brachte sich MULLER in Lebensgefahr, denn damals hatte schon der

---

26 Zitiert nach APPELYARD 1998, S. 75: „I have suggested that there should be tattooed on the forehead of every young person a symbol showing possession of the sickle-cell gene or whatever other similar gene, such as the gene for phenylketonuria, that has been found to possess in a single dose. If this were done, two young people carrying the same seriously defective gene in single dose would recognize this situation at first sight, and would refrain from falling in love with one another. It is my opinion that legislation along this line, compulsory testing for defective genes before marriage, and some form of semipublic display of this possession, should be adopted.“

27 MULLER 1949 (1950).

28 Zitiert nach GLAD 2003: „Many a mother of tomorrow, freed of the fetters of religious superstitions, will be proud to mingle her germ plasm with that of a Lenin or a Darwin, and contribute to society a child partaking of his biological attributes.“

Aufstieg von Trofim LYSSENKO und seiner von STALIN geförderten Neo-Lamarckistischen Theorie begonnen (siehe Abschnitt 4.2). MULLER ging nach Edinburgh und konnte so STALINS Macht entkommen. Sein Freund und Mentor VAVILOV dagegen starb 1943 als Vertreter der „reaktionären Mendel-Morganschen Pseudowissenschaft“ in sibirischer Verbannung. In späteren Auflagen von MULLERS 1935 publiziertem Buch *Out of the Night: A Biologist's View of the Future* wurden die Größen der Sowjetunion als Beispiele für besonders erwünschte Samenspenden nicht mehr genannt. Leonardo DA VINCI (1452–1519), René DESCARTES (1596–1650), Abraham LINCOLN (1809–1865), Louis PASTEUR (1822–1895) und Albert EINSTEIN (1879–1955) waren als Beispiele besser zu vermitteln.<sup>29</sup>

MULLER blieb bis zu seinem Tod ein unentwegter Warner vor den Folgen dieser Verschlechterung des Genpools. Auf dem 1962 abgehaltenen Symposium „Man and his Future“ stellte MULLER sein Gefahrenszenario und seine Lösung des Problems vor. Die Gefahr würde noch dadurch verstärkt, „dass in den Industriegesellschaften eine negative Korrelation zwischen Kinderzahl und dem intellektuellen und ökonomischen Status der Eltern besteht. [...] Je größer die genetische Bürde zukünftiger Generationen wird, desto armseliger und desto weniger erkennbar als menschliche Wesen würden unsere Nachfahren werden. [...] Schließlich wäre jeder ein Invalide mit speziellen Besonderheiten.“<sup>30</sup> Dazu gehören Anstrengungen, um die Reproduktion von genetisch stark belasteten („high-load“) Menschen zu verringern, und ebenso Anstrengungen für eine verstärkte Fortpflanzung von Menschen mit besonders wertvollen Genen („those blessed with especially valuable genes“).

Schon in den 1930er Jahren vertrat MULLER die Vorstellung, Frauen sollten auf strikt freiwilliger Basis Samen von Männern mit überlegenen Anlagen für eine heterologe Insemination wählen. Unter MULLERS Einfluss wurde auch William SHOCKLEY (1910–1989), der 1956 für die Erfindung des Transistors den Nobelpreis für Physik erhielt, ein glühender Verfechter der Etablierung von Samenbanken, die von genetisch besonders erwünschten Spendern angelegt werden sollten.<sup>31</sup> MULLER hoffte besonders auf die genetische Verbesserung von altruistischem Verhalten, das er für noch wichtiger hielt als besonders hohe Intelligenz. Das Ausmaß der genetischen Variabilität in der Bevölkerung und der Umfang nicht-genetischer Einflüsse auf komplexe Eigenschaften wie Altruismus und Intelligenz sind unklar, die zugrundeliegenden Gene waren zu MULLERS Zeiten unbekannt und sind es heute immer noch. Bedenkt man das, dann ist die Naivität, mit der MULLER und seine Gefolgsleute glaubten, man könne den genetischen Wert von Samen für so komplexe Eigenschaften einfach aus dem phänotypischen Kaleidoskop der Samenspenden ableiten, schon sehr erstaunlich. Um Fehlgriffe zu vermeiden – MULLER hatte während eines Aufenthalts in der Sowjetunion in den frühen 1930er Jahren auch Josef STALIN für einen geeigneten Samenspenden gehalten –, sollte der Samen eines jeden Spenders vor dem ersten Gebrauch zwanzig Jahre tief gefroren aufbewahrt werden. MULLER und SHOCKLEY waren vermutlich bis zu ihrem Lebensende von der Richtigkeit ihrer Vorschläge zur Verbesserung der Menschheit mittels Samenbanken überzeugt. Aber sie blieben – zum Glück der Menschheit – ohne öffentliche Breitenwirkung.

---

29 MULLER 1935; Time vom 19. 4. 1971: THE SPIRIT: Who Will Make the Choices of Life and Death? <http://www.time.com/time/magazine/article/0,9171,905036-1,00.html>.

30 MULLER 1963, vgl. MULLER 1966.

31 SHOCKLEY 1966.

### 3.2.3 Francis Harry Compton CRICK

In einem ausführlichen Diskussionsbeitrag auf dem bereits erwähnten Symposium „Man and his Future“ betonte Francis CRICK (1916–2004; 1962 Nobelpreis für Physiologie oder Medizin für die Entdeckung der DNA-Doppelhelix) seine Zustimmung zu MULLERS Ansichten. CRICK befand sich damals auf dem Höhepunkt seiner wissenschaftlichen Laufbahn und wohl auch seiner Selbsteinschätzung. Ihn beeindruckte „der große Mangel an biologischem Wissen beim normalen gebildeten Laien und in gewissem Maße auch bei Wissenschaftlern anderer Fachgebiete“. Er hielt es „zudem für bedauerlich, dass die Kenntnisse von der natürlichen Selektion in der Schule nicht richtig vermittelt werden. [...] Allem, was Muller sagte, stimme ich praktisch zu, mit einigen kleinen Einschränkungen. Wir wollen einmal das Gesamtgebiet der Eugenik nehmen. Das ist vielleicht kein akutes Problem im Vergleich zu anderen, die wir lösen müssen. Trotzdem sollten wir uns alle darin einig sein, dass auf lange Sicht etwas getan werden muss – Muller wüsste über diesen Gegenstand mehr zu sagen als ich –, und da die öffentliche Meinung in Bezug auf dieses Thema so rückständig ist, sollten wir sofort damit beginnen. Ich möchte daher eine Reihe von Fragen mehr ethischer Natur aufwerfen. Ich tue das mit großer Zurückhaltung, weil ich trotz der eindringlichen Argumente von Sir Julian [Anmerkung d. Verf.: gemeint ist der Zoologe und Evolutionsbiologe Julian HUXLEY (1887–1975)] der Ansicht bin, dass wir tatsächlich keine richtige philosophische Grundlage für eine humanistische Ethik besitzen. Trotzdem brauchen wir offenbar irgendeinen Maßstab, auch wenn wir die christliche Ethik oder die anderer Religionen ablehnen. So unbestimmte Ausdrücke wie ‚Erfüllung‘ scheinen noch das beste zu sein, was wir haben, aber ich bin damit nicht sehr glücklich. Ich möchte mich auf eine bestimmte Frage konzentrieren: haben die Menschen überhaupt das Recht, Kinder zu bekommen? Wie wir von Dr. Pincus [Anmerkung des Verf.: gemeint ist der Mitentdecker der chemischen Kontrazeptiva Gregory PINCUS (1903–1967)] hörten, wäre es für die Regierung nicht sehr schwierig, der Nahrung etwas beifügen zu lassen, was den Nachwuchs unterbindet. Außerdem könnte sie – das ist hypothetisch – ein anderes chemisches Mittel bereithalten, das die Wirkung des ersten aufhebt und das nur solche Leute erhalten, deren Fortpflanzung erwünscht ist. Das wäre keineswegs indiskutabel. Gilt allgemein die Ansicht, dass ein Recht auf Kinder besteht? Das wird zwar in der christlichen Ethik als sicher angenommen, aber von der humanistischen Ethik sehe ich nicht ein, wodurch generell ein Recht auf Kinder zu begründen sein soll. Wenn man die Menschen davon überzeugen könnte, dass ihre Kinder keineswegs Privatangelegenheit sind, so wäre das ein gewaltiger Fortschritt. Die zu beantragende Erlaubnis für das erste Kind könnte unter verhältnismäßig einfachen Bedingungen gegeben werden. Sind die Eltern genetisch belastet, so erhalten sie nur für ein Kind die Genehmigung, unter besonderen Umständen vielleicht für zwei. So etwa scheinen mir die Folgerungen aus den neuen Erkenntnissen der Biologie. Aber lassen Sie mich zu praktischen Maßnahmen kommen, weil ich glaube, dass das, was ich beschrieben habe, etwas extrem ist. Lederberg und ich sind unabhängig auf den Gedanken gekommen (ich hoffe, dass er mir gestattet, ihn zu zitieren), dass die vielleicht sozial annehmbarste Lösung einfach darin besteht, die Leute, die für die Gemeinschaft besonders erwünscht sind, durch finanzielle Anreize zu veranlassen, mehr Kinder zu bekommen (das ist nicht die von Muller vertretene Ansicht). Der einfachste Weg dazu liegt in der Besteuerung von Kindern. Für einen guten Liberalen muss das schrecklich klingen, denn es ist das genaue Gegenteil von dem, was er sein Leben lang gelernt hat. Aber zumindest ist es logisch. Es gibt verschiedene Einwände: es wird z. B. Leute geben, die trotz der Besteuerung viele Kinder bekommen, aber die sind wahrscheinlich in der Minderheit. Es ist falsch, Geld als exaktes Maß für soziale Erwünschtheit zu nehmen, aber es besteht wenigstens ein

gewisser Zusammenhang. Muller sagte sehr richtig, dass Maßnahmen dieser Art angesichts der heutigen öffentlichen Meinung und des allgemeinen Mangels an biologischen Kenntnissen natürlich undurchführbar sind. Jetzt komme ich auf Mullers Vorschlag. Wäre sein Schema in der Tat die beste Art, der gesamten Öffentlichkeit die biologischen Kenntnisse zu vermitteln? Wenn einigen Individuen erlaubt würde, den Vater auf die Art zu wählen, die er vorschlug, könnte das vielleicht die Bevölkerung als Ganzes veranlassen, über die soziale Verantwortlichkeit der Elternschaft nachzudenken. Es gibt aber auch noch gesetzliche Probleme. Soll es beispielsweise jedem erlaubt sein, seine Spermatozoen speichern zu lassen, oder sollte dafür eine Zulassung erforderlich sein? Wie viele Nachkommen von einem bestimmten Vater sollen zugelassen werden? Einer muss bestimmt zugelassen werden, denn im öffentlichen Bewusstsein ist das mindestens ebenso wichtig wie der Besitz eines Führerscheines. Wie groß soll aber der Einfluss der Gesellschaft auf die endgültige Wahl des Samenspenders sein? Vernünftig wäre wohl, die beteiligten Individuen bis zu einem gewissen Grade selbst wählen zu lassen. Man müsste auch für die Mütter bezüglich der erlaubten Kinderzahl Zulassungen einführen. Dies sind also die praktischen Fragen, die sich aus diesen beiden Vorschlägen ergeben. In Bezug darauf möchte ich noch auf eine weitere Möglichkeit hinweisen. Nach Einführung dieses Verfahrens stellt vielleicht das eine Land ein ausgedehnteres Programm auf als ein anderes, und nach 20, 25 oder 30 Jahren könnten sich recht erstaunliche Ergebnisse zeigen. Man stelle sich vor, dass plötzlich alle Nobelpreise nach Finnland gehen, weil dort eine intensivere Verbesserung der Bevölkerung eingeführt ist! Wenn das Verfahren Vorteile bietet und eine Gesellschaft oder Nation es mit erkennbarem Erfolg durchführt, so werden andere Nationen das in beschleunigtem Maße auch tun. Die wahre Schwierigkeit liegt natürlich ganz allgemein am Fehlen verbreiteter biologischer Kenntnisse. Angesichts der gewaltigen Entwicklungsgeschwindigkeit der Biologie, die wir in den nächsten 20 bis 30 Jahren erwarten können, ist das ein enormes Hindernis.<sup>32</sup>

### 3.2.4 James Dewey WATSON

In öffentlichen Vorträgen während der späten 1990er Jahre hat James D. WATSON (geb. 1928; 1962 Nobelpreis für Physiologie oder Medizin für die Entdeckung der DNA-Doppelhelix) seine Auffassungen zur Eugenik einer breiten Öffentlichkeit vorgestellt. WATSON war und ist einer der wichtigsten Protagonisten des internationalen Humangenom-Projekts, das in den späten 1980er Jahren mit dem Ziel entstand, die etwa drei Milliarden Basen lange DNA-Basenabfolge eines menschlichen Genoms vollständig zu entziffern, und unerwartet erfolgreich verlief. In einem Vortrag über „Gene und Politik“ erklärte WATSON 1997: „Wegen Hitlers Gebrauch des Begriffs Herrenrasse sollten wir uns nicht genötigt fühlen zu sagen, dass wir die Genetik niemals verwenden wollen, um Menschen fähiger zu machen als sie heute sind.“<sup>33</sup> 1999 veröffentlichte er einen Aufsatz mit dem Titel „Gute Gene, schlechte Gene: worin besteht der richtige Weg, die Tragödie genetischer Krankheiten zu bekämpfen?“<sup>34</sup> Schlechte Gene (Erbanlagen), lesen wir dort, spielen bei fast jeder häufig auftretenden menschlichen Krankheit, wie Diabetes, Krebs und Asthma, eine große Rolle. Es gehe darum, den Wir-

32 CRICK 1963; Diskussionsbeitrag auf dem Symposium „Man and his Future“ (WOLSTENHOLME 1963), zitiert nach der 1966 erschienenen deutschen Übersetzung *Das umstrittene Experiment: der Mensch* (CRICK 1966).

33 Veröffentlicht in WATSON 2000b.

34 Veröffentlicht in WATSON 2000a.

kungen dieser schlechten Gene durch die Einführung guter Gene in Zellen des Patienten und durch maßgeschneiderte Medikamente entgegenzuwirken oder auch die Existenz eines genetisch behinderten Feten zu beenden. Ein solches Verhalten wäre unvergleichlich viel einfühlsamer („incomparably more passionate“), als es zuzulassen, dass ein Kind mit einer tragischen Behinderung („tragically impaired“) auf die Welt kommt. WATSON tritt dafür ein, dass in solchen Situationen die werdende Mutter die Autorität für die Entscheidung zum Schwangerschaftsabbruch erhält. Niemand hat ihr da hineinzureden.

WATSONS Haltung ist der Rassenhygiene des Nationalsozialismus diametral entgegengesetzt. Während die Nationalsozialisten die Bedürfnisse ihres Staats prinzipiell über alle Bedürfnisse und Rechte von Individuen stellten und keinerlei Skrupel beim Versuch kannten, ihre rassenhygienischen Zielsetzungen mit Zwangsmaßnahmen, bis hin zum Mord, durchzusetzen, geht es WATSON um die Freiheit des Individuums gegenüber staatlicher Bevormundung auch bei Entscheidungen, welche Formen einer zukünftigen Eugenik ein Mensch für sich selbst und seine eigenen Nachkommen für akzeptabel oder unakzeptabel hält. WATSON wendet sich entschieden gegen jedes Recht von Regierungen, in diesen Prozess einzugreifen, und damit gegen eine staatlich kontrollierte Eugenik.

Es hilft sachlich nicht weiter, hat manchmal sogar den unangenehmen Beigeschmack von Selbstgerechtigkeit, wenn wir Ansichten von verstorbenen Wissenschaftlern nach heutigem Wissensstand beurteilen. Weitere öffentliche Äußerungen zur Eugenik von PAULING und CRICK sind mir nicht bekannt. Vielleicht haben beide Forscher die Problematik und Gefährlichkeit ihrer Überlegungen bald selbst erkannt. Wäre es also fair, diese Äußerungen höflich zu übergehen, anstatt sie ausführlich zu zitieren? Ich zitiere sie aus einem Grund: Diese Vorschläge zeigen, wie sehr auch die Meinungen wissenschaftlicher Eliten und ihrer Superstars zeitbedingt sind und wie erschreckend naiv sie manchmal sein können – heute genau so wie früher. Bei aller gebotenen Vorsicht im Urteil unterstreichen die beispielhaft aufgeführten Ansichten dieser Nobelpreisträger, die alle epochale Entdeckungen in der Vererbungsforschung gemacht haben, eine Binsenwahrheit: Selbst überragende Kompetenz eines Wissenschaftlers oder einer Gruppe von Wissenschaftlern innerhalb eines eng abgesteckten Wissenschaftsgebiets gewährleistet keine Sicherheit für außergewöhnliche Urteilsfähigkeit jenseits dieser Grenzen. Dem Wissenschaftshistoriker Paul U. UNSCHULD verdanke ich die Unterscheidung zwischen Wahrschein und Wahrheit.<sup>35</sup> Wahrschein in der Wissenschaft spiegelt das manchmal mehr und manchmal weniger vertrauenswürdige faktische Wissen und den theoretischen Konsens einer bestimmten Gruppe von Wissenschaftlern in einer bestimmten historischen Epoche wider. Dass eine bestimmte Theorie aus diesem Blickwinkel wahr scheint, bedeutet nicht, dass sie auch wahr ist. Für einen Wissenschaftler, der sich den kritischen Rationalismus von Karl POPPER (1902–1994) zu eigen macht, ist Irrtum keine entfernte theoretische Möglichkeit. Die Möglichkeit einer quantitativen Beschreibung bestimmter Aspekte der Wirklichkeit führt nicht notwendig sofort oder wenigstens irgendwann zu einer ein für allemal gültigen Gesamtschau der Wirklichkeit. POPPER forderte Wissenschaftler auf, kühne Hypothesen zu entwickeln, die einerseits möglichst viele, zunächst unverständliche Phänomene erklären können, die aber andererseits auch möglichst viele und zwingende Möglichkeiten für eine experimentelle Widerlegung (Falsifizierung) bieten sollen. Mit dieser Haltung werden wir bei großen Theorien eher von Wahrschein als von Wahrheit sprechen. Nicht der aktuelle Wahrschein, sondern die Resistenz einer neuen

---

35 UNSCHULD 2003.

Theorie gegen alle zukünftigen Versuche experimenteller Falsifizierung, gibt dieser Theorie den immer stärkeren, schließlich überwältigenden Anschein, wirklich wahr zu sein. Das Eingeständnis von Irrtumsfähigkeit in den Wissenschaften ist kein Freibrief für Leute, die mit sicherem Auftreten bei vollständiger Ahnungslosigkeit Meinungsführung für sich beanspruchen. Ein negatives Urteil zu solide fundierten wissenschaftlichen Erkenntnissen und Theorien – Beispiele dafür sind die Rolle der DNA als Vererbungsmolekül, die moderne Evolutionstheorie und der Energieerhaltungssatz –, nur weil die Konsequenzen nicht in den eigenen Kram passen, ist Ausweis von Ignoranz, die nicht nur beklagenswert, sondern gefährlich ist. Ideologen verwechseln ständig ihren eigenen Wahrschein und den daraus abgeleiteten Herrschaftsanspruch mit absoluter Wahrheit.

Bevor wir unsere Zeitreise fortsetzen, möchte ich die fundamental andere Zielsetzung heutiger genetischer Beratung deutlich machen, wie sie der Verfasser dieses Essays gelernt und mehrere Jahre lang durchgeführt hat. Hier geht es um individuelle Beratung, nicht um den Anspruch, eine Population vor dem genetischen Verfall zu retten oder gar gezielt zu verbessern. Welches Risiko besteht für das erneute Auftreten einer bestimmten schweren Erkrankung bei Verwandten, meist handelt es sich dabei um Geschwister oder Nachkommen eines oder einer Betroffenen? Manchmal ist das Ergebnis der Beratung, dass das befürchtete Risiko gar nicht existiert. In anderen Fällen kann ein statistisches Wiederholungsrisiko angegeben werden. In wieder anderen Fällen muss der Berater deutlich machen, dass eine verlässliche Risikoangabe nicht möglich ist. Genetische Beratung soll dazu dienen, Risiken zu objektivieren und Ratsuchenden so verständlich zu machen, dass sie auf der Basis dieser Information ihre eigene Entscheidung treffen können. Solche Informationen dürfen nicht von oben herab gegeben werden, mit dem unterschweligen Anspruch zu wissen, was dem Ratsuchenden gut tut. Wie ein Ratsuchender mit einer bestimmten Krankheit, bei der beispielsweise ein objektiv hohes Wiederholungsrisiko für das erneute Auftreten dieser Krankheit bei eigenen Kindern besteht, diese Tatsache bewertet, ist und bleibt ganz selbstverständlich seine eigene Entscheidung. Kein genetischer Berater hat da hineinzureden. Gute Beratung findet auf Augenhöhe statt. Auf Augenhöhe ist auch Empathie und Mitgefühl gefragt. Genetische Beratung hat es – und das darf man weder verschweigen, noch verniedlichen, noch dramatisieren – immer wieder mit Leid und mit Belastungen zu tun, die das Leben der unmittelbar Betroffenen und ihrer Angehörigen in schwerster Weise beeinträchtigen, ja zerstören können. Es gibt genetisch verursachte Krankheiten, von denen ich mir persönlich nicht vorstellen kann, wie ich damit zurechtkommen würde. Aber es ist fundamental falsch, wenn Nichtbetroffene darüber befinden wollen, was zumutbar sei und was nicht. Jedes Urteil eines Nichtbetroffenen über den Lebenswert eines Lebens mit einer bestimmten Behinderung oder Krankheit ist eine gefährliche und von Betroffenen unerbetene Anmaßung. Es ist tief beeindruckend zu erfahren, dass Betroffene und ihre Familien trotz aller Nöte das gemeinsame Durchstehen auch schwierigster Situationen als menschliche Bereicherung erleben. Aber diese Erfahrung lässt sich nicht verallgemeinern. Ob bestimmte Belastungen tragbar sind oder unerträglich, ist eine Angelegenheit der unmittelbar betroffenen Menschen mit ihren individuellen Stärken und Schwächen. Es ist die tägliche Erfahrung von genetischen Beratern, dass die Menschen, die zu ihnen kommen, um die richtige Entscheidung ringen. Es ist Aufgabe eines demokratischen Rechtsstaats, ihre persönliche Entscheidungsfreiheit zu schützen. Die unterschiedlichen Entscheidungen, die aus dieser Entscheidungsfreiheit resultieren, verdienen Respekt und Achtung, auch dann wenn man meint, man hätte sich selbst in der gegebenen Situation anders entschieden. Denn es ist eben nicht die eigene Situation. Es

sind die Betroffenen und ihre Angehörigen, die mit der getroffenen Entscheidung leben und ihre im Augenblick der Entscheidung manchmal schwer zu überschauenden Konsequenzen aushalten müssen.

#### 4. Was bestimmt den Phänotyp?

##### *4.1 Von John Stuart Mill bis Burrhus Frederic Skinner: Die Umwelt allein formt phänotypische Unterschiede*

Eine mächtige Gegenposition zum genetischen Determinismus war die aus der Aufklärung stammende Vorstellung, der Mensch käme als unbeschriebenes Blatt auf die Welt und sei – bei Auswahl geeigneter Umweltbedingungen – zu allem formbar.<sup>36</sup> John Stuart MILL (1806–1873) sah in der „herrschenden Neigung, all die ausgeprägten Unterschiede des menschlichen Charakters als angeboren und im Wesentlichen unabänderlich anzusehen [...] eines der Haupthindernisse für die Behandlung großer, sozialer Fragen.“<sup>37</sup> In den 1920er Jahren begründete der amerikanische Psychologe John Broadus WATSON (1878–1958) den Behaviorismus<sup>38</sup>: „Gebt mir ein Dutzend gesunde, gut gebaute Kinder und meine eigene, spezifizierte Welt, um sie darin großzuziehen, und ich garantiere, dass ich irgendeines aufs Geratewohl herausnehme und es so erziehe, dass es irgendein beliebiger Spezialist wird, zu dem ich es erwählen kann – Arzt, Jurist, Künstler, Kaufmann, ja sogar Bettler und Dieb, ungeachtet seiner Talente, Neigungen, Absichten, Fähigkeiten und Herkunft seiner Vorfahren.“<sup>39</sup>

Der führende Behaviorist nach dem Zweiten Weltkrieg war der Amerikaner Burrhus Frederic SKINNER (1904–1990). Um das Verhalten von Ratten und Tauben präzise zu registrieren und statistisch auszuwerten, entwickelte er die „Skinner-Box“. In diesen Versuchskammern konnte er diese Tiere darauf trainieren, durch Drücken eines Hebels oder Picken auf eine Scheibe, Futter zu erhalten. Nach seiner Auffassung ist „die psychische Entwicklung eines Menschen nicht im Sinne eines naturgegebenen Prozesses zu verstehen, der sich aus dem Individuum entfaltet“.<sup>40</sup> SKINNER akzeptierte nur direkt beobachtbares und messbares Verhalten. Da er über keine Möglichkeiten verfügte, um innere Zustände von Ratten, Tauben (und auch Menschen) zu messen, wollte er das Verhalten ausschließlich mit Ausdrücken beschreiben, die nichts über solche inneren Zustände eines Lebewesens aussagen. Natürlich war auch Psychologen, die von der prägenden Kraft der Umwelt auf den Verhaltensphänotyp eines jeden Menschen überzeugt waren, klar, dass die Entwicklung jedes Menschen von der prägenden Kraft des menschlichen Genoms abhängt. Wer – um einen Albert EINSTEIN zugeschriebenen Ausspruch abzuwandeln – aus einer Schafszygote entsteht, kann bestenfalls ein tadelloses Mitglied einer Schafherde werden. Selbstverständlich ging es auch den Behavioristen nicht darum, den Einfluss von Genen auf die Entstehung von Merkmalen wie Intelligenz und Sozialverhalten schlichtweg abzuleugnen, sondern um die Annahme, dass die genetisch bedingte Varianz für diese Merkmale in menschlichen Populationen vernachlässigbar klein ist (siehe Abschnitt 5).

36 PINKER 2003.

37 Zitiert nach PINKER 2003, S. 37.

38 WATSON 1925.

39 PINKER 2003, S. 38.

40 ZIMBARDO 1983, S. 39; <http://de.wikipedia.org/wiki/Skinner-Box>.



#### 4.2 Trofim Denisovič Lyssenko: Umwelt formt den Phänotyp als Dogma des Stalinismus

Die politisch folgenreichste Gegenbewegung gegen den Mendelismus entfachte während der 1930er Jahre der Pflanzenzüchter und wissenschaftliche Scharlatan Trofim Denisovič LYSENKO (1898–1976) in der Sowjetunion.<sup>41</sup> LYSENKOS Kampagne wurde durch den Diktator Josef STALIN gestützt und erreichte nach dem Zweiten Weltkrieg ihren Höhepunkt. „Die Mendelisten-Morganisten, die Weismann folgen“, so stellte LYSENKO in seiner berüchtigten Rede 1948 vor der Lenin-Akademie für agrikulturelle Wissenschaften der Sowjetunion fest, „behaupten, dass Chromosomen irgendeine ‚Erbsubstanz‘ in sich tragen, die im Körper des Organismus wie in einer Hülle eingeschlossen bleibt und den weiteren Generationen übertragen wird. Unabhängig von der qualitativen Spezifik des Körpers und seinen Lebensbedingungen [...] Nach dieser Theorie können die von Pflanzen und Tieren erworbenen Eigenschaften den weiteren Generationen nicht übertragen, also nicht vererbt werden.“ Wie LYSENKO richtig erkannte, können „die Vertreter der Mendelistisch-Morganistischen Genetik keine gelenkte Veränderung der Erbllichkeit erzielen“. Damit war die „Nutzlosigkeit des Morganismus-Mendelismus“ in der Wissenschaft und Praxis der Sowjetunion für LYSENKO und seinen Förderer STALIN evident. Diese nutzlose Theorie wollte LYSENKO durch die Theorie des schöpferischen, sowjetischen Darwinismus ablösen. Danach „sind die Lamarck’schen Ansichten, die [...] die Vererbung erworbener Eigenschaften anerkennen, vollkommen richtig und wissenschaftlich“. Mit Hilfe dieses schöpferischen Darwinismus kann man, „jede Art von Tieren und Pflanzen zwingen, sich in der vom Menschen gewünschten Richtung schneller zu verändern“.<sup>42</sup>

Bis zum Ende der stalinistischen Epoche bedeutete das Festhalten an Mendelschen Gesetzen und der Chromosomentheorie der Vererbung in der Sowjetunion nicht nur das Ende der wissenschaftlichen Karriere, sondern solches Festhalten war lebensgefährlich, denn man wurde dadurch zum Feind der Partei. Das zeigt sich am Inhalt und Tonfall der Reden und Schriften von LYSENKO und seinen Anhängern. „Genossen“, sagte LYSENKO 1948 am Ende seiner oben zitierten Rede, „bevor ich zum Schlusswort komme, betrachte ich es als meine Pflicht, folgende Erklärung abzugeben: Auf einem der eingereichten Fragezettel wird die Frage gestellt, wie sich das Zentralkomitee zu meinem Vortrag verhält. Ich antworte darauf: Das Zentralkomitee der Partei prüfte meinen Vortrag und hat ihn gebilligt.“ Das Sitzungsprotokoll vermerkt dazu stürmischen Applaus, der in eine Ovation übergeht, alle Anwesenden stehen auf. In einer Veröffentlichung aus dem Jahr 1953 über „Die mendelistisch-morganistische Genetik im Dienste des amerikanischen Rassismus“ lesen wir: „Die Zerschmetterung der Mendel-Morganschen Genetik auf dem historischen Kongress der Leninkademie für Agrarwissenschaften der UdSSR fand eine gewaltige internationale Resonanz. Die Mendel-Morgansche Pseudowissenschaft als Ausdruck der Altersschwäche und Degradierung der bürgerlichen Kultur hat ihren vollständigen Bankrott gezeigt. In Wahrheit war es nur eine Lüge, mit der sie ihre reaktionäre Propaganda über die Unveränderlichkeit der Vererbung

41 CREMER 1985, dort: Kapitel 2.13. Cytogenetik in der Lyssenko-Ära: Ein illegitimer Paradigmawechsel, S. 231–238.

42 LYSENKO 1948 (1949). LYSENKO verweist auf den russischen Pflanzenzüchter Iwan W. MITSCHURIN (1885–1935) (MITSCHURIN 1948). MITSCHURINS Ziel war die Züchtung von frostresistenten Obstsorten. Er war von der Vererbung erworbener Eigenschaften überzeugt und hielt die „Erziehung“ von Obstbaumsämlingen durch geeignete Pfropfpartner als „Mentoren“ für möglich. Erst nach seinem Tod wurde er von LYSENKO zum geistigen Vater des „schöpferischen sowjetischen Darwinismus“ ernannt. ([http://de.wikipedia.org/wiki/Iwan\\_Wladimirowitsch\\_Mitschurin](http://de.wikipedia.org/wiki/Iwan_Wladimirowitsch_Mitschurin)).

untermauerte. Im Licht der gewaltigen praktischen und theoretischen Errungenschaften der fortschrittlichen Mitschurinschen Wissenschaft wurde es vollkommen klar, dass die Mendel-Morgansche Genetik kein Recht hat, sich Wissenschaft zu nennen. Es wurde offenkundig, dass ihre Entwicklung das Ergebnis des gewaltigen Interesses war, das die Kräfte der internationalen Reaktion an ihr hatten. Die als Verteidiger der reaktionären Richtung in der Wissenschaft und als Feinde von Fortschritt und Demokratie entlarvten angloamerikanischen Morganisten [...] (dienen) offen der Reaktion, welche die verrottete Ideologie des Imperialismus unterstützt.“<sup>43</sup> Dieser Versuch, ideologische Wunschvorstellungen an die Stelle eines naturwissenschaftlichen Erkenntnisprozesses zu setzen, ist gescheitert. Dennoch sollte die Lyssenko-Ära in unserer Erinnerung bleiben als ein geschichtliches Beispiel für den Zielkonflikt zwischen dem Wahrheitsanspruch von Weltanschauungen und der Unabhängigkeit naturwissenschaftlicher Erkenntnismethoden. Dieser Konflikt schwelt auch heute noch und wird überall dort akut, wo der freie Diskurs durch Macht und Bedrohung von Menschen mit gegenteiligen Auffassungen beendet wird.

#### 4.3 Wilhelm Johannsen: Gene und Umwelt formen den Phänotyp

Wilhelm JOHANNSENS 1909 veröffentlichte Vorlesungen *Elemente der exakten Erblchkeitslehre* sind ein herausragendes Beispiel für frühe, komplexe Überlegungen zum Einfluss von Genen und Umwelt auf den Phänotyp. Dazu einige Zitate: „In Bezug auf das Verhalten der äußeren Faktoren, der ganzen ‚Lebenslage‘, zu dem Hervortreten bestimmter Eigenschaften der Organismen, in Bezug also auf die Einwirkung der umgebenden Faktoren auf die vererbten ‚Anlagen‘, sind wir eigentlich nur am Anfang der Studien.“<sup>44</sup> „Aussaat derselben Saatware gibt z. B. recht verschieden beschaffene Pflanzen, je nachdem die äußeren Faktoren, wie etwa der Boden, das Klima, die Dichte der Aussaat usw. die Entwicklung des einzelnen Individuums begünstigt oder ihr gerade nachteilig ist. Ähnliches gilt für die Tiere.“<sup>45</sup>

„Die ganz nahe liegende, anscheinend einfachste Frage der Erblchkeitsforschung ist in solchen Fällen diese: Kann man aus dem Charakter eines Individuums in Bezug auf eine gegebene Eigenschaft, z. B. Größe, Gewicht, Organanzahl, Farbenintensität usw., einen Schluss ziehen betreffend diejenige Beschaffenheit, welche die Nachkommenschaft des Individuums erhalten wird? Diese Frage ist aber in der Wirklichkeit eine sehr komplizierte. Denn ein gegebenes Individuum, d. h. dessen ganze Beschaffenheit, würde ja im Laufe der Ontogenese durch eine lange Reihe von größtenteils unbekanntem Faktoren bestimmt oder beeinflusst. Das Individuum erhält sein Gepräge teils durch die Summe und das Zusammenspiel der ‚Anlagen‘, welche die das Individuum grundlegenden Gameten (Ei- und Samenzelle) mitbrachten, und teils durch die Nuancierungen der äußeren Verhältnisse, unter welchen das Individuum sich von der Grundlegung an entwickelt hat. Deshalb ist es in sehr vielen Fällen unmöglich, bei reiner Inspektion eines Individuums anzugeben, ob das individuelle Gepräge wesentlich durch die in den Gameten gegebenen ‚Anlagen‘ oder durch die äußeren Verhältnisse bedingt ist. Nimmt man z. B. eine große Bohne und eine kleine Bohne derselben Kultur irgend einer Aussaat, so wird man im voraus gar nicht wissen können, ob die Bohne groß bzw. klein ist, weil die betreffenden Pflanzen ‚Anlage‘ zur Produktion großer bzw. kleiner Samen hatten;

43 STUDITZKI 1953, S. 427.

44 JOHANNSEN 1909, S. 3.

45 JOHANNSEN 1909, S. 9.

oder ob es lokal verschiedene äußere Verhältnisse sind, welche die eine Bohne größer als die andere machten, während die ‚Anlagen‘ vielleicht identisch wären. Ja nichts steht der Möglichkeit im Wege, dass die größere Bohne einer Pflanze entstammt, welche ‚Anlage‘ zur Produktion kleiner Bohnen hatte, während die kleine Bohne von einer Pflanze stammt, welche an und für sich ‚Anlage‘ zur Großsamigkeit hat. Die äußeren Verhältnisse hätten hier die Veranlagung ganz überwältigt. Schon diese kleine Überlegung zeigt uns, dass wir nicht ohne weiteres erwarten können, den Individuen anzusehen, wie ihre ‚Veranlagung‘ ist. Was wir unter ‚Anlagen‘ verstehen sollen, können wir hier noch nicht näher definieren, wir haben zuerst mehrere Erfahrungen kennen zu lernen, welche die Sache klarer stellen werden. Beim Studium der Erbllichkeit sowie der Variabilität begegnet uns demnach gleich die Frage: Wie beeinflussen die äußeren Verhältnisse den Charakter des Individuums? Selbst wenn wir danach streben, das Milieu – mit diesem Worte werden wir häufig den Inbegriff äußerer Verhältnisse bezeichnen – ganz gleich für die in unseren Versuchen sich entwickelnden Individuen zu machen, so können wir solches nie erreichen. Das ist eine der wichtigsten Ursachen der Unsicherheit in den Einzelheiten, welche so vielem, was Erbllichkeitsfragen betrifft, anhaftet.“<sup>46</sup>

„Wir werden ferner aber vielfach finden, dass phänotypische und genotypische Unterschiede sich durchaus nicht zu decken brauchen. In jedem einzelnen Fall muss die nähere Untersuchung zeigen, ob genotypische Unterschiede vorhanden sind oder nicht; eine Inspektion allein kann hier nichts entscheiden.“<sup>47</sup>

„Es ist leicht einzusehen, daß, selbst wenn man die äußeren Faktoren so gleichmäßig wie möglich macht, der Entwicklungsgang – vom Momente der Befruchtung bis zum Abschluß der Gestaltungsvorgänge – mannigfachen größeren oder kleineren Beeinflussungen ‚zufälliger‘ Natur ausgesetzt sein wird. Und sie werden bald eine fördernde, bald eine hemmende oder störende Wirkung auf die Seiten des Entwicklungsvorgangs haben, welche die verschiedenen Gene betreffen. Daraus folgt aber, daß Individuen mit identischen Genen ungleich werden können.“<sup>48</sup>

„Und ganz allgemein bekannt ist ja die Tatsache, dass nicht jeder genotypische Unterschied unter allen äußeren Verhältnissen sich zeigen muss. Gerade darum können ganz identische Phänotypen sehr verschiedene genotypische Grundlagen haben, und umgekehrt, sehr verschiedene Phänotypen können identischen Genotypen angehören.“<sup>49</sup>

## **5. Der Heritabilitätskoeffizient: ein oft missverstandenes Maß zur Schätzung der relativen Einflüsse von Genen und Umwelt**

### *5.1 Die Ermittlung des Heritabilitätskoeffizienten*

Bei einem dominanten oder rezessiven Mendelschen Erbgang spielt ein einzelnes Gen oder ein Paar homologer Gene, die am gleichen Ort eines homologen Chromosomenpaares liegen, eine herausragende Rolle für das Auftreten des Merkmals. Schon in der Hochphase des Mendelis-

---

46 JOHANNSEN 1909, S. 100–101.

47 JOHANNSEN 1909, S. 127.

48 JOHANNSEN 1909, S. 131.

49 JOHANNSEN 1909, S. 413.

mus während der ersten Jahrzehnte des 20. Jahrhunderts wurde jedoch deutlich, dass sich der Erbgang vieler normaler und pathologischer Merkmale nicht in ein Mendelsches Vererbungsschema einordnen lässt. Bei multifaktoriell bedingten Eigenschaften und Erkrankungen wirken viele Gene und Umweltfaktoren zusammen. Dazu gehören die volkswirtschaftlich bedeutendsten Erkrankungen, wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Bluthochdruck, Schlaganfall, Krebs, Diabetes mellitus, Schizophrenien, Depressionen, Epilepsien, aber auch Infektionskrankheiten. Bei Menschen, die ein erhöhtes genetisches Risiko für eine dieser Erkrankungen haben, sprechen Humangenetiker von einer individuellen, genetischen Disposition. Sie haben von ihren Eltern auf unterschiedlichen Chromosomen verteilte DNA-Abschnitte (Allele) ererbt, deren individuelle Kombination ein erhöhtes Risiko für eine bestimmte multifaktorielle Krankheit bedingt. Auch heute noch fehlt es an verlässlichem Wissen, welche DNA-Abschnitte für die genetische Disposition zu einer bestimmten multifaktoriellen Krankheit wesentlich sind, wo sie im Genom liegen und wie sich ihre Basensequenz von der Sequenz anderer Menschen unterscheidet, die kein oder zumindest kein erhöhtes genetisch bedingtes Risiko für die betrachtete Krankheit haben. Mit den inzwischen zur Verfügung stehenden molekulargenetischen Methoden ist es möglich geworden, solche DNA-Abschnitte zu identifizieren. Der Ausdruck DNA-Abschnitte anstelle von Genen wurde mit Absicht gewählt, einfach deshalb, weil wir immer deutlicher erfahren, dass viele DNA-Abschnitte für eine genetische Disposition bedeutsam sind, obwohl sie nichts mit der klassischen Vorstellung von Genen, in deren DNA-Sequenz die Information für die Aminosäuresequenz eines bestimmten Proteins kodiert ist, zu tun haben. Wir werden uns im Abschnitt 6 mit den Veränderungen des Genbegriffs ausführlich beschäftigen. An dieser Stelle kommt es mir nur darauf an, einen Gesichtspunkt zu betonen, der in Abschnitt 8 weiter vertieft wird: Die Vorstellung, das Entstehen multifaktorieller Krankheiten sei durch „abnormale“ Gene, die ein Mensch unglücklicherweise ererbt hat, von Anfang an und unausweichlich determiniert, ist ebenso naiv wie die Vorstellung, der Verlauf einer Infektionskrankheit, etwa der Tuberkulose, würde allein durch die bei dieser Krankheit unverzichtbaren Tuberkelbakterien determiniert. Erst bestimmte Umwelteinflüsse, die wir zumeist ebenso wenig zuverlässig kennen wie die zur genetischen Disposition beitragenden DNA-Abschnitte, führen in einem komplexen Wechselspiel zur Ausprägung der Krankheit. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Mendelschen Erbkrankheiten und den multifaktoriellen Krankheiten liegt darin, dass hier kein „einfacher“ dominanter oder rezessiver Erbgang vorliegt, sondern nur empirisch bestimmte Wiederholungsrisiken für Kinder und andere Verwandte eines Erkrankten angegeben werden können.

Die Erkenntnis, dass auch die Umwelt das Spektrum phänotypischer Unterschiede zwischen Menschen beeinflusst, führte zu der Frage: Zu welchen prozentualen Anteilen werden Unterschiede in bestimmten menschlichen Eigenschaften durch den Genotyp und durch die Umwelt, in der dieser Mensch lebt, bestimmt? Sie gehörte zu den bestimmenden Fragen der Humangenetik im Verlauf des 20. Jahrhunderts. In einem 2001 auf der Jahresversammlung der deutschen Bischöfe gehaltenen Grundsatzreferat zu den gegenwärtigen bioethischen Problemen zitierte Kardinal Karl LEHMANN einen bekannten deutschen Genforscher mit folgender Aussage: „Jeder Mensch ist unterschiedlich und er wird es bleiben. Das genetische Material ist ja nur bedingt dafür verantwortlich, was später die Persönlichkeit ausmacht: Grob geschätzt sind vielleicht 50 Prozent eines Menschen von seinen Genen beeinflusst, 25 Prozent können etwa von seiner Umwelt und 25 Prozent durch sein eigenes Zutun bestimmt sein.“<sup>50</sup>

---

50 LEHMANN 2006, S. 376. Als Quelle des Zitats wird ein Interview angegeben, das die Zeitschrift *Weltbild* zum Thema „Klonen darf man das?“ im März 2001 mit Detlev GANTEN geführt hat.

Ist jeder einzelne Mensch nach dieser Schätzung also zu 75 % eine Marionette genetischer und umweltbedingter Einflüsse? Ist die Hoffnung auf eine auch naturwissenschaftlich haltbare Dimension menschlicher Entscheidungsfreiheit auf ominöse 25 % des eigenen Zutuns beschränkt? Wäre es angesichts solchen aktuellen Wahrscheins der Wissenschaft für einen Menschen tröstlich, wenn spätere Untersuchungen zu dem Ergebnis kämen, der für eigenes Zutun reservierte Prozentsatz wäre doch noch deutlich höher anzusetzen? LEHMANN fügt hinzu: „Es wäre fatal, wenn gerade heute gegenüber einem deterministischen Menschenbild die soziale Verantwortung und die emotionale Einbindung, die Freiheit und Verantwortung des Menschen für seine Lebensführung nicht genügend beachtet würden.“<sup>51</sup>

Auf welchen wissenschaftlichen Daten beruhen die Aussagen zum prozentualen Anteil von Genen und Umwelt an der Entfaltung menschlicher Eigenschaften? Sind sie stichhaltig? Machen sie Sinn? Es ist für die öffentliche Debatte des Gen-Umwelt-Problems wichtig, eine Antwort genau zu begründen.

Im 20. Jahrhundert wurden statistische Verfahren entwickelt, um den Beitrag der genetischen Variabilität ( $V_{GEN}$ ) und der umweltbedingten Variabilität ( $V_U$ ) in einer Population auf die Ausprägung bestimmter normaler und pathologischer phänotypischer Merkmale in dieser Population zu bestimmen. Dazu werden Varianzanalysen durchgeführt. Die für diese Analyse ausgewählten Faktoren sollten eine erkennbare – oder wenigstens als Arbeitshypothese vermutete – Bedeutung für das jeweils untersuchte phänotypische Merkmal haben, und Unterschiede sollten zuverlässig quantitativ messbar sein. Mit statistischen Verfahren wird dann die Korrelation der für die Untersuchung gewählten Faktoren mit dem untersuchten phänotypischen Merkmal bestimmt.

Das Resultat einer solchen Varianzanalyse für eine untersuchte Population wird durch den Heritabilitätskoeffizienten ( $H$ ) ausgedrückt (Formel [1]).

$$H = \frac{V_{GEN}}{V_{GESAMT}} \quad [1]$$

$$V_{GESAMT} = V_{GEN} + V_U + V_E + V_M + V_S \quad [2]$$

$V_{GESAMT}$ : Summe der Varianzen aller an der quantitativen Ausprägung des untersuchten phänotypischen Merkmals in der untersuchten Population beteiligten Faktoren;  $V_{GEN}$ : durch genetische Einflüsse in der untersuchten Population bedingte Varianz des phänotypischen Merkmals;  $V_U$ : durch systematische Umwelteinflüsse auf die Population bedingte Varianz;  $V_E$ : durch epigenetische Einflüsse (siehe unten) auf die Population bedingte Varianz;  $V_M$ : durch Messfehler bedingte Varianz;  $V_S$ : durch zufallsbedingte (stochastische) Einflüsse auf die Population bedingte Varianz.

Es ist wichtig zu verstehen, dass  $H$  keine absolute Zahl ist, sondern ein Quotient. Der Wert eines Quotienten kann sich bekanntlich ändern, wenn sich allein der Zähler oder allein der Nenner oder beide verändern. Im Zähler steht die genetisch bedingte Varianz ( $V_{GEN}$ ) des in der untersuchten Population untersuchten phänotypischen Merkmals, im Nenner die Gesamtvarianz ( $V_{GESAMT}$ ) für dieses Merkmal.  $V_{GESAMT}$  erhält man durch Addition der Varianzen aller in der untersuchten Population gegebenen, variablen Einflüsse auf das untersuchte, phänotypische Merkmal. Meist wird bei der Diskussion der Gesamtvarianz nur die Summe der genetisch bedingten und der von der Umwelt bedingten Varianz berücksichtigt (Formel [3]).

---

<sup>51</sup> LEHMANN 2006, S. 376.

$$V_{\text{GESAMT}} = V_{\text{GEN}} + V_U \quad [3]$$

Diese vereinfachte Darstellung ist jedoch problematisch und manchmal irreführend. Messfehler bereiten jedem anständigen Wissenschaftler schlaflose Nächte, denn sie können das gesamte Ergebnis von vornherein so verfälschen, dass es wertlos wird. Die Einsicht in die methodischen Grenzen von Messungen und die Abschätzung von Messfehlern ( $V_M$ ) gehörten zu den wichtigsten Anforderungen, die an jeden experimentell arbeitenden Wissenschaftler zu stellen sind. Neben Messfehlern kann auch die zufallsbedingte Varianz ( $V_S$ ) die Verteilung der Messwerte für ein phänotypisches Merkmal entscheidend beeinflussen. Selbst bei der Entwicklung genetisch identischer Menschen kommt es beispielsweise zu zufallsbedingten Schwankungen in der Synthese und dem Abbau von Proteinen, die für bestimmte Entwicklungsvorgänge entscheidend sind. Erst seit wenigen Jahren wissen wir, dass epigenetische Mechanismen (siehe Abschnitt 8) zu einer wesentlich unterschiedlichen Entwicklung des Phänotyps selbst bei eineiigen, also genetisch praktisch identischen, Zwillingen führen können. Die durch epigenetische Varianz ( $V_E$ ) bedingten Unterschiede wurden in allen im 20. Jahrhundert durchgeführten Studien nicht beachtet. Sie dürfen nicht länger vernachlässigt werden.

Abbildung 2 stellt die Beziehungen zwischen dem Heritabilitätskoeffizienten und den Einflüssen von Genen und Umwelt auf ein normales oder pathologisches phänotypisches Merkmal graphisch dar. Schauen wir uns die beiden Extremfälle des Heritabilitätskoeffizienten am Beispiel eines Pflanzenzüchters an. Der Züchter will wissen, ob ein Züchtungsprogramm mit einer Maissorte Erfolg versprechend ist, um einen höheren Ertrag auf gleicher Anbaufläche zu erzielen. Ein Heritabilitätskoeffizient von 0 bedeutet, dass die beobachtete Variabilität eines bestimmten phänotypischen Merkmals, z. B. Anzahl und Größe der Körner in den Maiskolben, ausschließlich auf nicht-genetische Einflüsse zurückzuführen ist.  $H = 0$  bedeutet, dass der Beitrag der genetischen Varianz zu vernachlässigen ist, aber nicht (!), dass Gene zur Ausprägung des beobachteten Merkmals nicht erforderlich wären. Wenn z. B. ein Bauer genetisch vollkommen identische Maispflänzchen auf seinem Feld anpflanzt ( $V_{\text{GEN}} = 0$ ), kann die Größe der Maiskolben natürlich schwanken, wenn die Wachstumsbedingungen (Sonneneinstrahlung, Wasser, Bodenverhältnisse) an verschiedenen Stellen des Feldes verschieden sind. Dass die Pflanzen jedoch überhaupt wachsen und Maiskolben bilden, verdanken sie der Wirkung des Genoms, das das entsprechende Entwicklungsprogramm steuert. Der Versuch, die ertragreichsten Pflanzen für die Weiterzucht zu verwenden, in der Hoffnung, höhere Erträge zu erzielen, wäre aber vergeblich. Bei  $H = 0$  verschwendet der Züchter bei diesem Versuch nur Zeit und Geld.

Ein Heritabilitätskoeffizient von 1 bedeutet, dass die Variabilität eines Merkmals in der untersuchten Population vermutlich ausschließlich (also zu 100 %) auf den Einfluss einer genetischen Variabilität zurückzuführen ist, während hier variable Umwelteinflüsse zu vernachlässigen sind. Die Umweltbedingungen sind für alle Pflanzen identisch. In unserem Beispiel kann die unterschiedliche Größe der Maiskolben auf genetische Variabilität der Maispflanzen zurückgeführt werden. Hier macht es Sinn, wenn der Züchter die ertragreichsten Pflanzen für die Weiterzucht verwendet. Aus  $H = 1$  darf aber selbstverständlich nicht gefolgert werden, dass die Umwelt für das Wachstum gleichgültig ist. Dieser Fehlschluss würde einen Züchter bald in den Ruin treiben. Denn der Züchter weiß *a priori* nicht, ob die für alle seine Pflanzen oder Tiere gleichen Umweltbedingungen im Hinblick auf sein Ertragsziel bereits optimal sind. Änderungen der Umweltbedingungen (z. B. der Einsatz von zusätzlichen Düngemitteln

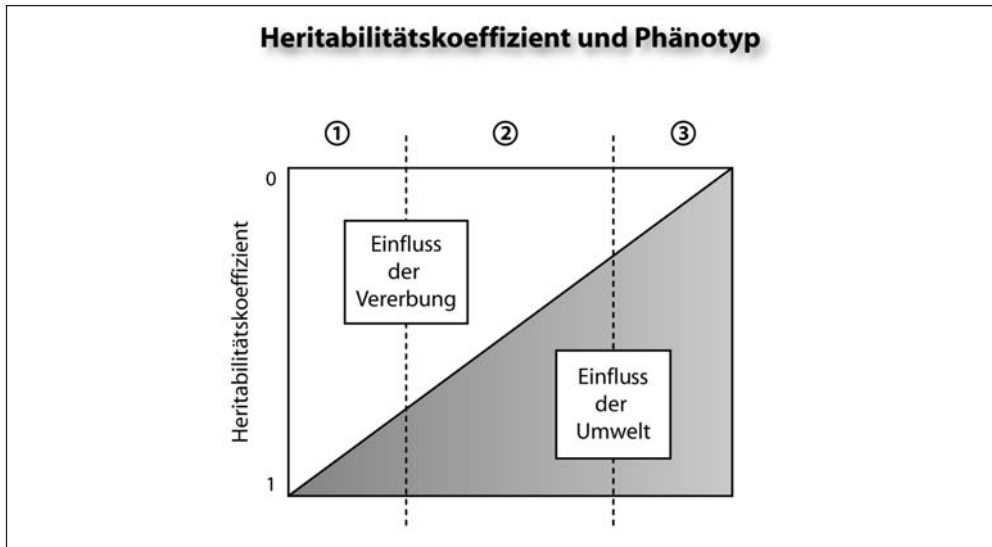


Abb. 2 Heritabilitätskoeffizient  $H$  und Phänotyp (modifiziert nach MURKEN und CLEVE 1996). **Bereich 1:** Hohe Werte für  $H$  (nahe 1) sind typisch für Mendelsche Erbliden. Auftreten und Schweregrad vieler solcher „Erbkrankheiten“ sind weitgehend unabhängig von der speziellen Umwelt. Im Extremfall  $H = 1$  kann die Variabilität des untersuchten Merkmals in der untersuchten Bevölkerung ausschließlich (zu 100%) auf genetische Variabilität zurückgeführt werden. Diese Feststellung bedeutet aber nicht, dass Umwelteinflüsse (und epigenetische Einflüsse, siehe Abschnitt 8) keinen Einfluss auf die Ausprägung des untersuchten Merkmals haben. Umwelteinflüsse, die die gesamte untersuchte Population in gleichem Maße betreffen, werden nicht erfasst ( $V_U = 0$ )! Siehe dazu das Beispiel der Mendelschen Erbkrankheit Phenylketonurie. Diese angeborene Stoffwechselstörung führt überall auf der Welt zu schwerem Schwachsinn, weil die Menge der Aminosäure Phenylalanin in der Nahrung überall auf der Welt zu hoch ist, also die Varianz des durch das überschüssige Phenylalanin bedingten Einflusses der Umwelt auf den Phänotyp der Betroffenen praktisch 0 ist. Aber die Entwicklung des für die Phenylketonurie typischen, schweren Schwachsinn kann verhindert werden, wenn die betroffenen Kinder eine Diät erhalten, in der die Menge an Phenylalanin auf das ihnen zuträgliche Maß begrenzt wird. **Bereich 2:** Werte für  $H$  zwischen 0,20 und 0,8 sind typisch für viele multifaktoriell bedingte normale Merkmale, z. B. Körpergröße und bestimmte kognitive Fähigkeiten, und alle häufigen Krankheiten, z. B. Diabetes mellitus, Herz-Kreislaufkrankungen, Schlaganfall, Schizophrenie, schwere Depressionen, Alzheimerische Erkrankung usw. Diese Werte bedeuten, dass die Ausprägung des untersuchten phänotypischen Merkmals zu 20 bis 80% von genetischen Unterschieden in der untersuchten Bevölkerung abhängt. Hier haben also sowohl die genetische Variabilität der Menschen in der untersuchten Bevölkerung als auch Unterschiede in der Umwelt dieser Bevölkerung einen großen Einfluss. **Bereich 3:** Niedrige Werte für  $H$  sind typisch für phänotypische Merkmale, bei denen eine unterschiedliche Ausprägung in der Bevölkerung ganz überwiegend oder ausschließlich auf die Variabilität von Umwelteinflüssen ( $V_U$ ) zurückgeführt werden kann. Im Extremfall  $H = 0$  spielen Unterschiede der genetischen Ausstattung von Individuen in der untersuchten Population gar keine Rolle (0%).  $H = 0$  bedeutet aber nicht (!), dass das betreffende Merkmal unabhängig von Genen entsteht, sondern nur, dass die für die Entstehung dieses Merkmals wesentlichen Gene bei allen untersuchten Individuen einer bestimmten Population identisch sind! Untersucht man eine andere Population mit einer genetischen Variabilität, die Einfluss auf Variabilität des untersuchten Merkmals hat, wird der für diese Population bestimmte Wert von  $H$  auch sehr viel höher liegen.

und Insektiziden beim Maisanbau oder von Kraftfutter und Antibiotika bei der Aufzucht von Ferkeln) mag den Ertrag erhöhen. Was einer Agrarfirma aus einer kurzfristigen, pekuniären Sicht gut oder schlecht erscheint, entspricht häufig nicht den langfristigen Notwendigkeiten einer intakten Umwelt oder den wahren Bedürfnissen der Verbraucher.

$H$  ist keine Naturkonstante. Der in einer Bevölkerung zu einer bestimmten Zeit und für ein bestimmtes Merkmal gefundene Wert für  $H$  kann sich bei einer späteren Untersuchung stark

verändern. Wenn es beispielsweise nach der ersten Untersuchung zu einer Erhöhung oder Erniedrigung der umweltbedingten Varianz  $V_U$  kommt, wird das bei der zweiten Untersuchung bestimmte  $H$  notwendigerweise kleiner oder größer. Ein neu auftretender Umweltfaktor wiederum, der alle Mitglieder der Population in gleicher Weise betrifft, kann ein phänotypisches Merkmal stark beeinflussen, während der Wert für  $H$  völlig unbeeinflusst bleibt, denn  $V_U$  erfasst ja nur variable, nicht konstant auf alle Mitglieder der Population gleichermaßen einwirkende Umwelteinflüsse. Beispielsweise liegt der Heritabilitätskoeffizient für das menschliche Längenwachstum bei etwa 0,8, d. h. 80 % der Unterschiede in der Körpergröße sind auf genetische Unterschiede zurückzuführen. Bedeutet das eine geringe Einflussmöglichkeit der Umweltbedingungen? Offenbar nein! Die Zunahme des Längenwachstums in den Industriestaaten während der letzten hundert Jahre hat nichts mit einer Veränderung des Genpools der Bevölkerung zu tun, sondern ausschließlich mit Veränderungen der Lebensbedingungen. Über den relativen Einfluss von Faktoren bei der Ausprägung eines bestimmten phänotypischen Merkmals bei einem einzelnen Menschen, das sei hier abschließend noch einmal betont, sagt  $H$  überhaupt nichts aus. Die ermittelten Prozentzahlen werden aber leider in der Öffentlichkeit oft so dargestellt, dass Laien den Eindruck erhalten, es ginge hier um Aussagen für einzelne Menschen. Diese sprachliche Nachlässigkeit verursacht immer wieder fundamentale Missverständnisse. Wird für eine untersuchte Stichprobe eine statistisch signifikante Korrelation zwischen verschiedenen Parametern festgestellt, ergibt sich die Frage nach dem möglichen kausalen Zusammenhang. Die Verwechslung von statistisch gesicherten Korrelationen mit einfachen, kausalen Zusammenhängen hat viel Unheil angerichtet. Die eindeutig nachgewiesene Korrelation zwischen der Abnahme der Störche und der Abnahme der Kinderzahl in einer Gegend unterstützt nicht die Hypothese, dass Kinder von Störchen gebracht werden.

## 5.2 Zwillings- und Adoptionsstudien

Ein besonderes Problem bei der Ermittlung des Heritabilitätskoeffizienten  $H$  für ein bestimmtes phänotypisches Merkmal besteht darin, dass die wesentlichen genetischen, epigenetischen (siehe Abschnitt 8) und umweltbedingten Faktoren für die Ausprägung dieses Merkmals in der Regel gar nicht bekannt sind. Zwillings- und Adoptionsstudien haben es ermöglicht, anhand von hier nicht erläuterten Formeln zu einer Abschätzung von  $H$  zu gelangen, ohne die tatsächlich beteiligten Faktoren im Einzelnen zu kennen. Bei menschlichen Populationen wurden solche Studien vor allem im Hinblick auf den Einfluss variabler genetischer und umweltbedingter Faktoren bei der Entstehung von vermutlich multifaktoriell bedingten Merkmalen durchgeführt. Es gibt wohl kaum ein Merkmal, das in den vergangenen hundert Jahren nicht untersucht worden wäre – von Fettleibigkeit bis zu kriminellem Verhalten und ungezählten Studien zur Vererbung der Intelligenz. Durch die Ermittlung dieses Koeffizienten erhielten Humangenetiker eine Vorstellung davon, ob genetisch bedingte Varianz in der untersuchten Population bei einem bestimmten Merkmal – überhaupt eine Rolle spielt. Bei der Interpretation muss man (und das ist leider oft nicht geschehen) die Grenzen solcher Untersuchungen beachten. Ein hoher oder niedriger Heritabilitätskoeffizient  $H$  gibt zwar einen Hinweis auf wesentliche Einflüsse einer genetischen oder umweltbedingten Varianz für das Auftreten des untersuchten Merkmals, er verhilft aber nicht zu einem tieferen Verständnis, wie bestimmte Umwelteinflüsse mit genetischen Faktoren bei der Ausprägung dieses Merkmals zusammenwirken.



Bei Zwillingsstudien werden möglichst zahlreiche Paare eineiiger Zwillinge, die das gleiche Genom besitzen, mit ebenso zahlreichen Paaren zweieiiger Zwillinge verglichen, deren Genom wie bei Geschwistern im Mittel zu 50 % identisch ist. Im 20. Jahrhundert wurden ungezählte Untersuchungen an Stichproben von eineiigen und zweieiigen Zwillingen durchgeführt, um den relativen Einfluss von Erbe und Umwelt („nature and nurture“) auf die verschiedensten menschlichen Merkmale – von der Körpergröße bis zur Kriminalität – und bei multifaktoriellen Erkrankungen abzuschätzen. Betrachten wir die Schizophrenie als Beispiel einer multifaktoriell ausgelösten psychiatrischen Erkrankung. Man spricht von Konkordanz, wenn beide Zwillinge gesund bleiben oder beide erkranken. Die Konkordanz ist bei eineiigen Zwillingen viel höher als bei zweieiigen Zwillingen, die das Erkrankungsrisiko von Geschwistern zeigen (etwa 10 %). Betrachtet man eineiige Zwillingspaare, dann beträgt bei der Schizophrenie-Erkrankung eines Zwillings das Erkrankungsrisiko für den anderen etwa 50 %. Dieser Befund weist darauf hin, dass Unterschiede der Umwelt für die Entstehung der Schizophrenie bedeutsam sind.

Ein weiterer, unabhängiger Weg zur Abschätzung von  $H$  sind Adoptionsstudien. Bei Adoptionsstudien wird das Schicksal von adoptierten Kindern verfolgt, um festzustellen, ob ihr Risiko für eine bestimmte Krankheit von der Adoptionsfamilie – das spricht für Umwelteinflüsse – oder von ihrer Herkunftsfamilie abhängt – letzteres spricht für genetische Einflüsse. Kinder, deren Vater oder Mutter oder deren beide Eltern an einer Schizophrenie erkrankt waren und die früh von gesunden Pflegeeltern adoptiert wurden, zeigten ein erhöhtes Lebensrisiko, an Schizophrenie zu erkranken. Dieses Risiko entsprach dem Risiko von Kindern, die bei ihren leiblichen Eltern aufwuchsen. Die Adoption von Kindern gesunder Eltern durch (später) erkrankte Pflegeeltern führte dagegen zu keiner Risikoerhöhung des adoptierten Kindes über das Durchschnittsrisiko von 1 % in der Bevölkerung hinaus. Solche Untersuchungen weisen auf genetische Risiken hin, die nicht dadurch verschwinden, dass man sie ableugnet. Aber man muss ihre Grenzen sehen. Statistiken, die eine Korrelation für viele untersuchte Individuen belegen, sagen über das einzelne Schicksal nichts aus. Völlig verfehlt wäre die Folgerung, solche Untersuchungen belegten, dass das Erkrankungsschicksal doch ganz überwiegend, wenn nicht ausschließlich durch genetische Einflüsse bestimmt wird. Ein hoher Heritabilitätskoeffizient ist – es sei hier nochmals hervorgehoben – nicht mehr und nicht weniger als ein Quotient, der die genetische Variabilität als Prozentsatz der Gesamtvariabilität aller Faktoren angibt, die für die Ausprägung des untersuchten Merkmals in der untersuchten Stichprobe während des von einer Zwillings- oder Adoptionsstudie erfassten Zeitraums bedeutsam waren. Prozentsätze, die dem Einfluss von genetischer Variabilität und dem Einfluss von umweltbedingter Variabilität zugeschrieben werden, können sich je nach Umwelt und Bevölkerungsstruktur wesentlich ändern. Ein hoher Wert für  $H$  erlaubt nicht einmal den Schluss, dass Umwelteinflüsse bei der untersuchten Stichprobe nur eine geringfügige Rolle gespielt haben. Dieser Fehlschluss verkennt, dass es Umweltfaktoren geben kann, die alle ausnahmslos treffen ( $V_U = 0$ ), die aber nur bei einem Menschen mit entsprechender genetischer Disposition die fragliche Krankheit auslösen. Betrachten wir dazu wiederum die Schizophrenie als Beispiel. Neben psychischen Belastungen aller Art werden auch frühkindliche Infektionskrankheiten des Gehirns als auslösende Faktoren diskutiert. Nehmen wir zur Verdeutlichung der Grenzen von prozentualen Aussagen zum Einfluss von Vererbung und Umwelt an Hand der Bestimmung von  $H$  an, eine bestimmte frühkindliche, das Gehirn betreffende Infektionskrankheit wäre ein notwendiger Umweltfaktor für die Auslösung einer Schizophrenie. Wäre es so – und diese Hypothese ist derzeit weder zu beweisen noch auszuschließen – dann wäre diese Infektionserkrankung ein zwar notwendiger, aber für sich allein ebenso wenig hinreichender

Faktor wie die genetische Disposition allein. Bei den meisten Menschen würde diese Infektion folgenlos ausheilen, ja nicht einmal bemerkt. Wenn alle Menschen in einer Population von dieser Infektionskrankheit betroffen würden, dann gäbe es in dieser Population im Hinblick auf diesen Faktor gar keine umweltbedingte Variabilität ( $V_U = 0$ ). Nur bei Menschen mit einer erblichen Veranlagung könnte diese nahezu jeden Menschen treffende Infektion während der Pubertät oder im frühen Erwachsenenalter eine Schizophrenie zur Folge haben. Dementsprechend könnte unter diesen Umständen mittels Zwillings- und Adoptionsstudien nur die genetische Variabilität erfasst werden, und die Krankheit würde als genetisch verursachte Erkrankung imponieren. In einer anderen Umwelt und bei einer anderen Bevölkerungsstruktur könnte es dagegen so erscheinen, als sei das Auftreten der Krankheit überwiegend oder ausschließlich von Umweltereignissen abhängig. Stellen wir uns zur Verdeutlichung eine hypothetische Bevölkerung vor, in der alle Menschen die erforderliche genetische Disposition in identischer Weise besitzen und in der die hypothetische Infektionskrankheit nur einen kleinen Prozentsatz der Menschen befällt. In dieser Situation wäre die genetische Varianz  $V_{\text{GEN}} = 0$ , und mit Zwillings- und Adoptionsstudien könnte nur die Variabilität des hier maßgeblichen Umweltfaktors erfasst werden. Das Auftreten der Krankheit würde scheinbar allein durch die zur Auslösung notwendige Infektionskrankheit bestimmt.

Die im 20. Jahrhundert so beliebten Zwillings- und Adoptionsstudien hatten ihren Wert, als es darum ging nachzuweisen, ob genetische oder umweltbedingte Unterschiede in einer Population allein für die zu beobachtende Variabilität bestimmter komplexer phänotypischer Merkmale verantwortlich sind. Das bleibende Resultat dieser Studien ist, dass sie die „Gene oder Umwelt“ („nature or nurture“)-Debatte *ad absurdum* geführt haben. Immer wieder fanden die Untersucher, dass genetische Faktoren *und* umweltbedingte Faktoren bei der Ausprägung komplexer phänotypischer Merkmale zusammenwirken. Die Erkenntnis, um welche Faktoren es sich im Einzelnen handelt und wie diese Faktoren zusammenwirken, haben diese Studien nicht bereichert. Aus solchen Studien abgeleitete Heritabilitätskoeffizienten sagen gar nichts aus über den Einfluss einzelner Faktoren und die kausalen Netzwerke, die zwischen diesen Faktoren bestehen.

Ist die Zwillingsforschung heute obsolet geworden? Kann sie jemals wesentliche Beiträge zum kausalen Verständnis genetisch bedingter und umweltbedingter Einflüsse auf normale und pathologische Merkmale leisten? Vor zehn Jahren noch hätte ich vermutet, dass die Zwillingsforschung weitgehend am Ende ihrer Möglichkeiten angelangt ist. In diesen letzten zehn Jahren hat sich jedoch eine neue Wendung mit einer noch kaum abzuschätzenden Tragweite für das Verständnis des Gen-Umwelt-Problems ergeben. Diese Wendung wird durch die Begriffe Epigenetik und Epigenomik (Epigenom-Forschung) gekennzeichnet und im Abschnitt 8 erläutert. Man kann diese Wendung ohne Übertreibung als wissenschaftliche Revolution bezeichnen. Das neue Forschungsfeld der Epigenetik kann erklären, wie es dazu kommen kann, dass eineiige Zwillingspaare für wesentliche Merkmale (z. B. eine multifaktorielle Krankheit) diskordant sind: ein Zwilling erkrankt, während der andere dauerhaft von dieser Krankheit verschont bleibt.

## 6. Was sind eigentlich Gene?

Der Begriff Gen gehört zu den Leitbegriffen der biologischen Wissenschaften im 20. Jahrhundert. Aber was sind eigentlich Gene? Wie soll man den Begriff definieren? Ein Laie sollte

erwarten dürfen, dass jeder heutige Genetiker wenigstens diese schlichte Frage eindeutig beantworten kann, aber das Gegenteil ist der Fall, denn der Begriff hat im Verlauf des letzten Jahrhunderts einen Bedeutungswandel durchgemacht, der auch heute noch nicht abgeschlossen ist. Dieser Wandel ist Ausdruck der fundamentalen Veränderungen des naturwissenschaftlichen Verständnishorizonts zum Problem der Vererbung im 20. Jahrhundert.<sup>52</sup> Auf die Frage nach einer Definition des Begriffs Gen antwortete Francis COLLINS (geb. 1950),<sup>53</sup> seit 2009 Direktor der Nationalen Institute für Gesundheit (*National Institutes of Health*, NIH) der USA und seit 1993 Leiter des Internationalen Humangenom-Projekts: „You ask 100 molecular biologists that [question] and you’ll get 110 answers.“<sup>54</sup> Unter einem Gen verstand man im frühen 20. Jahrhundert eine diskrete Einheit der Vererbung. Die Experimente von MORGAN und Mitarbeitern sprachen dafür, dass Gene in den Chromosomen linear angeordnet sind wie Perlen auf einer Perlenkette. 1941 veröffentlichten George W. BEADLE (1903–1989) und Edward L. TATUM (1909–1975) eine Arbeit über die genetische Kontrolle von biochemischen Reaktionen beim Brotschimmelpilz. Sie fanden, dass jeder Stoffwechselschritt von einem bestimmten Enzym katalysiert wird, dessen Synthese wiederum von einem Gen abhängt. Daraus entstand die „Ein-Gen-ein-Protein“-Hypothese, ein Gen ist für die Bildung von einem Protein zuständig.<sup>55</sup> 1958 wurden BEADLE und TATUM für ihre Entdeckung mit dem Nobelpreis für Medizin oder Physiologie ausgezeichnet. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung ihrer nobelpreiswürdigen Arbeiten war die Frage noch immer ungelöst, was ein Gen chemisch ist und wie es zur Bildung eines bestimmten Proteins beiträgt. In seinem 1944 erschienenen Essay „Was ist Leben“ vermutete der Physiker Erwin SCHRÖDINGER (1887–1961), wie fast alle damaligen Genetiker, das Gen sei „wahrscheinlich ein großes Proteinmolekül“.<sup>56</sup> Für SCHRÖDINGER, der zu den Begründern der Quantenphysik zählt und dafür 1933 mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet wurde, hatten Gene Eigenschaften, für „die die gewöhnlichen Ge-

52 FOX KELLER 1995 und 2000.

53 Francis COLLINS ist bekennender Christ und geht davon aus, dass christlicher Glaube und moderne Evolutionstheorie vollständig vereinbar sind. Den in den USA verbreiteten Kreationismus, nach dem die Bibel wörtlich zu verstehen ist, weist er ebenso zurück wie die Behauptung eines „Intelligent Design“, demzufolge eine irreduzible Komplexität des Lebendigen auf die Notwendigkeit fortgesetzter Eingriffe eines „Designers“ (der Begriff steht für Gott, wird aber aus verfassungsrechtlichen Gründen von der „Intelligent Design“-Bewegung nicht verwendet). Ziel dieser Bewegung ist nicht der wissenschaftliche Diskurs über Probleme der Evolutionstheorie, sondern der Wille, religiös fundierte Auffassungen in den Biologieunterricht hineinzutragen.

54 Francis COLLINS im Interview mit David E. DUNCAN (DUNCAN 2007).

55 BERG und SINGER 2003, S. 171–179. Die Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese passt sehr gut ins Schema der Mendelschen Vererbung (Abb. 1), allerdings mit der Einschränkung, dass die Veränderung der katalytischen Aktivität oder der komplette Ausfall eines bestimmten Enzyms viele phänotypische Merkmale beeinflussen können, wenn das Enzym eine Stoffwechselreaktion katalysiert, die in verschiedenen Zusammenhängen wichtig ist, oder sein Ausfall eine Kette von Folgestörungen auslöst. Die häufig vorkommende, autosomal-rezessive Erbkrankheit Phenylketonurie ist dafür ein gutes Beispiel. Im wissenschaftshistorischen Kontext ist bemerkenswert, dass zur Zeit der bahnbrechenden Experimente von BEADLE und TATUM manche Genetiker bereits die Ansicht vertraten, dass individuelle Gene typischerweise vielfache Funktionen ausüben und ihr Ausfall daher auch zu vielfachen Defiziten führt. Für sie war der Nachweis eines direkten Zusammenhangs zwischen einem Gen und der Bildung eines einzelnen Enzyms eine unerwartete Überraschung. Auch der Nachweis, dass der Ausfall eines Gens zum Ausfall eines bestimmten Enzyms führt, legte für sie noch längst nicht nahe, dass dieses Gen direkt für die Produktion dieses Enzyms verantwortlich ist oder, wie wir heute sagen würden, die Information für die Aminosäuresequenz dieses Proteins enthält (BERG und SINGER 2003, S. 142f.). Insofern gibt das in Abb. 1 gezeigte eindimensionale Schema die Komplexität des Denkens aller Vertreter der Mendelistischen Vererbungstheorie während der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts nicht angemessen wieder. Die Vereinfachung dieses Schemas gibt aber doch eine weit verbreitete Denkhaltung wieder, die vor allem bei den Eugenikern vorhanden war (siehe dazu Abschnitt 3).

56 SCHRÖDINGER 1944, vgl. SCHRÖDINGER 1951.

setze der Physik nicht gelten“.<sup>57</sup> „Die klassische Physik vermag die Beständigkeit (des Gens) nicht zu erklären.“ Wie es „etwa das winzige Gen für die Habsburger Lippe fertig gebracht habe, bei einer Temperatur von 310° über dem absoluten Nullpunkt seine spezifische Struktur über Jahrhunderte zu erhalten“, war für SCHRÖDINGER „ein Wunder“. SCHRÖDINGER hatte damit aus damaliger Sicht recht, denn mit Hilfe von Selektion allein und ohne die damals noch unbekannt, hoch effizienten DNA-Reparatursysteme würde eine Konstanz von Genen in der Tat ein Wunder sein. Gene waren in SCHRÖDINGERS Augen „Gesetzbuch und ausübende Gewalt“ zugleich. Diese Überschätzung sprach den einzelnen Genen Fähigkeiten zu, die sie im Rahmen der klassischen Physik und Chemie nicht erfüllen konnten. In seinem Essay hat SCHRÖDINGER von der ‚Schlüsselschrift‘ gesprochen, durch die Funktionen der Zellen gesteuert werden. Aber wie er sich die Fähigkeit dieser Schlüsselschrift zur identischen Verdopplung vorstellen sollte, war für SCHRÖDINGER, der über eine aperiodische Kristallstruktur der Chromosomen spekulierte, ein weiteres Rätsel.

### 6.1 Entschlüsselung der chemischen Natur der Gene<sup>58</sup>

Die Aufklärung der chemischen Natur der Erbinformation gehört zu den bahnbrechenden Erkenntnissen des 20. Jahrhunderts. Heute ist es Allgemeinwissen, dass die Erbinformation in den Chromosomen in einem fadenförmigen Makromolekül, der Desoxyribonukleinsäure (DNA, die englische Abkürzung DNA – A steht für Acid – hat sich international durchgesetzt), gespeichert ist. Die Bausteine der DNA heißen Nukleotide. Sie bestehen aus einem Zuckeranteil (Desoxyribose) und einer der vier Basen (Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin) und einer Phosphatgruppe (Abb. 3E, F; 4). Zucker und Phosphatgruppen bilden als zwei umeinander gewundene Stränge die Außenseite des DNA-Fadens, während das Innere aus den einander gegenüber liegenden, „gepaarten“ Basen Adenin–Thymin und Cytosin–Guanin besteht. Die Reihenfolge (Sequenz) der vier Basen ist der Schlüssel zum Verständnis der in der DNA enthaltenen genetischen Information. Auf Grund dieser Paarungsregel kann man aus der Reihenfolge der Basen eines Stranges die Reihenfolge der Basen des anderen Stranges eindeutig ableiten. In der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts wurde die Metapher von der DNA-Doppelhelix als Sprache des Lebens zum Gemeinplatz biologischer Allgemeinbildung.<sup>59</sup> Wie kam es zu dieser Entdeckung?

Bereits 1871 wurde von Johann Friedrich MIESCHER (1844–1895) phosphorhaltiges, eiweißfreies „Nuklein“ als Bestandteil von Zellkernen in eiterdurchtränkten Verbänden entdeckt.<sup>60</sup> 1892 spekulierte MIESCHER in einem Brief, „aller Reichtum und alle Mannigfaltigkeit erblicher Übertragungen (können) ebenso gut in der kolossalen Menge von Stereoisomeren der an der Zusammensetzung der Erbsubstanz beteiligten chemischen Bauformen ihren Ausdruck finden, als die Worte und Begriffe aller Sprachen in den 24–30 Buchstaben des Alphabets“.<sup>61</sup> Mit dieser Alphabet-Metapher eilte MIESCHER dem damaligen Stand der Vererbungstheorie weit voraus. Heute sprechen wir ganz selbstverständlich von der Schriftnatur der DNA, die in der Sequenz der DNA-Basen verborgen ist, vielleicht ohne dass wir uns überhaupt noch bewusst sind, welche mühsamen und irrtumsreichen Wege zu dieser Metapher geführt haben.

57 FOX KELLER 1998, S. 96.

58 HAGEMANN 2007, HAUSMANN 1995, RHEINBERGER und MÜLLER-WILLE 2009.

59 KAY 2001 (KAY 2000).

60 MIESCHER 1871.

61 BLUMENBERG 1981, S. 395.

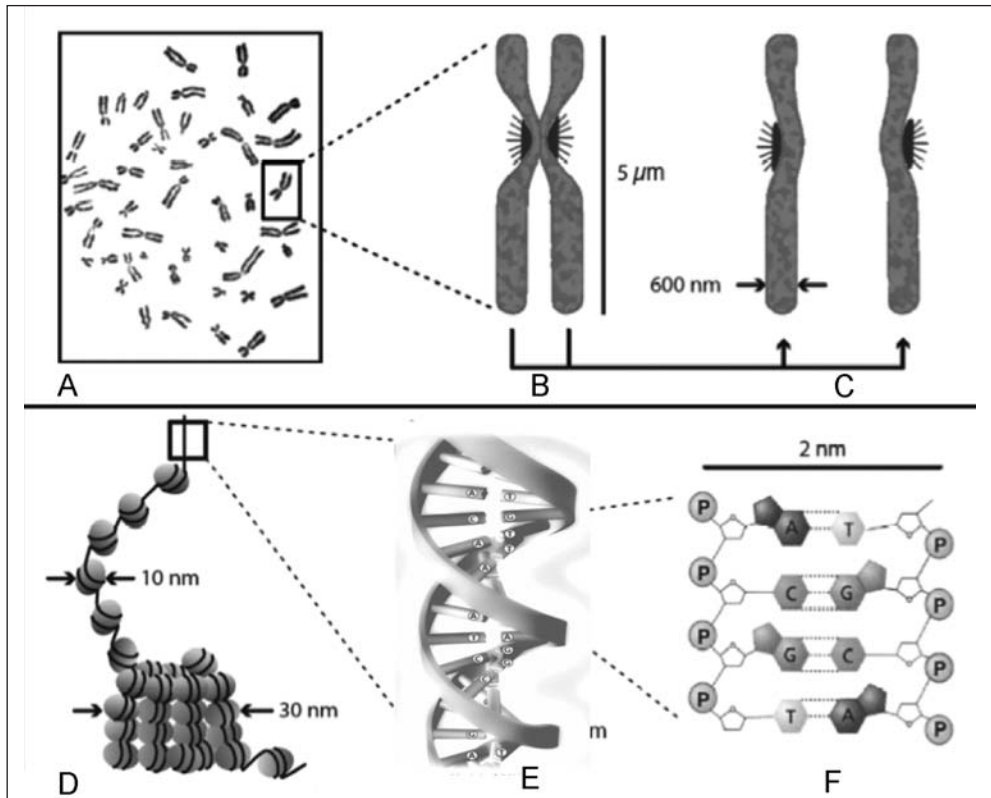


Abb. 3 Chromosomen, Chromatin, DNA. Theodor BOVERI (1862–1915) und Walter S. SUTTON (1877–1916) deuteten 1902/1903 die Mendelschen Vererbungsregeln im Rahmen der Chromosomentheorie der Vererbung. In jeder menschlichen Zelle mit einem normalen diploiden Chromosomensatz sind 46 Chromosomen enthalten. Der diploide Satz setzt sich aus zwei haploiden Chromosomensätzen mit je 23 Chromosomen zusammen, die von der Mutter bzw. vom Vater ererbt wurden (22 Autosomen plus 1 X-Chromosom von der Mutter, 22 Autosomen plus 1 X-Chromosom oder 1 Y-Chromosom vom Vater). Die paarweise vorkommenden Chromosomen nennt man homologe Chromosomen. Ein normales homologes Chromosomenpaar enthält einen DNA-Faden mit dem gleichen Satz an Genen und gleicher, linearer Anordnung der Gene. (A) Chromosomenpräparat einer diploiden menschlichen Zelle während der Mitose (Metaphasestadium). Die Länge der Chromosomen beträgt einige tausendstel Millimeter (1 tausendstel Millimeter =  $1\ \mu\text{m}$ ). (B) Schema eines Chromosoms während der Mitose, dem Abschnitt des Zellzyklus, während dem aus einem Zellkern zwei Zellkerne entstehen. Man erkennt zwei Chromatiden, die noch im Bereich des Zentromers zusammenhängen. Dort befindet sich auf jedem Chromatid eine Anheftungsstelle für die durch Striche angedeuteten Fasern des Spindelapparates. (C) Nach Teilung des Zentromers werden die beiden Chromatiden vom Spindelapparat zu entgegengesetzten Seiten bewegt (Anaphasestadium der Mitose). Um die beiden Cluster aus 46 menschlichen Chromatiden bilden sich die beiden Tochterzellkerne. Nach Abschluss der Mitose schnürt sich der Zelleib der Mutterzelle durch. Die so entstandenen beiden Tochterzellen befinden sich jetzt in der Interphase, also der Phase zwischen zwei Mitosen. Während der G1-Phase bestehen die 46 Chromosomen aus jeweils 1 Chromatid, während der S-Phase (S = Synthese) werden alle Chromatiden verdoppelt. Dementsprechend besteht in der nachfolgenden G2-Phase jedes Chromosom wieder aus 2 Chromatiden. Nach Abschluss der G2-Phase kann die Zelle in die nächste Mitose eintreten. (D) Chromatin bildet die Grundstruktur der Chromosomen. Der DNA-Faden (schwarze Linie) ist um sogenannte Nukleosomen gewickelt (hier schematisch als eiförmige Körper dargestellt). (E) Das fadenförmige DNA-Molekül hat einen Durchmesser von  $2\ \text{nm}$ . Zwei gegenläufige Stränge, die wie eine Wendeltreppe angeordnet sind, bilden die berühmte DNA-Doppelhelix. (F) Jeder Strang ist aus einer Folge von je einem Zuckermolekül (Desoxyribose; hier angedeutet durch ein Fünfeck) und einer Phosphatgruppe (Kreis mit einem P) aufgebaut. Die Stufen der DNA-Wendeltreppe werden durch DNA-Basenpaare gebildet (siehe Abb. 4, rechts).

Erste genauere Untersuchungen zur chemischen Beschaffenheit des Zellkerns führte Albrecht KOSSEL (1853–1927) durch, dem die Entdeckung der Nukleinsäurekomponenten Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin und Uracil gelang. Dafür erhielt KOSSEL 1910 den Nobelpreis für Medizin oder Physiologie.<sup>62</sup> 1912 veröffentlichte Phoebus Aaron LEVENE (1869–1940) eine erste Strukturformel für Kalbsthymus-DNA<sup>63</sup> (Abb. 4, *links*). Wenn wir diese Struktur mit der 1953 aufgeklärten Struktur der DNA-Doppelhelix vergleichen (Abb. 4, *rechts*), sind wir vielleicht erstaunt, dass LEVENE mit seiner Strukturformel gar nicht schlecht abschneidet. Wenn man bei diesem Vergleich allerdings im Rückblick meint, man bräuchte beim Ansehen der beiden Formeln eigentlich „nur noch“ auf die Idee der Basenpaarung zu kommen, um von LEVENES Struktur zur tatsächlichen Struktur zu gelangen, verkennt man vollständig die riesige Kluft zwischen dem Kenntnisstand von 1912 und 1953. LEVENE ging von einer einfachen Tetranukleotidstruktur der DNA aus. Danach war jedes DNA-Molekül klein und nur aus vier Nukleotiden mit den vier DNA-Basen aufgebaut. Diese Annahme trug wesentlich zu der Ansicht bei, dass Nukleinsäuren für die Rolle der Erbsubstanz viel zu einfach gebaut seien.<sup>64</sup> Auch darum setzten die allermeisten Genetiker lange auf Proteine als Träger der Vererbung. Denn einzig die aus ca. 20 verschiedenen Aminosäuren aufgebauten Proteine erlaubten in ihren Augen die für Erbmoleküle zu fordernde Vielfalt. Im 1929 veröffentlichten *Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten* von Siegfried THANNHAUSER (1885–1962) findet sich ein ganzes Kapitel über den Nukleinsäurestoffwechsel, allerdings ausschließlich im Zusammenhang mit der Gicht als Folge überschießender Harnsäurebildung beim Abbau der Nukleinsäuren.<sup>65</sup>

Die Entdeckungsgeschichte von der grundlegenden Bedeutung reiner DNA (ohne jede erkennbare Beimischung von Proteinen) für die Vererbung wird in den meisten einschlägigen Lehrbüchern als eine Serie aufeinanderfolgender Bausteine der Erkenntnis dargestellt. Diese Geschichte geht so: Der britische Bakteriologe Frederick GRIFFITH (1877–1941) publizierte 1928 eine Untersuchung zur Pathogenität von Pneumokokken bei Mäusen. Die Infektion von Mäusen mit einem Bakterienstamm, dem R-Stamm, verlief harmlos, die Infektion mit dem S-Stamm war dagegen tödlich. Pneumokokken des S-Stamms sind im Gegensatz zum R-Stamm von einer schützenden Kapsel umgeben und entgehen so den Abwehrmechanismen ihres Wirts. Wie nicht anders zu erwarten, überlebten die Mäuse, wenn GRIFFITH die S-Pneumokokken vor der Infektion durch Hitze abtötete. Die eigentliche „Sensation“ lieferte jedoch folgendes Experiment: Mäuse, die mit einer Mischung aus abgetöteten S- und lebenden R-Pneumokokken infiziert wurden, starben an Lungenentzündung, und GRIFFITH konnte aus diesen Mäusen lebende S-Pneumokokken isolieren.<sup>66</sup> Wie diese Umwandlung (Transformation) zustande kam, wusste GRIFFITH allerdings nicht. Erst in den 1940er Jahren gelang Oswald T. AVERY (1877–1955) und Mitarbeitern der Beweis, dass DNA in den abgetöteten S-Pneumokokken für die Transformation verantwortlich ist.<sup>67</sup> Mühsam reinigten sie Schritt für Schritt einen Zellsaft aus S-Pneumokokken und testeten, welche Fraktion die Fähigkeit zur Transformation behielt, bis sie schließlich reine DNA als transformierendes Prinzip in den Händen hatten. 1952 führten Alfred HERSHEY (1908–1997; Nobelpreis für Medizin oder Physiologie 1969) und Martha

62 KOSSEL 1910.

63 LEVENE und JACOBS 1912.

64 SCHLENK 1988.

65 THANNHAUSER 1929.

66 GRIFFITH 1928.

67 AVERY et al. 1944.

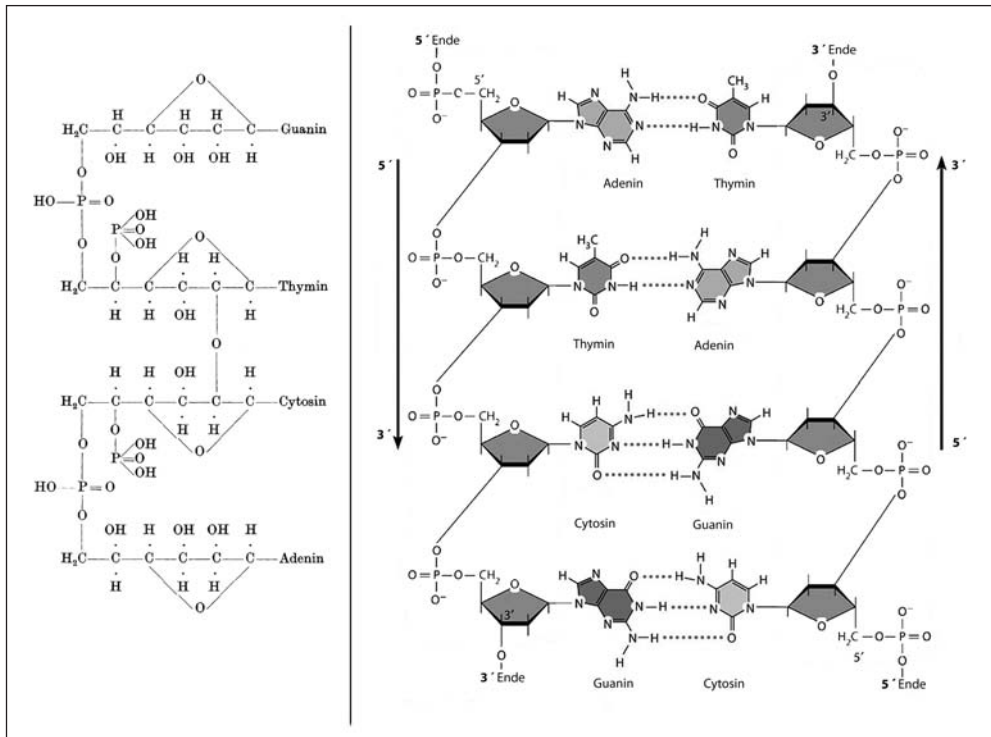


Abb. 4 Entwicklung der DNA-Strukturformel von 1912 (LEVENE) bis 1953 (WATSON und CRICK). Der Vergleich der beiden Strukturformeln verdeutlicht den weiten Weg, der von 1912 bis zur Aufklärung der DNA-Struktur 1953 und ihrer Schlüsselrolle als informationstragendes Molekül zurückgelegt werden musste. *Linke Seite:* Erste Strukturformel der aus Thymus gewonnenen DNA (Thymusnukleinsäure) von LEVENE 1912 (entnommen aus THANNHAUSER 1929, S. 166). *Rechte Seite:* Heute gültige DNA-Strukturformel. Beim Vergleich fällt auf, dass die frühe Strukturformel der heutigen Formel trotz einiger Abweichungen in wichtigen Punkten entspricht. In beiden Formeln erkennt man ein Zucker-Phosphat-Skelett. Jedes Zuckermolekül ist mit einer DNA-Base verknüpft: A = Adenin, T = Thymin, C = Cytosin und G = Guanin. LEVENE hatte noch keine Vorstellung von der möglichen Länge des DNA Fadenmoleküls. Für ihn bestand die Thymusnukleinsäure aus sehr kurzen Einzelmolekülen mit nur 4 Basen. Erst das Watson-Crick-Modell 1953 beschrieb die Basenpaarung von Adenin mit Thymin und von Guanin mit Cytosin mittels Wasserstoffbrücken. Diese Basenpaarung führte WATSON und CRICK sofort zur intuitiven Erkenntnis eines Mechanismus für die Verdoppelung eines DNA-Moleküls.<sup>68</sup> Der genetische Code, der beschreibt, wie die Reihenfolge der DNA-Basen in einem Gen die Reihenfolge der Aminosäuren bei dem von diesem Gen kodierten Protein festlegt, wurde in den 1960er Jahren entschlüsselt.<sup>69</sup> Die Gesamtlänge der DNA-Fäden beträgt in den 46 Chromosomen eines menschlichen Zellkerns während der G2-Phase und der Mitose etwa 4 m (= 4 Millionen  $\mu\text{m}$ ). In der G1-Phase beträgt die Gesamtlänge etwa 2 Millionen  $\mu\text{m}$ . Nach der Verdoppelung der Chromatiden während der S-Phase sind es wieder 4 Millionen  $\mu\text{m}$  DNA-Fäden, die während der auf die S-Phase folgenden G2-Phase in einem Zellkern mit einem Durchmesser von etwa 5 – 20  $\mu\text{m}$  untergebracht sind. Die als Chromatin verpackten DNA-Fäden der einzelnen Chromosomen sind im Zellkern regelhaft angeordnet (siehe Abb. 7–9). Verpackung und Anordnung der Chromosomen im Zellkern haben grundlegende Bedeutung für die zelltypspezifische Aktivität vieler tausend Gene (Abschnitt 8).

68 WATSON und CRICK 1953b.

69 NIRENBERG und MATTHEI 1961, CRICK et al. 1961.

CHASE (1927–2003) ein weiteres berühmtes Experiment durch. Sie verwendeten Bakteriophagen, das sind besondere Viren, die Bakterien befallen und sich in ihnen vermehren, bis die Bakterien platzen und viele neue infektiöse Phagen entlassen. Ein infektiöser Phage hat eine Hülle aus Proteinen und enthält in seinem Inneren ein DNA-Molekül. Er kann sich an die Oberfläche eines Bakteriums anheften und die DNA in das Innere des Bakteriums injizieren. HERSHEY und CHASE gelang es, Phagen herzustellen, bei denen die DNA mit radioaktivem Phosphor ( $^{32}\text{P}$ ) und die Proteine der Phagenhülle mit radioaktivem Schwefel ( $^{35}\text{S}$ ) markiert waren. Verwendeten sie diese Phagen zur Infektion zeigte sich, dass nur die  $^{32}\text{P}$ -markierte DNA in die Bakterien eindringt und die Bildung von neuen Phagen veranlasst.  $^{35}\text{S}$ -markiertes Phagenprotein bleibt dagegen an der Bakterienoberfläche zurück und kann durch Scherkräfte entfernt werden. *Voilà* – ein weiteres Experiment, dass die DNA das gesuchte Erbmolekül sein muss.<sup>70</sup> Wenn wir den Darstellungen von Jim WATSON und Francis CRICK zur Entdeckung der DNA-Struktur folgen,<sup>71</sup> faszinierte CRICK die Lektüre von SCHRÖDINGERS Buch *Was ist Leben*. WATSON war ebenso beeindruckt von den Experimenten Theodore AVERYS. WATSON und CRICK teilten die Überzeugungen, dass Gene der Schlüssel zum Leben und aus DNA gemacht sind. Durch eine glückliche Verkettung von Umständen kamen beide 1951 im Cavendish-Laboratorium der Universität Cambridge zusammen und bildeten ein Team mit dem Ziel, die Struktur der DNA aufzuklären. 1953 gelang ihnen dieser historische Erfolg.<sup>72</sup>

Halt, zwei weitere Forscher, Rosalind FRANKLIN (1920–1958) und Maurice WILKINS (1916–2004), dürfen wir nicht vergessen. Beide waren Spezialisten für Röntgenbeugungsspektroskopie, ein Verfahren, das geeignet ist, um die dreidimensionale Struktur von Proteinen und Nukleinsäuren zu beschreiben, sofern es gelingt, von diesen Makromolekülen Kristalle herzustellen. Die genialen Modellbauer WATSON und CRICK benutzten deren unpublizierte Daten – und jedenfalls Rosalind FRANKLIN war darüber nicht rundweg glücklich.<sup>73</sup> Ein letzter Name zumindest gehört noch in die Helden-Saga: der Biochemiker Erwin CHARGAFF (1905–2002). Er hatte bei einer Reihe von Spezies beobachtet, dass in der DNA Adenin genau so häufig vorkommt wie Thymin ( $A = T$ ). Gleiches galt für Guanin und Cytosin ( $G = C$ ). Dagegen konnten die Anteile A und T einerseits und G und C andererseits bei verschiedenen Spezies sehr unterschiedlich ausfallen. Soviel ist klar: Die Daten von CHARGAFF, FRANKLIN und WILKINS waren unverzichtbar für das Modell von CRICK und WATSON. Beide erhielten für diese Tat 1962 gemeinsam mit Maurice WILKINS den Nobelpreis für Medizin oder Physiologie. Rosalind FRANKLIN starb 1958 an einer Leukämie. Das erleichterte dem Komitee, das die Preisträger bestimmt, die Auswahl. Denn es gehört zu den Merkwürdigkeiten des Nobelpreises, dass maximal drei Wissenschaftler für eine bestimmte Entdeckung geehrt werden. Natürlich können es in Wirklichkeit auch vier, fünf oder noch wesentlich mehr Personen sein, die entscheidende Beiträge geleistet haben.<sup>74</sup> Aber je mehr es sind, desto weniger ist eine For-

70 HERSHEY und CHASE 1952.

71 WATSON 1968, 1997, CRICK 1988, 1990.

72 WATSON und CRICK 1953a.

73 WATSON 1968, MADDOX 2002.

74 HAGEMANN 2007, S. 122–134. In seiner sehr lesenswerten historischen Darstellung zur Vorgeschichte der Entdeckung der DNA-Doppelhelix und der Rolle des Protein-Paradigmas der Vererbung verweist RUDOLF HAGEMANN auf die Ergebnisse der UV-Mikrospektrometrie von Nukleinsäuren durch Torbjörn CASPERSSON (1910–1997) und von mutagenen Experimenten mit ultraviolettem Licht durch eine Reihe weiterer Forscher. Zwar lieferten auch diese Experimente Hinweise auf die DNA-Natur der Vererbungssubstanz, doch erscheint die Überzeugungskraft dieser Experimente aus dem Rückblick heute zwingender als zur Zeit ihrer Durchführung.



schungsgeschichte für eine Heldensage und den damit verbundenen Aufstieg einzelner Personen in den Forscherolymp geeignet. In der Wissenschaft wie im Sport sind Helden gefragt.

Im Anschluss an die Kurzfassung der Saga von der Entdeckung der DNA als Vererbungsmolekül möchte ich – ohne jede Intention zur Vollständigkeit – auf Probleme hinweisen, die bei einer wissenschaftshistorischen Darstellung, die sich um den wirklichen Ablauf der Entdeckungsgeschichte bemüht, zu beachten sind.<sup>75</sup> Als 1950 der 50. Jahrestag der Wiederentdeckung von MENDELS Arbeiten mit einem Symposium „Genetics in the 20<sup>th</sup> Century“ gefeiert wurde, fand nur einer von etwa 30 renommierten Vortragenden, Alfred S. MIRSKY (1900–1974), AVERYS Arbeiten überhaupt erwähnenswert, und zwar im negativen Sinn.<sup>76</sup> MIRSKY, ein Kollege AVERYS am Rockefeller-Institut in New York und selbst ein Experte in der Isolierung von Nukleoproteinen, bezweifelte AVERYS Fähigkeit, völlig reine DNA zu isolieren und als transformierendes Prinzip bei der Transformation eines nicht-pathogenen in einen pathogenen Bakterienstamm nachzuweisen. MIRSKY, der eine später als zweifelsfrei richtig bestätigte Erkenntnis anzweifelte, wird im wissenschaftlichen Heldenepos gern die Rolle des Schurken zugeschrieben, dessen Motivation allein von Neid und Missgunst geprägt gewesen sei. Solche Verurteilungen sollte man nur bei genauester Kenntnis der betroffenen Personen wagen. Skepsis gegenüber weitreichenden Behauptungen gehört zu den Grundpfeilern des naturwissenschaftlichen Erkenntnisfortschritts. Die vorschnelle Akzeptanz von Befunden als objektive Tatsachen, solange sie ins gehütete Schema eines wissenschaftlichen Denkkollektivs hineinpassen, hat bei der naturwissenschaftlichen Wahrheitssuche vermutlich viel mehr Schaden angerichtet als die störrische Weigerung, neue Erkenntnis schnell und manchmal eben vorschnell zu akzeptieren. AVERY und Mitarbeiter hatten Recht mit ihrer Behauptung, dass DNA das transformierende Prinzip ist, mit dem man aus harmlosen Pneumokokken auf Mäuse tödlich wirkende Pneumokokken herstellen kann. Die Folgerung, dass Proteine keinerlei Rolle für die Vererbung spielen, wurde in jüngster Zeit durch die Resultate der epigenetischen Forschung relativiert (siehe Abschnitt 8).

Wenn man Wissenschaftsgeschichte mit der Kunst der retrospektiven Prognose schildert, bei der man aus der heutigen Sicht vorschlägt, auf welches Los man letzte Woche am besten gesetzt hätte, ist man vielleicht erstaunt, wie vorsichtig AVERY bei der Interpretation seiner Befunde war und wie viele Kontrollen er und seine Mitarbeiter durchführten. War DNA wirklich das gesuchte, transformierende Prinzip oder waren vielleicht nicht erkannte „Verunreinigungen“ der DNA mit Proteinen für die Transformation maßgeblich? Das Avery-Team zeigte, dass DNAsen (DNA abbauende Enzyme) zur Zerstörung der transformierenden Substanz führten, Proteinasen (Protein abbauende Enzyme) hingegen nicht. War damit nicht der unwiderlegliche Beweis für die DNA als transformierende Substanz geführt? Diese Frage lässt sich besser beantworten, indem man sich ein Modell der Vererbung vorstellt, das heute längst widerlegt ist, aber zu AVERYS Zeit durchaus noch als mögliche Alternative gesehen wurde. Nehmen wir an, dass die DNA nicht das Erbmolekül selbst, sondern eine Substanz ist, die zu einer funktionell notwendigen Anheftung von Erbproteinen und zur Strukturierung des Chromatins benötigt wird. DNase könnte dann diese Struktur zerstören und damit das transformierende Prinzip. Auch das Ergebnis der Proteinase-Behandlung schloss die Bedeutung von Vererbungsproteinen damals nicht notwendig aus. Wie konnte man denn sicher sein, dass die verwendete Proteinase diese Vererbungsproteine tatsächlich zerstört? Vielleicht waren sie

---

<sup>75</sup> Ich beziehe mich hier vor allem auf die ausgezeichnete Darstellung von Rudolf HAUSMANN 1995.

<sup>76</sup> HAUSMANN 1995, DUNN 1951.

durch unbekannte Besonderheiten vor dem Verdau geschützt. Solche Überlegungen mögen demonstrieren, wie fragwürdig es ist, die Anfänge einer wissenschaftlichen Entwicklung, die zu einer großartigen Erkenntnis führt, vom Endpunkt aus beurteilen zu wollen.

Auch die Sicherheit der Experimente von *HERSHEY* und *CHASE* ist viel geringer, als man denken möchte. Als die Phagen ihre mit radioaktivem Phosphor markierte DNA in die Bakterienzellen injiziert hatten, hingen ihre mit radioaktivem Schwefel markierten Proteinhüllen immer noch an der Bakterienwand. Sie mussten von dort abgestreift werden. Das gelang *HERSHEY* und *CHASE* mit einem Küchenmixer (!). Man kann sich denken, dass so ein Mixer nicht gerade das Instrument ist, mit dem das Abstreifen der Phagenhüllen vollständig und mit großer Reproduzierbarkeit gelingt. So war es auch: Die Bakterienzellen zeigten zwar nach der Prozedur mit dem Küchenmixer eine deutliche Anreicherung des radioaktiven Phosphors im Vergleich zu dem von der Bakterienwand entfernten radioaktiven Schwefel, aber noch immer verblieb ein wesentlicher Teil dieses radioaktiven Schwefels an den Bakterien. Mit anderen Worten: Auch hier gab es Verunreinigungen, die die Aussagekraft der Schlussfolgerung in Frage stellten, dass die DNA und nicht Proteine die Information enthalten, die für die Herstellung infektiöser Phagenpartikel in den Bakterienzellen notwendig ist. Zudem enthielt auch die von den Phagen in die Bakterienzellen injizierte DNA noch Proteine, die an die DNA angeheftet sind. *HERSHEY* und *CHASE* fanden, dass die in ihrem Versuch neu gebildeten infektiösen Phagen eine deutliche weitere Anreicherung des radioaktiven Phosphors hatten und nur wenig radioaktiven Schwefel. Das war ein weiteres Indiz gegen die Proteinhypothese der Erbsubstanz, aber noch kein Beweis, der über jeden Zweifel erhaben gewesen wäre. *HERSHEY* und *CHASE* fanden bei ihrer Publikation mehr Unterstützung als *AVERY*. Der wichtigste Grund dafür ist wohl, dass *HERSHEY* ein führendes Mitglied einer einflussreichen Gruppe von Forschern war, die sich die Untersuchung der Phagengenetik auf ihre Fahnen geschrieben hatte. Zu dieser Gruppe gehörten auch der Biophysiker Max *DELBRÜCK* (1906–1981) und der Mediziner Salvador *LURIA* (1912–1991). Gemeinsam mit Alfred *HERSHEY* erhielten sie für ihre Phagenarbeiten 1969 den Nobelpreis für Medizin. Der Wind hatte sich 1952 gedreht. Die Phagengruppe war zur Überzeugung gelangt, dass die DNA der richtige Kandidat für das Verständnis der materiellen Grundlagen der Vererbung ist.

Um jedes Missverständnis über die Absicht meiner kritischen Betrachtung auszuschließen, möchte ich betonen, dass es mir nicht darum geht, an den bahnbrechenden Experimenten von *AVERY* und Mitarbeitern bzw. *HERSHEY* und *CHASE* herumzukritteln. Es ist eine außerordentlich schwierige Aufgabe, wissenschaftliche Arbeiten einer bestimmten Zeit im Kontext der damals vorhandenen Methoden zu beurteilen. Dazu gehört die Frage nach den Nachweisgrenzen, die den Forschern manchmal nicht bewusst sind. Für die Berechtigung der Schlussfolgerung von *AVERY* und Mitarbeitern ist entscheidend, ob die aufgereinigte DNA wirklich ausschließlich aus DNA bestand und ihre transformierende Wirkung deshalb ohne Zweifel auf die DNA zurückzuführen war. Vermutlich erfüllte ihre DNA-Fraktion diese Qualitätsanforderung, aber ich traue mir persönlich kein definitives Urteil zu. Der Chemiker Richard *WILLSTÄTTER* (1872–1942), der für seine Arbeiten zum Chlorophyll 1915 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet wurde, führte Anfang der 1920er Jahre Untersuchungen an dem Enzym Urease durch, das ganz zweifelsfrei ein Protein ist. Nach fortgesetzter Reinigung war mit den feinsten damaligen Methoden kein Protein mehr nachweisbar, aber die aufgereinigte Fraktion war nach wie vor enzymatisch aktiv. *WILLSTÄTTER* schloss daraus, dass dieses Enzym kein Protein ist.<sup>77</sup>

---

77 HAUSMANN 1995, S. 3–4.

Die Beurteilung einer Arbeit aus der Geschichte eines Faches ist mindestens ebenso schwierig wie ein Urteil zur wissenschaftlichen Qualität von aktuellen Publikationen. Es kann nur von Fachleuten gefällt werden, und auch sie können sich bei der Beurteilung von Ergebnissen irren, die auf neuen methodischen Entwicklungen basieren. Es ist wichtig zu sehen, dass wesentliche Fortschritte in der Grundlagenforschung lange brauchen und sich manchmal erst spät der besondere Wert einer wissenschaftlichen Arbeit herausstellt. Trotz aller dieser Probleme darf man feststellen, dass AVERY und seine Mitarbeiter den Nobelpreis verdient hätten. Zumindest AVERY hätte den Preis vermutlich auch bekommen, wenn er länger gelebt und den ebenfalls meist langsam arbeitenden Mühlen des Nobelpreiskomitees mehr Zeit gelassen hätte. Das große Los eines fundamentalen Beitrags zur Entwicklung der Naturwissenschaften, das jeder Naturwissenschaftler erhofft, hat er dennoch gezogen.

## 6.2 Vom Gen zum Genom

Nach einer Zellteilung befinden sich in jedem Zellkern der beiden Tochterzellen 46 Chromatiden mit insgesamt 2 m langen DNA-Fäden, die etwa 6 Milliarden Basenpaare (Guanin gepaart mit Cytosin und Adenin gepaart mit Thymin) enthalten (Abb. 3). In der Reihenfolge dieser Basenpaare ist die gesamte in der DNA kodierte Erbinformation festgelegt. Der Ausdruck der gesamten Basensequenz des diploiden menschlichen Genoms, das in jedem Zellkern vor der Replikation in der S-Phase enthalten ist, füllt eine Bibliothek mit 1000 Lehrbüchern. Nach der identischen Verdoppelung der DNA-Fäden im Verlauf der S-Phase (für DNA-Synthese-Phase) füllt der Ausdruck der gesamten Basensequenz beim Menschen und allen Säugetieren sogar 2000 Lehrbücher, die im Verlauf der Mitose wieder fehlerfrei auf die beiden Tochterzellen verteilt werden müssen. Die Gesamtlänge der DNA-Fäden beträgt nach der S-Phase 4 m oder 4 Millionen  $\mu\text{m}$ , die als Chromatin in einem Zellkern mit ca. 10  $\mu\text{m}$  Durchmesser in einer hoch geordneten Weise verpackt sind (Abb. 3, 7–9). Je nachdem von welchem Blickpunkt aus man die Genome verschiedener Menschen betrachtet, ist man beeindruckt vom Ausmaß der Ähnlichkeit oder vom Ausmaß der Unterschiede. Die Basensequenz der DNA bei zwei nichtverwandten Menschen (vom X- und Y-Chromosom einmal abgesehen) ist zu etwa 99,9% identisch. Im Durchschnitt ist also nur jedes tausendste Basenpaar verschieden. Auf Grund der Größe des diploiden menschlichen Genoms (ca. 6 Milliarden Basenpaare) liegt die Gesamtzahl dieser Unterschiede jedoch in der Größenordnung von 6 Millionen. In jüngster Zeit hat sich zur Überraschung der Genomforscher gezeigt, dass sich die Genome menschlicher Individuen dazu noch durch eine große Zahl von Verdoppelungen und Deletionen von DNA-Abschnitten unterscheiden.<sup>78</sup>

## 6.3 Vom Gen zum genetischen Code

Nach der 1953 geglückten Aufklärung der DNA-Struktur galt es, ein weiteres Rätsel zu lösen. Wie kann die im Zellkern enthaltene DNA-Information von der Zelle genutzt werden, um im Zytoplasma die Synthese vieler tausender Proteine zu bewirken? Wie wird die durch Basenreihenfolgen ausgedrückte DNA-Sprache in die durch Aminosäureabfolgen bestimmte Protein-Sprache übersetzt (Translation)? Für den dabei verwendeten genetischen Code interessierten sich auch Wissenschaftler, die während des Zweiten Weltkriegs an der Dechif-

---

78 REDON et al. 2006.

frierung verschlüsselter Botschaften gearbeitet hatten.<sup>79</sup> Aber alle Versuche, die bekannten Möglichkeiten auf das Problem der Dechiffrierung der in der DNA enthaltenen Botschaften anzuwenden, schlugen fehl. 1961 wiesen Marshall W. NIRENBERG (1927–2010) und J. Heinrich MATTHAI (geb. 1929) in einem biochemischen Schlüsselexperiment nach, dass der genetische Code völlig anders funktioniert, als Dechiffrierungsexperten es vermutet hatten. Jede Aminosäure wird durch eine Folge von drei DNA-Basen kodiert. Am Ende dieses Jahrzehnts war das Problem, wie die Reihenfolge der Aminosäuren eines bestimmten Proteins durch die Aufeinanderfolge von Basen in der DNA-Doppelhelix festgelegt wird, endgültig geklärt. Vier verschiedene DNA-Basen ermöglichen 64 Dreierkombinationen (Codons), also mehr als für die 20 Aminosäuren benötigt werden, aus denen tierische und pflanzliche Proteine aufgebaut sind. Es zeigte sich, dass für die meisten Aminosäuren mehrere Basentriplets kodieren. Eine spezifische Reihenfolge von Codons in einem Gen legt eine spezifische Reihenfolge von Aminosäuren in dem von diesem Gen kodierten Protein fest. Einige Codons dienen als Start- oder Stop-Signal bei der Translation. Computerprogramme können Abschnitte in DNA-Sequenzen definieren, die als Leserahmen (*open reading frame*, ORF) dienen. Dementsprechend erschien die Definition eines Gens als „an open reading frame (ORF) sequence pattern“ eine Zeit lang als praktikable Lösung. In dem bereits erwähnten Interview aus dem Jahr 2007 sagte Francis COLLINS: „Meine Antwort ist ziemlich klassisch – ein Gen ist ein gut definierter DNA-Abschnitt, der für ein Protein kodiert. Einige Gene kodieren auch für Proteinsegmente. Entscheidend für ein Gen ist das Vorkommen eines Exons. Es gibt auch Pseudogene, von denen eine RNA gebildet wird, die keine offensichtliche Funktion hat. Das sind Überbleibsel der Evolution.“<sup>80</sup> Inzwischen hat sich jedoch gezeigt, dass die von manchen Pseudogenen transkribierten kleinen RNA-Moleküle zwar keine verwertbare Information für die Bildung eines Proteins enthalten, aber stattdessen eine neue regulatorische Rolle gewonnen haben.<sup>81</sup>

#### 6.4 Split Genes

In den 1970er Jahren entdeckten Wissenschaftler, dass Gene bei Tieren und Pflanzen viel komplizierter aufgebaut sind als bei Bakterien. Während Transkriptionseinheiten bei Bakterien durchgängig für ein Protein kodieren, liegen die kodierenden Abschnitte in tierischen und pflanzlichen Zellen oft gestückelt vor („split genes“). Diese Abschnitte des Gens werden als Exons (Abkürzung für *expressed sequences*) bezeichnet, denn nur sie allein enthalten die Information für die Aminosäurereihenfolge des Proteins. Sie werden von sogenannten nicht kodierenden Introns (Abkürzung für *intervening sequences*) unterbrochen. Zunächst wird der gesamte DNA-Abschnitt mit allen Exons und Introns abgelesen. Dabei entsteht ein als Prä-mRNA bezeichnetes Primärtranskript, dessen Enden zunächst weiter modifiziert werden, bevor die Introns durch einen als Spleißen bezeichneten Prozess entfernt und die verbleibenden Exon-Abschnitte zur Boten-RNA (*messenger RNA*) verknüpft werden. Diese Boten-RNAs verlassen den Zellkern durch die Kernporen und wandern zu den molekularen Proteinfabriken der Zelle, den Ribosomen. Dort liefern sie, wie oben bereits erläutert, die Information, um

79 KAY 2001, S. 179–257.

80 „I have a pretty classic answer—a gene is a well-defined segment of DNA that encodes for a protein. Some genes also code for segments of proteins. The key thing is for a gene to have an exon. There are also pseudo-genes that encode RNA but have no apparent function. They are holdovers.“

81 GUO et al. 2009.

spezifische Proteine herzustellen. Entgegen der Ein-Gen-ein-Protein-Hypothese von BEADLE und TATUM kann ein einziges Gen infolge von unterschiedlichem Spleißen die Information für den Bau zahlreicher Proteine enthalten.

Für die Entdeckung der „split genes“ und des Spleißens der prä-mRNA wurden Richard J. ROBERTS (geb. 1943) und Phillip A. SHARP (geb. 1944) 1993 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet. Warum es zur Evolution von tierischen und pflanzlichen Genen mit Exon- und Intronabschnitten kam, mag verschiedene Gründe haben. Vielleicht erleichtert diese Struktur die Evolution weiterer Gene durch Neukombination von Exonabschnitten. Die Vermutung, dass Intronabschnitte einfach in ein Gen eingestreute, funktionell belanglose DNA-Schnipsel sind, hat sich nicht bestätigt. Die vergleichende Sequenzierung von verwandten Genen weit entfernter Spezies hat gezeigt, dass viele Intronabschnitte ebenso hoch konserviert sind wie Exonabschnitte, und es zeigt sich immer deutlicher, dass auch Introns und viele andere nicht-kodierende DNA-Abschnitte von fundamentaler Bedeutung für die Genregulation sind.

### 6.5 Auf dem Weg zu neuen Gendefinitionen: nicht alle Gene kodieren für Proteine

Die oben erläuterten Definitionen eines Gens führen zu Schwierigkeiten, die wir jetzt betrachten wollen: Als Thomas Hunt MORGAN und seine Mitarbeiter 1910 mit den Kreuzungsexperimenten begannen, die zu den ersten Genkarten bei der Fruchtfliege führten, glaubten sie, dass das gesamte Genom ausschließlich aus linear angeordneten Genen besteht. Heute wissen wir, dass die für Proteine kodierenden DNA-Abschnitte weniger als 2% der gesamten genomischen DNA einer jeden menschlichen Zelle ausmachen. Doch wird der größte Teil des Genoms transkribiert. Die Gesamtheit dieser transkribierten RNA nennt man das Transkriptom.<sup>82</sup> Darin sind viele RNA-Moleküle enthalten, die keine Information für ein Protein tragen und auch den Zellkern nicht verlassen. Das Genom ist offensichtlich mehr als die Summe seiner für Proteine kodierenden Gene. Was macht der große Rest? Eine Zeit lang schien es so, dass der größte Teil des menschlichen Genoms funktionell bedeutungslos ist, also gewissermaßen DNA-„Schrott“ repräsentiert, belanglose Überbleibsel aus der Evolution, die eine Funktion und damit evolutionäre Bedeutung längst verloren haben. Der englische Evolutionsbiologe Richard DAWKINS (geb. 1941) schlug einen Evolutionsmechanismus vor, bei dem es manchen DNA-Sequenzen gelingt, sich wie erfolgreiche Parasiten im Genom zu vermehren, ohne selbst etwas zu den Fortpflanzungschancen des betroffenen Organismus beizutragen, aber natürlich auch ohne diese Chancen wesentlich zu mindern.<sup>83</sup> Inzwischen wurde deutlich, dass die damals oft verwendete Metapher vom DNA-„Schrott“ unzutreffend ist. In DNA-Abschnitten zwischen den für Proteine kodierenden Genen steckt offenbar viel mehr an Information, als zunächst vermutet wurde.

Viele nicht-kodierende DNA-Abschnitte spielen eine Rolle bei der Genregulation. Dazu gehören die Promotoren, die meist unmittelbar vor den kodierenden DNA-Abschnitten liegen. Weitere DNA-Abschnitte, die als *Enhancer* bezeichnet werden, liegen mehr oder weniger weit vor oder nach einem kodierenden DNA-Abschnitt und sind ebenfalls für die Regulation der Transkription von DNA in RNA wichtig. Es sind Beispiele beobachtet worden, bei denen ein Enhancer die Regulation eines Gens beeinflusst, obwohl er mehrere hunderttausend Basenpaare von diesem Gen entfernt ist. Soll man solche, für die Genregulation wesentlichen

82 WU et al. 2009.

83 DAWKINS 1976, 1996.

DNA-Abschnitte in die Definition einbeziehen? Inzwischen wurden Beispiele für RNA-Moleküle gefunden, die von DNA-Abschnitten verschiedener Chromosomen abgeschrieben und vor dem Spleißen zusammengefügt werden.<sup>84</sup> Soll man zwei gut definierte DNA-Abschnitte, die auf zwei Chromosomen liegen und für ein Protein kodieren, als ein Gen akzeptieren?

Sehr viel folgenschwerer für unsere Vorstellung, was Gene sind, ist die Entdeckung von immer mehr DNA-Abschnitten, von denen RNA abgelesen wird, die jedoch nicht als Information zur Proteinsynthese dient, sondern unmittelbar regulatorische Funktionen im Zellkern erfüllt.<sup>85</sup> Manche dieser *Non-coding-RNA*-Abschnitte (ncRNAs) sind evolutionär hoch konserviert, d. h., sie kommen in Spezies vor, deren letzte gemeinsame Vorfahren vor hunderten Millionen Jahren oder vielleicht noch sehr viel länger zurückliegenden Zeiten lebten. Eine solche evolutionäre Konservierung ist ein starker Hinweis dafür, dass diese DNA-Abschnitte für das Überleben unverzichtbar sind. Soll man auch sie als Gene bezeichnen? Wenn man das tut, dann hat der Mensch viel mehr Gene als die etwa 25 000 DNA-Abschnitte, die im haploiden, menschlichen Genom die Information für alle menschlichen Proteine enthalten. Man könnte DNA-Einheiten mit der Information für Proteine als pGene und andere Abschnitte, die ausschließlich in funktionell wichtige RNA transkribiert werden, als rGene bezeichnen. Inzwischen wissen wir, dass RNA auch von repetitiven DNA-Abschnitten, sogar von konstitutivem Heterochromatin abgelesen werden kann, das bislang als klassische Insel einer Genfreien DNA gegolten hat. Wo macht man also Schluss?

Im September 2003 hat das *National Human Genome Research Institute* (NHGRI), das zu den berühmten *National Institutes of Health* (NIH) der USA gehört, das Forschungskonsortium ENCODE (*ENCyclopedia Of DNA Elements*) ins Leben gerufen. Im Jahr 2007 hat dieses Konsortium eine Charakterisierung von 1% des menschlichen Genoms publiziert. Zu dieser Charakterisierung wurden neue Hochdurchsatz-Technologie und Computerverfahren mit dem Ziel eingesetzt, alle funktionellen DNA-Elemente zu charakterisieren.<sup>86</sup> In einem Forschungsüberblick<sup>87</sup> haben an dem ENCODE-Projekt teilnehmende Wissenschaftler zunächst dargestellt, wie stark sich das Genkonzept im Verlauf des vergangenen Jahrhunderts verändert hat, und versucht, eine eigene „updated“ Definition des Gens zu formulieren: „A gene is a union of genomic sequences encoding a coherent set of potentially overlapping functional products.“ („Ein Gen ist ein Verbund genomischer Sequenzen, die für einen kohärenten Satz von möglicherweise funktionell überlappenden Produkten kodieren.“). Die Definition klingt kompliziert, und sie ist es auch. Ob sie den Test der Zeit besteht, wird die Zukunft erweisen. Betrachtet man die Frage „Was sind Gene?“ unter dem Gesichtspunkt aller von einem Zellzyklus zum nächsten und von einer Generation zur nächsten vererbaren Information, dann muss man sich dem Problem stellen, dass auch DNA-Abschnitte, von denen keine RNA transkribiert wird, funktionell wesentlich sein können, etwa für die Anordnung des Chromatins und die funktionelle Zellkernarchitektur insgesamt (Abschnitt 8). Der Nachweis einer biologischen Funktion eines DNA-Abschnitts kann schwierig sein, der Beweis, dass ein Abschnitt mit Sicherheit keine biologische Funktion erfüllt, ist noch sehr viel schwieriger. Viele bislang scheinbar funktionslose DNA-Abschnitte könnten eine für die zelltypspezifischen Funktionen des Genoms unverzichtbare, funktionelle Bedeutung haben. Da viele DNA-Abschnitte im Genom offenbar redundant

---

84 GERSTEIN et al. 2007.

85 MENDES SOARES und VALCARCEL 2006.

86 FEINGOLD et al. 2004.

87 GERSTEIN et al. 2007.

sind und sich gegenseitig ersetzen können, beweist auch die scheinbare Folgenlosigkeit ihrer Entfernung in „knock out“-Experimenten nicht, dass ein Abschnitt funktionell irrelevant ist. Versucht man also, den Genbegriff dahin zu erweitern, dass man alle funktionellen Einheiten im Genom als Gene betrachten möchte, dann steht man vor dem Problem, dass es bis heute unmöglich ist, die Zahl der Gene im menschlichen Genom genau zu benennen.

Nicht alle vererbte Information steckt in der im Chromatin verpackten DNA. Die Bildung einer funktionierenden Zellhülle beispielsweise ist auf DNA-kodierte Informationen zur Synthese von Lipiden für die Zellmembran und von Proteinrezeptoren angewiesen, die in die Zellmembran eingebettet sind, damit eine Zelle Signale von anderen Zellen empfangen kann, die durch bestimmte Moleküle vermittelt werden, die als Liganden an diese Rezeptoren binden. Aber muss im Genom auch eine komplette Anweisung enthalten sein, die festlegt, wie die neu synthetisierte Membran eine geschlossene Hülle um eine neu gebildete Zelle aufbaut? Offenbar nicht, denn die Mutterzelle hatte bereits ihre geschlossene Hülle, und die musste „nur“ ausreichend vergrößert werden, um eine Zellteilung zu gestatten, die zu entsprechend großen Tochterzellen führt. Dieses Beispiel mag dazu anregen, über die Informationen tragenden DNA-Moleküle im Kontext der Zelle und des Gesamtgehalts an Informationen nachzudenken, der bereits in einer einzigen Zelle steckt. Die Gesamtheit der Information, die für das Entstehen des Phänotyps eines Individuums notwendig ist, steckt im gesamten System (einschließlich der Umwelt). Einzelne Gene sind nicht Informationsträger, in denen alles an Information für ein bestimmtes Partikel des phänotypischen Mosaiks enthalten ist, wie es das Schema der Mendelschen Vererbung nahelegt (Abb. 1), und die unseren Phänotyp gestaltenden genetischen Einflüsse werden nicht einfach nur durch die Gesamtheit der für Proteine kodierenden Gene bestimmt.

## **7. Die genetische Bürde**

In der mendelistischen Perspektive macht es Sinn, von „guten“/„gesunden“ und „schlechten“/„kranken“ Genen zu sprechen. Durch Mutationen entstehen „schlechte Gene“ ständig neu. Durch Selektion werden sie ständig aus dem Genpool entfernt. Die Mendelisten gingen davon aus, dass es bei genügender Kenntnis möglich sein müsste, jedem Allel einen positiven oder negativen Selektionswert zuzuordnen, unabhängig von allen anderen Genen eines Individuums. Für jedes Gen sollte sich eine Reihenfolge der Allele aufstellen lassen, angefangen vom besten bis zum schlechtesten Allel. Die langfristig wirksame, positive Selektion von „guten Genen“ sollte zur Folge haben, dass an den meisten Genorten nur das am besten angepasste Allel zu finden ist. In der Konsequenz dieses Gedankengangs besteht der „optimale Genotyp“ ausschließlich aus solchen „besten“ Allelen. Die Summe aller im Genpool einer Bevölkerung vorhandenen „schlechten“ Allele stellt in dieser Perspektive die genetische Bürde dieser Bevölkerung dar. Da diese genetische Bürde Leid verursacht, wünscht man für sich und seine Nachkommen einen Genotyp, der möglichst nahe an dieses Optimum heranreicht, und wird empfänglich für eugenische Konzepte, die versprechen, dieses Optimum anzustreben und die genetische Bürde zu verringern.

Diese Sichtweise der genetischen Bürde hat Ernst MAYR (1904–2005) als die Sichtweise der klassischen Genetik bezeichnet und ihr die Sichtweise der „balance school“ gegenübergestellt, die von Theodosius DOBZHANSKY (1900–1975) und MAYR begründet wurde.<sup>88</sup> Nach

---

<sup>88</sup> MAYR 1982, S. 592. Vgl. auch MAYR 2002.

dieser Sicht gibt es so etwas wie das ein für allemal „beste“ Allel gar nicht. Die folgende Definition gibt die von DOBZHANSKY und MAYR begründete Sichtweise der genetischen Bürde wieder: „Alle natürlichen Populationen sind genetisch heterogen. Mutierte Gene mit deutlich nachteiligem Effekt sind ein Teil der genetischen Variabilität. Das gilt insbesondere für mutierte Gene, die in der Population erhalten werden, weil sie aus diesem oder jenem Grund die Fitness ihrer heterozygoten Träger erhöhen. Diese mutierten Gene werden kollektiv als ‚genetische Bürde‘ einer Population bezeichnet. Zu jeder Zeit bedeutete der Besitz von einer Vielfalt an Allelen innerhalb einer Population genetisches Leiden für verschiedene Mitglieder dieser Population. Auf weite Sicht befähigt das Vorhandensein von einer Vielfalt von Allelen innerhalb einer Population diese, adaptiv auf die sich ständig ändernde Umwelt zu reagieren. Die Möglichkeit zur Evolution bedarf der genetischen Bürde.“<sup>89</sup>

Die Humangenetiker gehen heute davon aus, dass die Variabilität des weltweiten menschlichen Genpools ein Schatz der Menschheit ist und dass die meisten Gene pleiotrope Wirkungen haben, d. h., sie beeinflussen den Phänotyp in vielfacher Weise. Wir sollten – bis zum Beweis des Gegenteils – davon ausgehen, dass jedes Allel vorteilhafte *und* nachteilige Auswirkungen haben kann. Zwar ist es möglich, dass die Häufigkeit eines nachteiligen Allels durch zufällige Ereignisse in einer Population zunimmt, vor allem dann, wenn eine zunächst sehr kleine Gruppe von Menschen zu einer großen Population angewachsen ist. Aber je häufiger ein Allel eines Gens mit noch unbekannter Funktion in einer Bevölkerung verbreitet ist, desto mehr drängt sich der Verdacht auf, dass sich dieses Allel aufgrund bestimmter, unbekannter Vorteile in der Population vermehrt hat. Wir kennen beispielsweise zahlreiche Mutationen, die zu Veränderungen des für den Sauerstoff- und Kohlendioxidtransport notwendigen Hämoglobins in den roten Blutkörperchen führen. Menschen, die eine solche Mutation von beiden Eltern erben, leiden unter schweren autosomal-rezessiven Erbkrankheiten (Beispiele: Sichelzellanämie, Thalassämie). Menschen, die das veränderte Gen nur in einer Kopie tragen, bleiben weitgehend gesund und haben den Vorteil einer natürlichen Resistenz gegen die Malaria, denn der Malariaparasit kann sich wesentlich schlechter in ihren roten Blutkörperchen vermehren. Dieser Überlebensvorteil war in manchen Gebieten mit endemischer Malaria so wichtig, dass das mutierte Gen bei den dort lebenden Menschen mit einer Häufigkeit von 10 % oder noch mehr vorkommt. Was nützen einem Kind zwei wunderschöne Gene für intaktes Globin  $\alpha$  oder  $\beta$ , wenn es an Malaria stirbt, während ein anderes Kind mit einem „defekten“ Gen überlebt. Man beachte, dass die Bezeichnung „defektes“ Gen hier volle Berechtigung hat, wenn man die Sache nur unter dem Gesichtspunkt einer optimalen Funktion von Hämoglobin für den lebenswichtigen Transport von Sauerstoff und Kohlendioxid im Blut betrachtet. Ganz anders sieht die Sache aus der Sicht des Überlebens aus. Eine eugenische Denkweise, die aus dem Nachweis einer nachteiligen Wirkung eines Allels folgert, dass dieses Allel am besten vollständig aus einer Population verschwinden würde, ist nicht nur wegen ihrer gefährlichen politischen Implikationen abzulehnen, sie wäre schon aus der Sicht eines Viehzüchters möglicherweise voreilig und dumm.

Ob die vorteilhaften oder die nachteiligen Auswirkungen eines Allels überwiegen, hängt einerseits von den Umweltbedingungen ab, unter denen ein Individuum lebt, und andererseits von den meist unüberschaubaren Beiträgen der Allele anderer Gene. Eine Kombination bestimmter Allele verschiedener Gene mag unter bestimmten Umweltbedingungen zu einer stark erhöhten Gefahr für den Ausbruch einer bestimmten Krankheit führen, aber unter an-

---

89 WALLACE 1974.



deren Umweltbedingungen kann dieses Risiko stark reduziert oder vernachlässigbar sein. Jede Veränderung der Umweltbedingungen hat zur Folge, dass sich auch die relativen Vor- und Nachteile bestimmter Allele und Allelkombinationen ändern. Selbst wenn wir herausfinden würden, dass eine bestimmte Kombination von Allelen nur Selektionsnachteile mit sich bringt, schließt das keineswegs aus, dass die fraglichen Allele für sich genommen und in einem anderen genomischen Kontext vorteilhaft sein können. Darum ist es gefährlich, bestimmte Allele auf Grund sehr begrenzter Informationen in den Topf der „guten“ Gene oder den Topf der „schlechten“ Gene einzusortieren. Die Bewertung der Vor- und Nachteile von Allelen, die bei der Entstehung komplexer, phänotypischer Merkmale und multifaktorieller Krankheiten eine Rolle spielen, ist ein äußerst schwieriges, von schwerwiegenden Irrtümern bedrohtes Unterfangen. Bevor wir eine Nutzen-Risiko-Abschätzung für irgendein Allel versuchen, die besser als der Wahrsagerblick in die Glaskugel begründet ist, müssen wir wissen, welche Vor- und Nachteile dieses Allel in verschiedenen genetischen Milieus (Genotypen verschiedener Menschen), unter unterschiedlichen Umweltbedingungen und während unterschiedlicher Lebensphasen haben kann. Wir sollten weiter wissen, wie lange das fragliche Allel schon im menschlichen Genpool oder vielleicht darüber hinaus bei anderen Primaten und Säugetieren existiert hat. Je verbreiteter und älter ein Allel ist, desto mehr Grund haben wir zu vermuten, dass dieses Allel einen wichtigen Selektionsvorteil gehabt hat und noch hat, selbst dann, wenn wir finden, dass dieses Allel in einem ungünstigen genetischen Kontext oder unter ungünstigen Umweltbedingungen das Erkrankungsrisiko für eine schwerwiegende Erkrankung erhöht.

Schauen wir uns als Beispiel für vorteilhafte und nachteilige pleiotrope Wirkungen von Genen bei einer multifaktoriellen Krankheit die Schizophrenie an. Ihr häufiges Vorkommen überall auf der Welt (ca. 1 % der Menschen in einer Population werden im Verlauf ihres Lebens von dieser Krankheit heimgesucht, gleichgültig in welcher Kultur sie aufwachsen) legt den Verdacht nahe, dass für diese Erkrankung disponierende Allele möglicherweise schon vor der Auswanderung des heutigen *Homo sapiens* aus Afrika vor etwa hunderttausend Jahren in seinem Genpool vorhanden waren und sich mit den Wanderungsbewegungen unserer Spezies über die ganze Welt verbreitet haben. Diese Allele hatten neben Nachteilen vermutlich auch wesentliche Vorteile. Dementsprechend wirkte die natürliche Selektion in beide Richtungen. Früh und schwer Erkrankte hatten geringere Fortpflanzungschancen. Bei Verwandten, deren Genom weniger disponierende Allele in einem anderen genetischen Kontext enthielt, überwogen möglicherweise Vorteile im Sinne von überlebensrelevanten phänotypischen Wirkungen dieser Allele. All das ist noch Spekulation. Wir wissen nicht, inwieweit nachteilige Neumutationen zur Häufigkeit der Schizophrenie beitragen. Als ein Resultat dieser Überlegungen sollten wir jedenfalls beherzigen, dass Prognosen nur Sinn machen, wenn man die Vorteile und die Nachteile von Allelkombinationen unter verschiedenen Umweltbedingungen tatsächlich kennt.

Betrachten wir abschließend einen weiteren schicksalhaften Prozess, dem sich niemand entziehen kann, das Altern. Wir alle sind Träger von pleiotropen Genen, die an genetisch bedingten Alterungsprozessen beteiligt sind. Solche Gene haben vorteilhafte Wirkungen in der Lebensphase, die für die Fortpflanzung eine Rolle spielt. Ihre nachteiligen Wirkungen machen sich dagegen erst in einem Alter bemerkbar, das für die Fortpflanzung (und damit für die Chancen der Gene eines Individuums, in den Genpool der zukünftigen Generationen zu gelangen) kaum mehr eine Rolle spielt. Selbst bei Lebewesen, die von ihrer genetischen Ausstattung beliebig lange leben und sich beliebig lange fortpflanzen könnten, ist die Le-

bensdauer praktisch begrenzt. Die vielen äußeren Ursachen, die das Leben eines Individuums jäh beenden können, würden auch für diese Lebewesen gelten. Im Spiel der Selektion hat das eine unvermeidbare Konsequenz: Gene, die die Chancen eines Organismus auf erhöhte Vermehrung in einer früheren Lebensphase erhöhen, werden von der Selektion auch dann bevorzugt, wenn diese Gene unvermeidbare spätere Nachteile haben, die den Tod aus inneren Ursachen unvermeidlich machen. Wenn diese Nachteile nur spät genug auftreten, dann kann die Selektion die positive Selektion solcher pleiotropen Gene nicht verhindern. Was hier früh oder spät ist, hängt von den Lebensumständen einer Spezies ab. Mäuse beispielsweise, denen die genetische Gabe ewigen Lebens verliehen würde, hätten auf Grund äußerer Todesursachen – dazu gehören Fressfeinde oder Verhungern und Erfrieren im Winter – keine Chance, viele Jahre alt zu werden. Gene, die solchen Mäusen zu mehr Nachkommenschaft im ersten Sommer ihres Lebens verhelfen, würden sich über kurz oder lang im Genpool anreichern, selbst dann wenn dieselben Gene nach vier oder fünf Jahren tödliche Nebenwirkungen entfalten würden. Dieses evolutionäre Spiel heißt antagonistische Pleiotropie. Es gilt für den Menschen ebenso wie für die Maus, auch wenn die Zeitskalen für das, was man als früh oder spät bezeichnen kann, bei Mensch und Maus verschieden sind. Wie soll man solche Gene mit antagonistischer Pleiotropie klassifizieren? Eine Klassifizierung entweder als „gesunde“ oder als „kranke“ Gene ist sinnlos. Ob man bei solchen Genen von „guten“ oder „schlechten“ Genen reden möchte, verrät einiges über unseren Blickwinkel. Dieser Blickwinkel kann sich im Verlauf des Lebens bei einem Menschen ändern, der über sich und sein weiteres Geschick reflektiert. Der Verfasser beispielsweise muss sich mit der Erkenntnis auseinandersetzen, dass er in seinem Lebensalter die früheren Vorteile seiner antagonistisch pleiotropen Alterungsgene bereits genutzt und überlebt hat. In Zukunft wird er wie andere alternde Menschen immer mehr mit ihren Nachteilen konfrontiert.<sup>90</sup> Gene haben vielfältige Auswirkungen auf ihre Träger. An Stelle unnützer Versuche schematischer Einteilungen kommt es darauf an, diese vielfältigen Auswirkungen von Genen im Kontext anderer Gene und im Kontext der gesamten Umwelt zu verstehen, die die Aktivität von Genen kurzfristig und langfristig beeinflussen.

Ich fasse die Überlegungen zur genetischen Bürde zusammen: Diese Bürde ist Teil der menschlichen Wirklichkeit, die wir zu akzeptieren haben. Die schematische Einteilung des menschlichen Genoms in „gesunde Gene/good genes“ und „kranke Gene/bad genes“ vereinfacht die komplexe Wirklichkeit genetischer Beiträge zur Entstehung komplexer Merkmale und Krankheiten in einer gefährlichen Weise. Sie perpetuiert in der Öffentlichkeit überholte mendelistische Vorstellungen und damit alte eugenische Erwartungen. Im schlimmsten Falle können daraus politische Antriebe für Maßnahmen erwachsen, die auf „Gesundung“ des Erbguts durch Entfernung der „kranken“ Gene mit erneut absehbar tragischen Folgen zielen. Diese Kategorisierung der Gene durch herausragende Wissenschaftler ist inakzeptabel, auch wenn sie mit guten didaktischen Absichten zur Vereinfachung erfolgt, denn sie leistet einem alten eugenischen Denken Vorschub, nach dem alle in einer Bevölkerung für bestimmte Krankheiten disponierenden Allele zu den „kranken“ Genen zu zählen sind. Sie fördert ein politisches Klima, in dem alte mendelistische Denkkonzepte mit den neuen, rasch weiter wachsenden Möglichkeiten einer umfassenden Diagnostik und punktuellen Manipulation des menschlichen Erbguts eine gefährliche Mischung eingehen.

Durch die Fortschritte der Gentechnologie ist es möglich geworden, einzelne defekte Gene durch intakte Gene zu ersetzen. Leider wird der Erfolg durch zwei Probleme noch stark

---

90 KLIER und CREMER 2007.

getrübt: Solche Gene werden in den Empfängerzellen nach einiger Zeit der transkriptionellen Aktivität oft abgeschaltet. Der unkontrollierte Einbau solcher Gene in das Genom von Zellen eines Patienten kann zu einer Krebserkrankung führen.<sup>91</sup> Bei bestimmten Mendelnden Erbkrankheiten wird eine solche Gentherapie in Zukunft, so hoffe ich, routinemäßig anwendbar sein und ein Segen für gesundheitlich schwer beeinträchtigte Menschen werden. Die Vision eines gezielten Austauschs zahlreicher Allele im Genom von Individuen mit Hilfe gentechnologischer Verfahren zur Verhütung von multifaktoriellen Krankheiten oder zur Verbesserung von komplexen Merkmalen wie Intelligenz ist eine Angelegenheit für *Science-Fiction*-Autoren. Nur wissenschaftliche Zauberlehrlinge, die nicht wissen, worauf sie sich einlassen, können meinen, solche Eingriffe in das Genom seien gefahrlos zu bewerkstelligen und das gewünschte Ergebnis sicher erreichbar.

## 8. Von der Genetik zur Epigenetik, vom Genom zum Epigenom

### 8.1 Von der Genetik zur Epigenetik

Wie ist es möglich, dass in dem 6 Milliarden Buchstaben umfassenden Buch des diploiden menschlichen Genoms jeweils die richtigen Seiten abgeschrieben werden, um als Boten-RNA nach dem Export aus dem Zellkern in das Zytoplasma die Synthese von Proteinen zu ermöglichen, die für die Funktion einer bestimmten Nervenzelle, einer Leber- und einer Nierenzelle in unserem Körper benötigt werden? Wenn wir die Gene einer jeden Zelle unseres Körpers mit den Spielern eines Orchesters vergleichen, können wir diese Frage so formulieren: Was versetzt das im Zellkern jeder Zelle vorhandene Genorchester in die Lage, die für einen bestimmten Zelltyp angemessene Genmusik hervorzubringen? Die Beantwortung dieser Frage gehört zu den großen Aufgaben biologischer Forschung im 21. Jahrhundert. Noch in der Mitte der 1990er Jahre erschien Genregulation im Wesentlichen eine Angelegenheit von Transkriptionsfaktoren, die direkt oder indirekt an den Promotor – so nennen wir den DNA-Abschnitt, der den Exon- und Intronabschnitten eines Gens vorangestellt ist – eines Gens binden. Hier gibt es beispielsweise eine als TATA-Box bezeichnete DNA-Sequenz, an die das TATA-bindende Protein TBP andocken kann. An das TBP lagern sich weitere Transkriptionsfaktoren an, die im Verein mit einer DNA-abhängigen RNA-Polymerase eine Transkriptionsmaschine aus Dutzenden Proteinen bilden.<sup>92</sup> In den letzten Jahren gab es beeindruckende Fortschritte in der Beschreibung des Aufbaus und der Funktion dieser<sup>93</sup> und weiterer Nanomaschinen, wie man sie auf Grund ihrer Dimensionen von etwa 20 – 40 nm bezeichnen kann, beispielsweise für die Weiterverarbeitung transkribierter RNA durch RNA-Spleißen<sup>94</sup>, für die DNA-Replikation<sup>95</sup> oder die DNA-Reparatur<sup>96</sup>. Auch Kernporen sind raffiniert gebaute Nanomaschinen für den geregelten Import und Export von Makromolekülen in den Zellkern hinein und aus dem Zellkern heraus<sup>97</sup>, ebenso wie die Ribosomen des Zytoplasmas, in denen die Translation der

91 DAVE et al. 2009.

92 WEINZIERL et al. 1993.

93 BRUECKNER et al. 2009, HAGER et al. 2009, SYDOW et al. 2009.

94 KIM et al. 2008, SWAMI 2009.

95 ALADJEM 2007, MULLARD 2008.

96 BRANZEI und FOIANI 2008, MISTELI und SOUTOGLOU 2009.

97 KOEHLER und HURT 2007.

Boten-RNA in die Proteine stattfindet.<sup>98</sup> Der Weg bis zum wirklichen Verständnis, wie alle diese Nanomaschinen im Detail funktionieren, erscheint noch weit. Wenn wir den Zellkern mit einer großen Fabrik vergleichen und verstehen wollen, wie diese Fabrik funktioniert, müssen wir auch Kenntnis von der Topographie dieser Maschinen haben: Wo werden sie gebildet, wo sind sie zu bestimmten Zeitpunkten aufgestellt, wie kann sich der Ort der Aufstellung unter verschiedenen Bedingungen verändern, wie werden sie an- und abgeschaltet, und wie wirken diese Maschinen im Gesamtsystem der Fabrik zusammen? Das ist kompliziert genug und gibt weiteren Forschergenerationen ausreichend Arbeit, aber Befunde der letzten zehn Jahre zeigen, dass es noch wesentlich komplizierter zugeht im Zellkern.

Ein zentrales Problem der Genregulation betrifft die Frage, wie Transkriptionsmaschinen an den richtigen Genorten aktiv werden und wie es gelingt, dass in jedem Zelltyp die Transkription der richtigen Gene zur richtigen Zeit angeschaltet und abgeschaltet wird. In diesem Abschnitt lernen wir einen neuen, tiefgreifenden Denkwechsel der Vererbungsforschung kennen. Zur klassischen auf DNA zentrierten Genetik der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts ist seit etwa zehn Jahren das neue Forschungsfeld der Epigenetik hinzugekommen. Bei der epigenetischen Genregulation geht es um genetisch präzise regulierte Änderungen der Chromatinverpackung des DNA-Fadens mit Hilfe der Histone und vieler anderer Proteine. Sie ist dafür verantwortlich, ob ein Gen mit Hilfe einer Transkriptionsmaschine transkribiert werden kann oder nicht. Dabei unterscheidet man „offene“ Chromatinkonfigurationen, die ein bestimmtes Gen für die Transkription zugänglich machen, von „geschlossenen“ Konfigurationen, die die Transkription verhindern (Abb. 5). Im Gegensatz zur aktuell wirksamen Genregulation durch Transkriptionsfaktoren, die mit dem Abbau dieser Faktoren beendet ist, geht es bei der epigenetischen Genregulation um langfristig andauernde Zustände der Chromatinverpackung des DNA-Fadens, die bei Bedarf durch viele Zellzyklus-Generationen der somatischen Zellen unseres Körpers hindurch vererbt werden können. Neuerdings mehren sich die Befunde, dass eine epigenetische Vererbung über Zellen der Keimbahn auch auf Kinder und sogar Enkel eines Individuums möglich ist (siehe unten). Diese neue Form vererbbarer, epigenetischer Veränderungen von Funktionszuständen des Chromatins beruht im Gegensatz zu herkömmlichen genetischen Veränderungen nicht auf einer Mutation der DNA-Sequenz.

Der Begriff Epigenetik wurde ursprünglich von Conrad Hal Waddington (1905–1975) geprägt. In seinem Buch *Principles of Embryology* (1956) fasste Waddington unter diesem Begriff alle Interaktionen von Genen mit ihrer Umwelt zusammen, die zur Ausprägung des Phänotyps beitragen („all those interactions of genes with their environment that bring the phenotype into being“).<sup>99</sup> Doch die molekularen Mechanismen dieser Interaktionen konnten mit den damaligen Methoden nicht untersucht werden. Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass mindestens drei miteinander interagierende Mechanismen – (a) DNA-Methylierung<sup>100</sup>, (b) Histonmodifikationen<sup>101</sup> und (c) Veränderung der Position von Nukleosomen<sup>102</sup> – für solche epigenetisch bedingten Zustände von Genen verantwortlich sind. Alle drei Mechanismen können durch Umweltfaktoren beeinflusst werden, sind jedoch einzeln und in ihrem Zusammenspiel genetisch präzise reguliert und führen zu Änderungen der Zugänglichkeit der im Chromatin verpackten DNA-Abschnitte für Transkriptionsmaschinen.

98 BECKER et al. 2009.

99 Waddington 1956, Müller-Wille und Rheinberger 2009.

100 Jones und Liang 2009, Martin und Suter 2008, Suzuki und Bird 2008.

101 Probst et al. 2009, Prokhortchouk und Defossez 2008.

102 Henikoff 2008.

- (a) Bei der DNA-Methylierung wird durch eine DNA-Methyltransferase eine Methylgruppe an die Base Cytosin gebunden. Dadurch entsteht aus dem Cytosin ein 5-Methylcytosin. Es kommt also nur zu einer Modifikation dieser Base und nicht zu einer Veränderung der DNA-Basensequenz. DNA-Methylierungen finden an vielen Stellen des Genoms statt. Zu einem zelltypspezifischen Genexpressionsmuster gehört ein zelltypspezifisches DNA-Methylierungsmuster. Ein solches Muster kann in den Zelltypen eines Organismus über viele Zellgenerationen und viele Jahre hinweg aufrechterhalten werden. Umwelteinflüsse, die auf bestimmte Körperzellen einwirken, können das DNA-Methylierungsmuster dieser Zellen ebenso langfristig verändern. Mit heutigen Methoden ist es möglich, DNA-Methylierungsmuster genomweit zu bestimmen. Dabei hat sich beispielsweise gezeigt, dass eineiige Zwillinge, die das gleiche Genom haben, im Lauf ihres Lebens wesentliche Unterschiede ihres genomweiten DNA-Methylierungsmusters entwickeln können.<sup>103</sup> Der DNA-Methylierungsprozess ist jedoch grundsätzlich reversibel, denn durch eine Demethylase kann die Methylgruppe wieder vom Cytosin entfernt werden.
- (b) Bei der Histonmodifikation werden bestimmte Aminosäuren der Histone (zur Erinnerung Histone sind die Bausteine der Nukleosomen, um die die DNA gewickelt ist; Abb. 3D, 5) in bestimmten Chromatinbereichen beispielsweise mittels Acetylgruppen und Methylgruppen modifiziert. Manche Epigenetiker sprechen von einem Histon-Code,<sup>104</sup> um die herausragende Bedeutung für die zelltypspezifische Genexpression zu unterstreichen, die Histonmodifikationen zusammen mit der DNA-Methylierung haben. Die Prozesse der DNA-Methylierung und Histonmodifikationen sind eng gekoppelt. Methylierte DNA-Abschnitte dienen als Anheftungsstellen für Proteine, die wiederum direkt oder indirekt Histonmodifikationen bewirken können und umgekehrt.<sup>105</sup> Ebenso wie die DNA-Methylierungsmuster sind auch die Muster der Histonmodifikationen zelltypspezifisch, und sie können ebenso wie DNA-Methylierungsmuster langfristig in Körperzellen aufrechterhalten werden und möglicherweise auch über Zellen der Keimbahn an Nachkommen weitergegeben werden.
- (c) Für lokale Veränderungen der Positionen von Nukleosomen sind Proteinmaschinen verantwortlich, die als Chromatinremodellierungskomplexe (*chromatin remodeling complexes*) bezeichnet werden<sup>106</sup>.

Nochmals sei betont: Die entscheidende Erweiterung gegenüber früheren und weiter gültigen Vorstellungen zur Genregulation betrifft die Vererbbarkeit eines epigenetischen Zustands des Chromatins von einer Zellgeneration zur nächsten, gegebenenfalls über viele Zellgenerationen hinweg. Während der S (= Synthese)-Phase des Zellzyklus geht es also nicht „nur“ um die fehlerfreie Verdoppelung des DNA-Fadens, sondern auch um die Wiederherstellung der epigenetischen Modifikationen des Chromatins, falls die Tochterzellen das Genexpressionsmuster der Mutterzellen beibehalten sollen, oder um genetisch gesteuerte Veränderungen dieser Chromatinmodifikationen, falls im Rahmen einer Zelldifferenzierung eine Änderung des Genexpressionsmusters in einer oder beiden Tochterzellen erreicht werden soll. Zum Begriff der Mutation ist der neue Begriff der Epimutation getreten. Dabei handelt es sich um dauerhafte Veränderungen der Chromatinverpackung an einem Genlocus. Epimutationen können

---

103 KAMINSKY et al. 2009.

104 STRAHL und ALLIS 2000, JENUWEIN und ALLIS 2001.

105 CEDAR und BERGMAN 2009.

106 YOO und CRABTREE 2009.

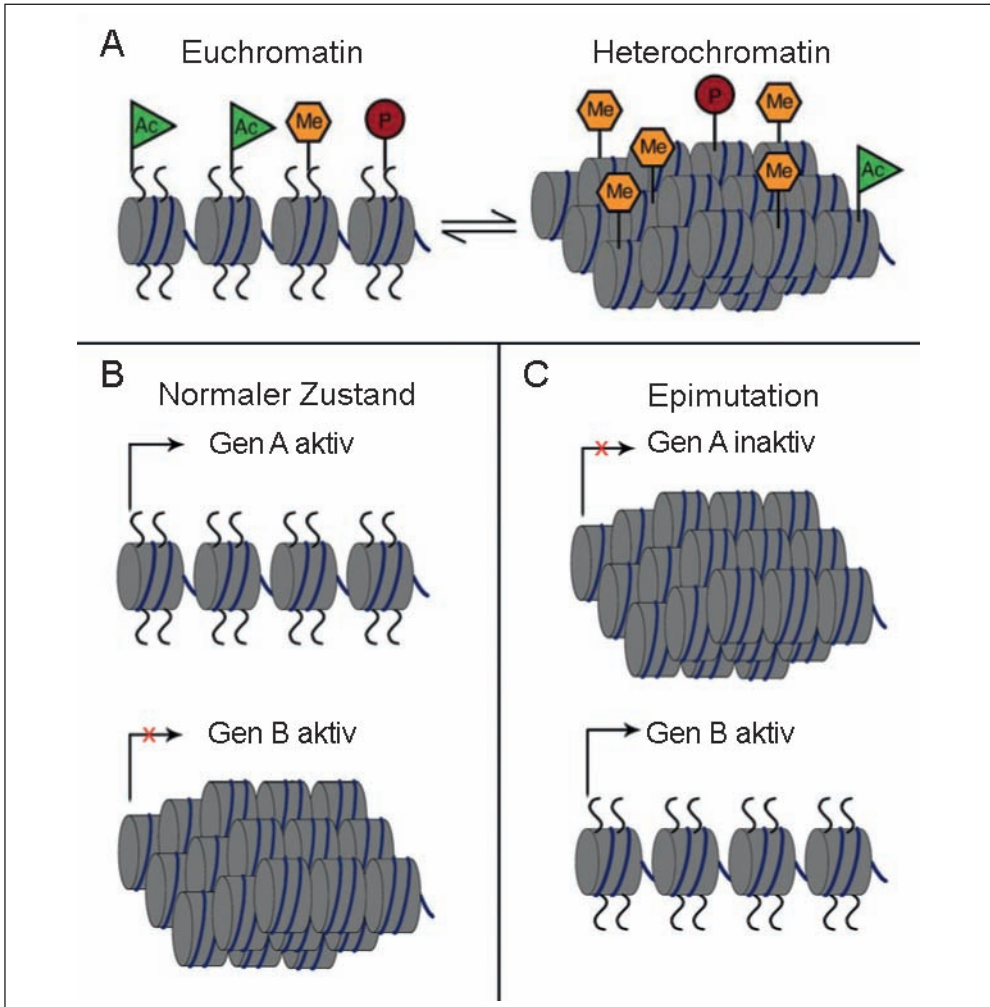


Abb. 5 Epigenetische Zustände des Chromatins.<sup>107</sup> (A) Die grauen Zylinder repräsentieren Nucleosomen, die aus acht evolutionär hochkonservierten Proteinen, den Histonen, aufgebaut sind: je zwei Histone H2A, H2B, H3 und H4. Diese und weitere Histone, die außerhalb der Nucleosomen liegen, spielen eine entscheidende Rolle bei der Genregulation. Der blaue Faden repräsentiert den um die Nucleosomen gewickelten DNA-Faden (vgl. Abb. 3D). Wie alle Proteine haben auch die Histone ein kohlenstoffhaltiges Carboxyl-Ende und ein stickstoffhaltiges Amino-Ende. Die feinen S-förmig gebogenen Fädchen repräsentieren einen Schwanz von Aminosäuren am Amino-Ende der Histone. Hier vor allem finden Modifikationen mit Acetylgruppen (Ac), Methylgruppen (Me) und Phosphatgruppen (P) statt. Ac-Modifikationen sind typisch für den als Euchromatin bezeichneten „offenen“ zur Transkription geeigneten Zustand des Chromatins. Me-Modifikationen charakterisieren den als Heterochromatin bezeichneten „geschlossenen“, zur Transkription ungeeigneten Zustand des Chromatins. Durch eine präzise regulierte Anlagerung oder auch Entfernung von Methyl- oder Acetylgruppen an bestimmte Aminosäuren der Histone kann die Chromatinverpackung bestimmter Gene im Zellkern gezielt verändert werden. Davon hängt ab, ob das betreffende Gen transkribiert werden kann oder ob es vorübergehend oder dauerhaft abgeschaltet ist. (B) Normaler Zustand zweier Gene in einem bestimmten Zelltyp. Die Chromatinkonfiguration von Gen A ist „offen“. Dieses Gen kann transkribiert werden. Die Chroma-

107 Abbildung modifiziert nach JENUWEIN und ALLIS 2001.

zu einer pathologischen, dauerhaften Abschaltung oder auch Anschaltung betroffener Gene führen, obwohl deren DNA-Basensequenz unverändert bleibt.<sup>108</sup> Die epigenetische Modifikation an einem bestimmten Genlocus auf den Chromosomen nennen wir den Epigenotyp; alternative Chromatinmodifikationen eines Locus bezeichnen wir als Epiallele.

Bei vielen bedeutenden Entdeckungen rücken Phänomene in den Brennpunkt der Forschung, die schon früher aufgefallen waren, aber zunächst unerklärbar blieben, weil ihre weitere Erforschung mit den methodischen Mitteln der Zeit nicht möglich war und/oder weil sie nicht in den zeitbedingten Denkrahmen der Forschung passten. Das von Richard GOLDSCHMIDT (1878–1958) in den 1930er Jahren entdeckte Phänomen der Phänokopie ist ein mögliches Beispiel für Epimutationen bestimmter Gene, die gleiche phänotypische Auswirkungen haben wie DNA-Mutationen. GOLDSCHMIDT, einer der bedeutenden Genetiker des 20. Jahrhunderts, wurde während der Gewaltherrschaft des Nationalsozialismus wegen seiner jüdischen Abstammung zur Emigration in die USA gezwungen. Er setzte Fruchtfliegen-Larven zu bestimmten kritischen Zeitpunkten der Entwicklung einem Hitzeschock aus und fand an den Fliegen, die aus diesen Larven schlüpfen, phänotypische Veränderungen. Überraschend für GOLDSCHMIDT – und für die Mendelisten in GOLDSCHMIDTS Zeit – war allerdings nicht, dass der Entwicklungsprozess durch einen Eingriff während des Larvenstadiums so dauerhaft gestört werden kann, dass die entstehende Fliege einen abnormen Phänotyp aufweist, sondern die Entdeckung, dass dieser Phänotyp vollständig mit dem Phänotyp von Fliegen mit bekannten Mutationen übereinstimmte. Im Gegensatz zu Genmutationen waren diese Phänokopien

---

tinkonfiguration von Gen B dagegen ist „geschlossen“. Dieses Gen ist inaktiv. (C) Als Folge von Epimutationen hat sich die Chromatinkonfiguration der beiden Gene dauerhaft so verändert, dass Gen A inaktiv und Gen B transkriptionell aktiv geworden ist. Man beachte, dass die DNA-Sequenz der beiden Gene nicht verändert ist. Epimutationen des Chromatins können ebenso wie klassische DNA-Mutationen schwerwiegende Krankheiten auslösen. Ein Beispiel dafür sind Krebserkrankungen als Folge einer Inaktivität von Tumorsuppressorgenen, deren funktioneller Ausfall sowohl durch eine Mutation als auch durch eine Epimutation bedingt sein kann. Der epigenetische Mechanismus wird in dieser Abbildung in massiv vereinfachter Weise dargestellt. Zur didaktischen Vereinfachung wurden wesentliche weitere epigenetische Prozesse, wie DNA-Methylierung und Chromatinremodellierung, nicht berücksichtigt (siehe dazu den Text). Die hier dargestellte Konfiguration eines transkriptionell aktiven Gens mit „offenem“ Euchromatin als 10 nm dicke Chromatinfiber und eines inaktiven Gens mit „geschlossenem“ Heterochromatin als 30 nm dicke Chromatinfiber ist weitgehend spekulativ. Aus methodischen Gründen war es noch nicht möglich, die tatsächliche Chromatinkonfiguration von aktiven und inaktiven Genen in lebenden Zellen sichtbar zu machen. Neue fluoreszenzmikroskopische Verfahren haben die Auflösung des Lichtmikroskops wesentlich verbessert. Sie sind bislang aber weitgehend auf die Untersuchung fixierter Zellen beschränkt.<sup>109</sup> Daran knüpfen sich Hoffnungen einer zukünftigen Lebendzellmikroskopie mit einer Auflösung im Nanometerbereich (lichtoptische Nanoskopie). Im Verein mit neuen Möglichkeiten der dreidimensionalen Elektronenmikroskopie von Zellkernen<sup>110</sup> erwarten wir, dass in naher Zukunft Untersuchungen zur Struktur des Chromatins und zur Topographie von Genen und Transkriptionsmaschinen direkt im Zellkern möglich werden (vgl. dazu Abb. 9). Schematische Abbildungen versuchen, Lesern Daten und Schlussfolgerungen plausibel zu machen. Didaktisch gelungene Schemata geben einem Leser, der über keine tiefe Kenntnis der Grenzen der verwendeten Methoden verfügt, einen Eindruck von Wahrscheinlichkeit, der darüber hinwegtäuscht, wie weit man von einer gesicherten wissenschaftlichen Tatsache noch entfernt ist. Jeder Laie ist darum auf die Bereitschaft der Fachleute angewiesen, die Grenzen ihrer Methoden deutlich zu machen. Doch gelingt es selbst Fachleuten, die sich um kritische Darstellung bemühen, oft nicht, die Grenzen ihrer Methoden richtig einzuschätzen.

---

108 CROPLEY et al. 2009.

109 GUNKEL et al. 2009, HELL 2007.

110 ROUQUETTE et al. 2009.

meist nicht erblich,<sup>111</sup> aber Epimutationen können natürlich ausschließlich somatische Zellen betreffen. Zur Erklärung der Phänokopien schlug GOLDSCHMIDT vor, dass „der Temperaturreiz in bestimmter Weise in genbedingte Entwicklungsabläufe eingreift und sie so verschiebt, wie sonst ein mutiertes Gen den gleichen Ablauf verschiebt.“ ... „Es erscheint nach alledem sicher, dass die Erzeugung der Phänokopie das Resultat der induzierten Verschiebung in der Geschwindigkeit einzelner Reaktionsabläufe gegenüber dem geordneten System der anderen Reaktionsabläufe ist, Abläufe, deren geordnetes, abgestimmtes Zusammenspiel für die Entwicklung des Normaltypus unerlässlich ist.“ GOLDSCHMIDT dachte bereits über komplexe Netzwerke von abhängigen Genwirkungen nach, und er erkannte, dass man, um die Physiologie von Genwirkungen zu verstehen, herausfinden muss, wie zahlreiche Gene bei den vielfältigen, voneinander abhängigen „Determinationsreaktionen“ zusammenwirken.

GOLDSCHMIDTS Untersuchungen führten zu Ergebnissen, die sich in den damals herrschenden Denkrahen der Mendelschen Vererbungslehre nicht recht einordnen ließen. Dass Eingriffe in die Entwicklung der Fliegenlarven durch einen Hitzeschock zu Kopien des Phänotyps bekannter Genmutationen führen können, war in diesem Denkrahen ein völlig unerwartetes Ergebnis. In seiner Autobiographie schreibt GOLDSCHMIDT von seinem 1932 mit dem englischen Humangenetiker J. S. B. HALDANE (1892–1964) geführten Gespräch, in dem er dem berühmten Kollegen erläuterte, er könne mit Hilfe von Temperaturschocks „in Abhängigkeit von der Zeit, von der genetischen Grundlage und von der Art der Schocks nicht-erbliche Kopien nahezu aller bekannten Mutanten erzeugen. [...] Haldane hielt das aber für nicht gut möglich, woraufhin ich den Versuch nun auf breiterer Grundlage wiederholte.“<sup>112</sup> Erst die Entdeckung epigenetischer Mechanismen hat das Tor zum Verständnis geöffnet, wie Umwelteinflüsse zur dauerhaften Abschaltung oder auch Aktivierung von Genen führen können, die nichts mit Mutationen zu tun haben.

## 8.2 Vom Genom zum Epigenom

Das diploide Genom eines Menschen ist – von Ausnahmen abgesehen, bei denen es in einer Körperzelle zu einer DNA-Mutation (somatische Mutation im Gegensatz zur Keimbahnmutation) oder zu einer Fehlverteilung von Chromosomen während der Mitose kommt – in allen seinen Körperzellen gleich. Als Epigenom bezeichnen wir die oben beschriebenen epigenetischen Muster des gesamten Chromatins eines Zelltyps zu einem bestimmten Zeitpunkt.<sup>113</sup> Bei einem Menschen haben wir es mit hunderten Zelltypen zu tun, die die verschiedensten Funktionen in unserem Körper erfüllen, der bei einem Erwachsenen aus mehreren Billionen Zellen besteht. Dementsprechend gibt es abhängig von der zeitlichen Stabilität des epigenetischen Musters in verschiedenen Zelltypen in unserem Körper hunderte oder tausende zelltypspezifische Epigenome. Das Ziel, die molekularen, epigenetischen Mechanismen, die im Verlauf der Entwicklung die richtige, langfristige Chromatinverpackung aller DNA-Abschnitte des Genoms bestimmter Zelltypen bewirken und gegebenenfalls auch für weitere Veränderungen dieser dynamischen Verpackung im Lebenszyklus einer Zelle erforderlich sind, vollständig zu verstehen, liegt noch in weiter Ferne. Aber schon jetzt zeichnet sich ab, dass auch das Verständnis dieser Chromatinsprache nicht ausreicht, um zu verstehen, wie die Aktivität tau-

---

111 GOLDSCHMIDT 1935.

112 GOLDSCHMIDT 1959.

113 JOHANNES et al. 2008.



sender Gene in einer zelltypspezifischen Weise reguliert wird. Um den zelltypspezifischen Zustand des Chromatins einer Zelle vollständig zu beschreiben, müssen wir nicht nur alle epigenetischen Modifikationen kennen, sondern auch die zelltypspezifischen Besonderheiten der Chromatinanordnung und der Zellkernorganisation insgesamt, denn davon wiederum hängt vermutlich die Anordnung und Wirksamkeit der komplizierten „Proteinmaschinen“ für die Replikation, die Transkription und die Reparatur der DNA ab. Aus diesem Grund erweitern wir den Begriff Epigenom und verstehen darunter die strukturellen und funktionellen Besonderheiten der lokalen Chromatinverpackung und der räumlichen Anordnung des Chromatins. Epigenomforschung hat das Ziel, sowohl raum-zeitliche Veränderungen der Chromatinverpackung als auch funktionell bedeutsame Veränderungen der Chromatinanordnung während des Lebenszyklus einer Zelle zu beschreiben und die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen aufzuklären, die für die spezifische Regulation tausender Gene und einer riesigen Zahl weiterer für die Genregulation benötigter DNA-Abschnitte erforderlich sind (Abb. 6). Zur Epigenetik tritt als weiteres Arbeitsgebiet die Erforschung der funktionellen Zellkernarchitektur (Abb. 7–9).<sup>114</sup> Wir möchten die Bedeutung der dynamischen Topographie

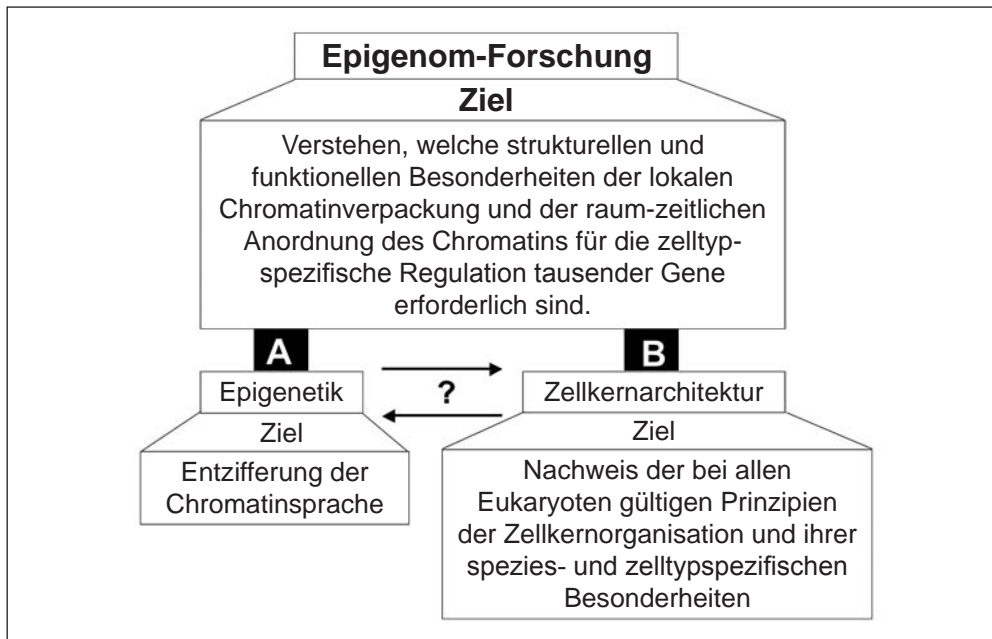


Abb. 6 Epigenomik = Epigenetik und Zellkernarchitektur. Epigenomforschung (Epigenomik) basiert auf zwei Säulen, der Epigenetik und der Erforschung der Zellkernarchitektur. Das Fragezeichen soll betonen, dass die strukturellen und funktionellen Zusammenhänge zwischen Epigenetik und Zellkernarchitektur nicht geklärt sind. Das Epigenom einer Zelle, beispielsweise einer Stammzelle, verändert sich im Verlauf der Zellgenerationen und in postmitotischen Zellen während und nach ihrer terminalen Differenzierung. Ein Mensch ist demnach Träger eines einzigen, in der ganz überwiegenden Mehrheit seiner Zellen lebenslang konstanten Genoms und gleichzeitig Träger von vielfältigen, zelltypspezifischen Epigenomen.

114 CREMER et al. 2000, CREMER und CREMER 2001, LANCTOT et al. 2007.

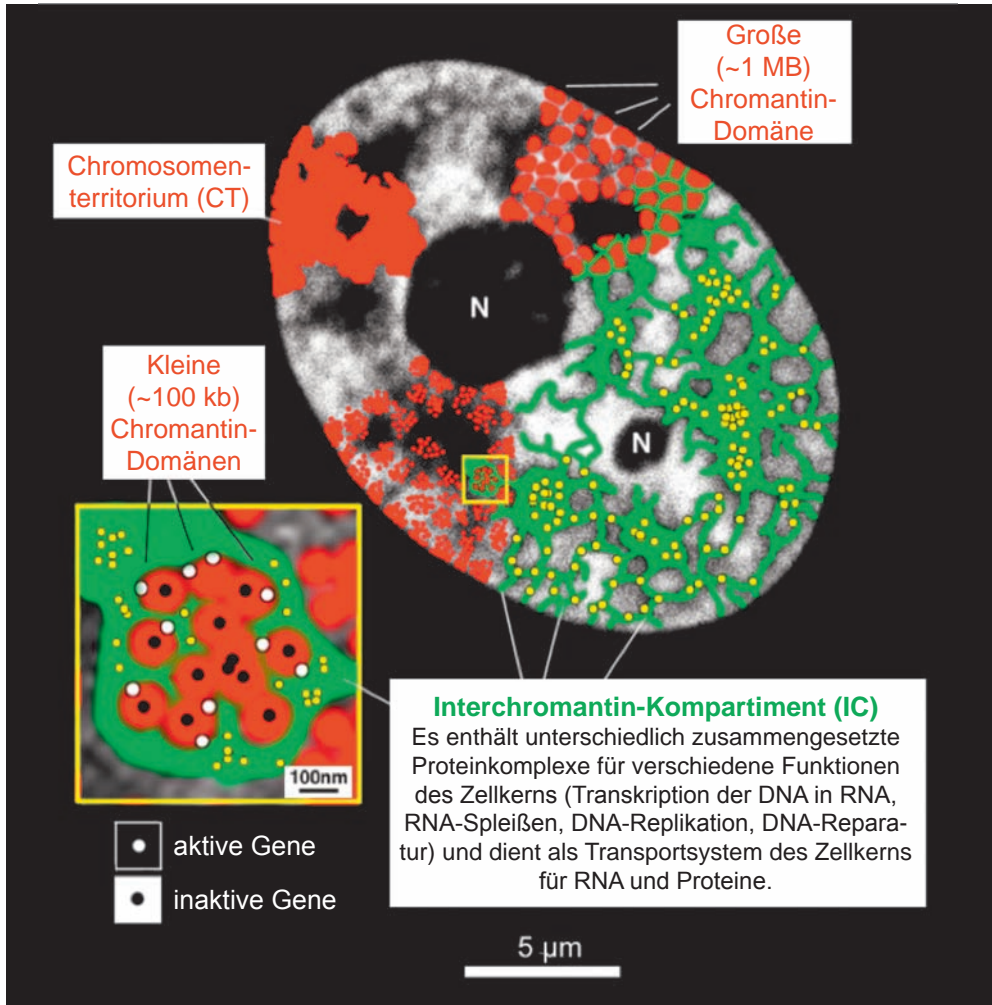


Abb. 7 Chromosomenterritorien-Interchromatinkompartiment(CT-IC)-Modell des Zellkerns.<sup>115</sup> Die Kernhülle wird von Kernporen durchsetzt, durch die der Austausch von Molekülen zwischen dem Zellkerninneren und dem umgebenden Zelleib (Zytoplasma) erfolgt. An der Innenseite der Kernhülle liegt die Lamina, eine filamentöse Proteinschicht, an die das Chromatin angeheftet ist (hier nicht dargestellt). Eine Störung dieser Anheftung führt zu schweren Krankheitsbildern, z. B. zu vorzeitigem Altern (Hutchinson-Gilford-Syndrom). Jedes Chromosom nimmt im Zellkern einen bestimmten Bereich ein, der als Chromosomenterritorium (CT) bezeichnet wird und aus größeren und kleineren Chromatindomänen aufgebaut ist.<sup>116</sup> Im Inneren des Zellkerns breitet sich ein dreidimensionales Kanalsystem aus (Interchromatinkompartiment, IC). Es beginnt an den Kernporen und erstreckt sich zwischen den Chromosomenterritorien und in die einzelnen Territorien hinein. Das Interchromatinkompartiment enthält eine Vielzahl von Kernkörperchen, deren Funktion erst teilweise entschlüsselt wurde, sowie weitere Proteinkomplexe, die für unterschiedliche Funktionen des Zellkerns, wie Gentranskription, RNA-Spleißen, DNA-Replikation und DNA-Reparatur, benötigt werden. Das Interchromatinkompartiment spielt eine wichtige Rolle für den Import von Proteinen aus dem Zytoplasma und den Export der von den Genen abgelesenen RNA (Boten-RNA) in das Zytoplasma. Dieser Import und Export erfolgt durch die Kernporen.

<sup>115</sup> CREMER et al. 1993, 2000, CREMER und CREMER 2001, LANCTOT et al. 2007.

<sup>116</sup> CREMER und CREMER 2006a, b, 2010, LIEBERMAN-AIDEN et al. 2009.



Abb. 8 Der Zellkern als Stadt. Wenn man den Zellkern mit einer mittelalterlichen Stadt vergleicht, entsprechen die Stadtmauer und die Stadttore (zwei Tore sind mit Pfeilen gekennzeichnet) der Kernhülle und den Kernporen, einzelne Stadtbezirke den Chromosomenterritorien, einzelne Häuserkomplexe den Chromatindomänen und einzelne Häuser den Genen. Das Straßensystem, das das Innere der Stadt mit den Toren verbindet, repräsentiert das Interchromatinkompartiment. Einzelne Personen in den Straßen entsprechen einzelnen Makromolekülen (RNA oder

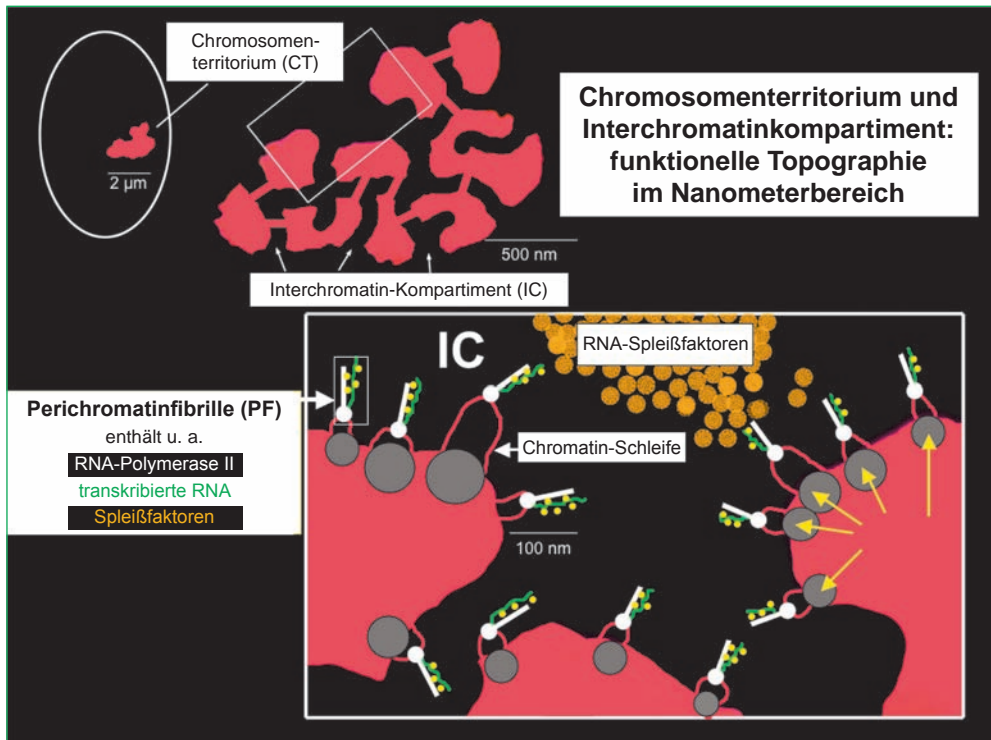


Abb. 9 CT-IC-Modell der Zellkernarchitektur: funktionelle Topographie der Transkription. Das Schema zeigt links oben einen Zellkern, in dem nur 1 Chromosomenterritorium (CT) dargestellt ist. Rechts daneben ist dieses CT vergrößert als komplex gefaltete Struktur aus Chromatindomänen mit dem dazwischen liegenden Interchromatin-Kompartiment (IC) dargestellt (vgl. Abb. 7 und 8). Der durch eine weiße Box gekennzeichnete Bereich wird darunter schematisch mit einer Auflösung im Nanometerbereich gezeigt (1 nm entspricht dem millionsten Teil eines Millimeters). Da die Grenze der bislang möglichen, lateralen lichtmikroskopischen Auflösung bei etwa 250 nm und der axialen Auflösung bei etwa 800 nm lag, war der Vorstoß in diesen „ultrastrukturellen“ Auflösungs-bereich bis vor kurzem nur mit dem Elektronenmikroskop möglich. Neue Entwicklungen der Fluoreszenzmikroskopie mit Hilfe von Laserlicht (lichtoptische Nanoskopie) haben die von Ernst ABBE beschriebene Auflösungsgrenze der herkömmlichen Lichtmikroskopie (Abbe-Limit) durchbrochen (HELL 2007). Es ist heute möglich geworden, die Position einzelner an Fluoreszenzfarbstoffe gekoppelter Makromoleküle mit einer Lokalisationsgenauigkeit im unteren Nanometerbereich sichtbar zu machen (GUNKEL et al. 2009). Diese Entwicklung leitet zurzeit eine wissenschaftliche Revolution der bildgebenden Verfahren in der Zell- und Entwicklungsbiologie ein.

Protein). Gruppen von Personen, Wagen usw. in den Straßen und Gassen repräsentieren Spleißkörperchen (*splicing speckles*) und andere Kernkörperchen (*nuclear bodies*), deren Funktionen erst teilweise aufgeklärt sind, sowie weitere Komplexe von Makromolekülen, die für die Funktionen des Zellkerns wesentlich sind. Viele funktionelle Interaktionen spielen sich auf den zwischen Straßen und Häusern angelegten Bürgersteigen (Perichromatinregion) ab. Die unmittelbar an Straßen und Gassen angrenzenden Häuser entsprechen aktiven Genen in der Vorbereitung auf die Transkription oder im Zustand der Bildung von RNA. Helle Kreise in einem rot markierten Stadtbezirk zeigen die durch das CT-IC-Modell (Abb. 7) postulierte Position aktiver Gene in der Perichromatinregion (vgl. Abb. 9). Häuser im Inneren von Häuserkomplexen ohne direkten Anschluss an das Straßensystem repräsentieren dauerhaft inaktive Gene. Im Gegensatz zur Topographie einer Stadt, ist die Anordnung der Komponenten eines Zellkerns je nach Funktionszustand veränderbar (siehe dazu LANCTOT et al. 2007).

von Chromatin und Nanomaschinen für die allgemeinen und zelltypspezifischen Funktionen des Zellkerns verstehen. Dazu gehört die Analyse der bei allen Zellen mit einem Zellkern (das sind die Eukaryoten, deren Spanne einzellige und vielzellige Lebewesen umfasst) gültigen Prinzipien der Zellkernorganisation und ihrer spezies- und zelltypspezifischen Besonderheiten.

## 9. Erweiterung des Denkrahmens der Vererbungsforschung im 21. Jahrhundert

Die bahnbrechende Entwicklung der Epigenetik hat den Denkrahmens der Vererbung in den letzten Jahren erweitert und zu einem wesentlich komplexeren Bild von Genotyp-Phänotyp-Beziehungen geführt (Abb. 10). Phänotypische Merkmale (*rechte Seite*) entstehen im Rahmen von Interaktionen eines Netzwerks aus genetischen Einflüssen (*linke Seite*) und epigenetischen Einflüssen (*oben*), die ständig durch Umwelteinflüsse (*unten*) moduliert werden. Im üblichen anthropomorphen Verständnis gehört zur Umwelt alles, was um einzelne menschliche Individuen herum vorgegeben ist. Wir existieren in einer Umwelt, in der Mikroorganismen, tierische und pflanzliche Lebewesen und andere Menschen uns ebenso umgeben wie die Vielfalt der nichtlebendigen Natur, bis hin zu den Weiten des Kosmos. Der Umweltbegriff, den ich hier verwende, ist jedoch sehr viel weiter gefasst. Schon jedes Gen im Zellkern hat als Umgebung ein zelltypisch modifiziertes Chromatin, jede Zelle existiert in der Umwelt anderer, gleicher und verschiedener Zelltypen, mit denen sie ein Gewebe bildet, die Umwelt dieses Gewebes ist das aus verschiedenen Geweben aufgebaute Organ, das wiederum in der Umwelt der anderen Organe des Körpers existiert.

Für ein besseres Verständnis der komplexen Regulationsvorgänge, die in unserem Körper in allen den untrennbaren Stadien unserer eigenen Existenz abgelaufen sind und soeben ablaufen, ist es erforderlich, die Wechselwirkungen dieser körperinternen und körperexternen Umwelten mit den Mechanismen der Steuerung von Genaktivitäten von der DNA-Sequenz über die Chromatinstruktur bis zur funktionellen Architektur des Zellkerns insgesamt zu verstehen. Das Fragezeichen in der Mitte des Schemas besagt, dass wir von einem Verständnis dieser interagierenden Netzwerke weit entfernt sind.

Dominante und rezessive Mendelsche Erbkrankheiten unterscheiden sich von multifaktoriellen Krankheiten dadurch, dass das Vorkommen eines mutierten Gens in einer bzw. zwei Kopien für das Auftreten der Krankheit genügt. Mendelsche Erbkrankheiten haben dadurch den Eindruck einer im eigentlichen Sinn deterministischen Wirkung von Genen erweckt, die unabhängig von irgendwelchen Umwelteinflüssen erfolgt (Abb. 1), so wie bei bestimmten Kreuzungsexperimenten MENDELS nur gelbe oder nur grüne oder gelbe und grüne Erbsen in bestimmten statistisch vorhersagbaren Anteilen zu erwarten sind, ganz gleich ob die Pflanzen mehr oder weniger gedüngt und gewässert werden. Die konzeptionelle Generalisierung solcher Beispiele hat zur heute unhaltbaren Vorstellung geführt, man könne die Allele der menschlichen Gene generell in gute, gesunde und schlechte, kranke Allele einteilen. Nicht nur die Analyse der Ursachenbündel für multifaktorielle Krankheiten, sondern auch die genauere Analyse Mendelscher Erbkrankheiten hat diese Vorstellung erschüttert. Auch bei vielen Mendelschen Erbkrankheiten können der Zeitpunkt der Krankheitsentstehung, Vorkommen und Schweregrad einzelner Symptome von Allelen weiterer Gene, von Umwelteinflüssen und epigenetischen Mechanismen wesentlich beeinflusst werden.

Dass epigenetische Einflüsse sich langfristig auf Krankheitsrisiken eines Individuums auswirken können, dürfen wir als eine Tatsache betrachten. Mittels genomweiter Analysen

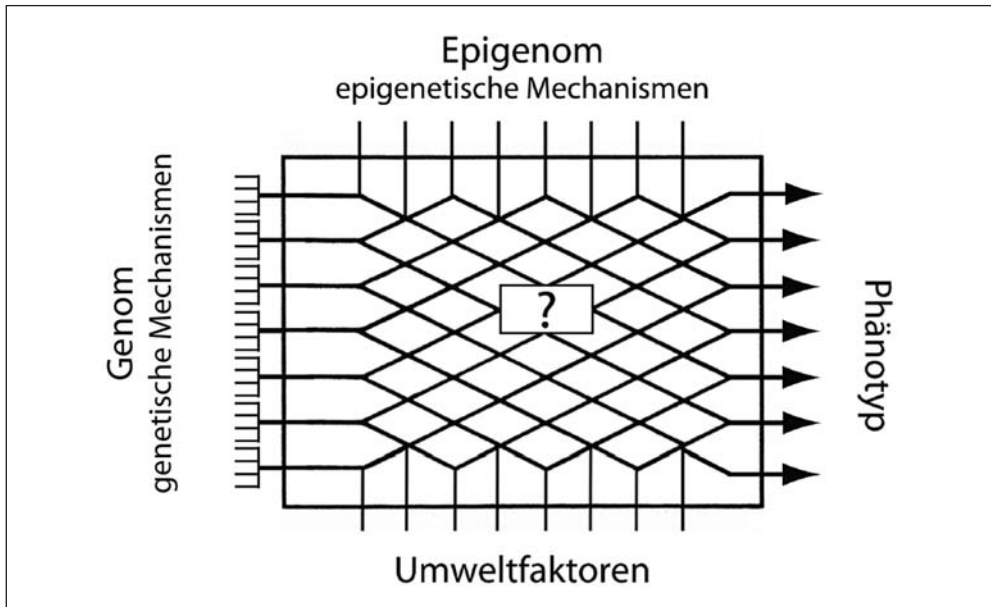


Abb. 10 Ein erweiterter Denkrahmen der Vererbung: der Phänotyp als Resultat komplexer Interaktionen genetischer und epigenetischer Mechanismen mit Umwelteinflüssen. Jede Pfeilspitze auf der rechten Seite des Schemas repräsentiert ein phänotypisches Merkmal. Seine Ausprägung wird durch die auf der linken Seite angedeutete Allelkombination mehrerer oder auch vieler Gene beeinflusst. Umgekehrt beeinflussen Gene häufig verschiedene phänotypische Merkmale, und auch hier kann der Einfluss unterschiedlich ausfallen, je nach Kombination der Allele der beteiligten Gene. Der untere Teil des Schemas verweist auf den Einfluss der Umwelt. Energiereiche Strahlung (UV-Licht der Sonne, kosmische Strahlung, Röntgenstrahlen) und mutagene Substanzen sind Beispiele für Umwelteinflüsse, die zu Mutationen der DNA und Veränderungen der Chromosomen mit nachteiligen, phänotypischen Auswirkungen führen. Der obere Teil des Schemas verweist auf die Entdeckung epigenetischer Mechanismen zur zelltypspezifischen Regulation des Genoms einer Zelle. Dazu gehören zelltypspezifische DNA-Methylierungsmuster und Histonmodifikationen (Abb. 5). Die Ausprägung phänotypischer Merkmale hängt von stochastischen, unvorhersehbaren Einflüssen ab. Sie ist nicht einfach durch die Summe genetischer, epigenetischer und Umwelt bedingter Einflüsse determiniert. Schon deshalb ist das Risiko für multifaktorielle Krankheiten für einzelne Individuen nicht präzise vorhersagbar.

von DNA-Methylierungen kann man (sofern man eine genügend große Anzahl der für das Krankheitsrisiko wichtigen Zelltypen für eine solche Analyse isolieren kann) ein individuelles epigenetisches Risiko in verschiedenen Lebensabschnitten eines Individuums bestimmen. Der englische Epidemiologe David J. BARKER hat die Hypothese aufgestellt, dass schädliche Einflüsse in Frühstadien der intrauterinen Entwicklung zu permanenten Veränderungen der Physiologie und des Stoffwechsels des betroffenen Menschen führen.<sup>117</sup> Diese Veränderungen erhöhen das Risiko, im Erwachsenenalter beispielsweise an der Erwachsenenform der Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus Typ II, oft auch als Altersdiabetes bezeichnet), Bluthochdruck, Gefäßerkrankungen des Herzens und Schlaganfällen zu leiden.

Ich möchte diesen Sachverhalt an einem Beispiel genauer erläutern. Im Winter von 1944 auf 1945 kam es im besetzten Amsterdam zu einer durch ein Lebensmittelembargo der deut-

<sup>117</sup> BARKER 1998, WHITELAW und WHITELAW 2006, DE BOO und HARDING 2006.

schen Kriegsführung ausgelösten Hungersnot. Viele Menschen erhielten in diesem Hungerwinter eine Kalorienzufuhr von weniger als 1000 Kalorien pro Tag und waren damit massiv unterernährt. Auch Kinder damals schwangerer Frauen kamen stark untergewichtig zur Welt. Diese Kinder zeigten als Erwachsene ein erhöhtes Risiko, an Diabetes mellitus Typ II zu erkranken.<sup>118</sup> Die Ursache dafür könnte in epigenetischen Mechanismen liegen, die bereits intrauterin zu langfristigen Veränderungen von Genaktivitätsmustern geführt haben.<sup>119</sup> In Zeiten des Mangels kann es für das Überleben vorteilhaft sein, wenn ein Kind schon im Mutterleib auf den auch nach der Geburt wahrscheinlich fortbestehenden Mangel vorbereitet wird. Es macht aus einer evolutionsbiologischen Perspektive Sinn, wenn die hormonelle Regulation des Sättigungsempfindens bei einem solchen Menschen schon im Mutterleib anders programmiert wird als bei einem anderen, der in eine Umwelt mit einem Überfluss an Nahrung hineingeboren wird. Die unterernährten Feten wurden dieser Vorstellung zufolge durch epigenetische Veränderungen in Zelltypen, die etwas mit der optimalen Nahrungsaufnahme und Verwertung zu tun haben, zu besonders sparsamen Nahrungsverwertern. Das englische Wort *thrifty* bedeutet sparsam, und dementsprechend bekamen diese Kinder einen „thrifty epigenotype“ mit auf ihren Lebensweg. Sie konnten damit aus einem geringen Nahrungsangebot mehr machen als ohne diese bereits im Mutterleib erfolgte epigenetische Umstellung. Wenn ständig Hunger droht, ist ein rechtzeitig angelegtes Fettpolster eine Lebensversicherung. Es macht Sinn, wenn vorteilhafte epigenetische Umstellungen auch Keimbahnzellen betreffen und so auch in der folgenden Generation wirksam werden. Dieser Sinn bedeutet hier aber nicht Planung, er hat nichts mit irgendwelchen Intentionen der Natur zu tun, sondern er ist Ausdruck einer evolutionären Anpassung. Die Fähigkeit, einen fetalen Organismus epigenetisch auf Nahrungsmangel oder Nahrungsüberschuss vorzubereiten, können wir als evolutionär in der DNA festgeschriebene Reaktionsnorm interpretieren, mit der ein Organismus auf Umweltereignisse reagieren kann (siehe unten). Wenn die tatsächlichen Lebensbedingungen nach der Geburt durch Überfluss gekennzeichnet sind, dann führt der als Anpassung an langandauernde Mangelsituationen nützliche „thrifty epigenotype“ zur dauerhaften Fettleibigkeit und zu einem stark erhöhten Risiko für das Auftreten eines Diabetes mellitus Typ II. Dieses erhöhte Risiko bei Menschen, die den Amsterdamer Hungerwinter im Uterus ihrer Mütter überstanden haben, ist Folge von Umwelteinwirkungen auf Körperzellen, nicht auf Keimzellen. Dass Umwelteinflüsse während der Schwangerschaft epigenetische Mechanismen mit lebenslangen Auswirkungen auf die betroffenen Individuen in Gang setzen, darf als gesichert gelten. Unterschiedliche Umwelteinflüsse können auch bei eineiigen Zwillingen im Laufe des Lebens epigenetische Unterschiede bewirken. Solche Unterschiede können dazu führen, dass – trotz identischer genetischer Disposition – nur einer von zwei eineiigen Zwillingen eine bestimmte multifaktorielle Krankheit bekommt.

Weniger klar ist die Antwort auf die Frage, ob epigenetische Veränderungen über die menschliche Keimbahn auch Auswirkungen auf die Gesundheit weiterer Generationen haben (*transgenerational epigenetic inheritance*). Diese Frage wird kontrovers diskutiert.<sup>120</sup> Hinweise auf eine generationenübergreifende, epigenetische Vererbung wurden bei Pflanzen,<sup>121</sup> Tie-

---

118 RAVELLI et al. 1998, LING und GROOP 2009.

119 GLUCKMAN und HANSON 2004.

120 PENNISI 2005, WHITELAW und WHITELAW 2008, BLEWITT et al. 2006, RAKYAN und BECK 2006, RICHARDS 2006.

121 BERGER und CHAUDHURY 2009, JOHANNES et al. 2009, SAZE 2008.

ren<sup>122</sup> und auch beim Menschen<sup>123</sup> gefunden. Als die während des Hungerwinters 1944/1945 geborenen Mädchen selbst Mütter wurden, zeigte sich überraschenderweise, dass auch die nächste Generation noch von den Auswirkungen des Hungerwinters betroffen war.<sup>124</sup> Untersuchungen an Mäusen haben ergeben, dass Auswirkungen einer fettreichen Ernährung auch noch in der Enkelgeneration nachweisbar sind, und zwar sowohl bei einer Vererbung über die mütterliche als auch die väterliche Keimbahn.<sup>125</sup> Aus der klassischen Sicht einer rein DNA-abhängigen Vererbung wirken Behauptungen einer epigenetischen Vererbung auf den ersten Blick wie ein rotes Tuch. Gibt es vielleicht doch eine Vererbung erworbener Eigenschaften? Kommen die Zeiten des Lamarckismus zurück? Der Pionier der Evolutionstheorie vor Charles DARWIN (1809–1882) Jean-Baptiste DE LAMARCK (1744–1829) hat bekanntlich die Auffassung entwickelt, die Artenvielfalt sei durch eine Vererbung erworbener Eigenschaften entstanden. Charles DARWIN hielt es noch für möglich, dass sich Keimchen (*gemmules*) in den Geweben des Körpers bilden, die über den Blutkreislauf zu den Keimzellen gelangen und die Vererbung erworbener Eigenschaften bewirken. August WEISMANN (1834–1914), der bedeutendste deutschsprachige Darwinist, Begründer des Neo-Darwinismus und Erstbeschreiber des Unterschieds zwischen den Zellen des Körpers (Soma) und den Zellen der Keimbahn, lehnte diese Vorstellung dezidiert ab: „Wie sollte das geschehen? Was sollte überhaupt in die Ei- oder Samenzelle hineingeführt werden, damit sie die betreffende Veränderung erlitte? [...] Zu welcher abenteuerlichen Vorstellung führte die weitere Verfolgung dieser Idee! Welche unfassbare Menge von Keimchen müssen sich da in einem einzigen Samenfadens zusammenfinden, wenn jedes Molekül oder jede Molekülgruppe (Micell) des ganzen Körpers, welche zu irgendeiner Periode der Ontogenese an ihm Teil genommen hatte, nun auch in der Keimzelle durch ein Keimchen vertreten sein müsste! Und doch wäre dies die unvermeidliche Konsequenz der Annahme, dass erworbene Molekularzustände bestimmter Zellgruppen [des Soma] sich [über die Keimbahn] vererben könnten.“<sup>126</sup> Diese frühe Kritik hat an Überzeugungskraft durch das Wissen um die molekularen Prozesse der Vererbung entscheidend gewonnen und wird auch durch die Epigenomforschung nicht in Frage gestellt.

Der in Abbildung 10 dargestellte Denkrahm zeigt uns, dass es keinen Sinn macht zu fragen, ob die Entstehung eines bestimmten phänotypischen Merkmals allein von genetischer Vererbung *oder* allein von epigenetischer Vererbung *oder* allein von der Umwelt bewirkt wird. Wie bei so vielen großen Problemen (*nature or nurture*) führt das „*oder*“ in die Irre. In der Wirklichkeit geht es um die Interaktion von genetischer *und* epigenetischer Vererbung. Umwelteinflüsse können in Form energiereicher Strahlung zu Mutationen führen und so genetische Mechanismen beeinflussen. Sie können ebenso über epigenetische Mechanismen wirksam werden. Epigenetische Vererbung hat nichts mit einer Wiederauferstehung des Lamarckismus zu tun. Der Kernpunkt einer im eigentlichen Sinn lamarckistischen Vererbung liegt in der Annahme, dass Einwirkungen der Umwelt zu einer gerichteten Veränderung des Genoms führen, die auf Anpassung an diese Umwelt hin ausgerichtet ist. Mit dieser Annahme behauptet man, dass der Informationsfluss nicht nur von den Genen zu den Proteinen erfolgt, wie es das zentrale „Dogma“ der Molekularbiologie von Francis CRICK behauptet, sondern dass auch ein Rückfluss von den Proteinen zu den Genen, oder ganz allgemein vom Phänotyp

122 ANWAY et al. 2005, MARTIN et al. 2008.

123 PEMBREY et al. 2006.

124 LUMEY und STEIN 1997.

125 DUNN und BALE 2009.

126 Die Zusätze in Klammern wurden vom Verfasser eingefügt.



zum Genotyp möglich ist. Das Wort „Dogma“ scheint mir unglücklich gewählt. Dogmatische Vorstellungen gehören nicht in die Naturwissenschaften, bei denen es ja gerade nicht um Glaubenssätze geht. Ein Wissenschaftler, der nicht sieht und doch glaubt, hat in den Naturwissenschaften nichts verloren. Von diesen Bedenken zur Wortwahl abgesehen, stimme ich der impliziten Aussage des zentralen Dogmas der Molekularbiologie vollständig zu: Es gibt keinerlei sinnvolle, naturwissenschaftliche Hypothese, wie Umwelteinflüsse auf den Phänotyp rückwirkend die DNA in einer gerichteten Weise so verändern können, dass eine allein durch Umwelteinflüsse bewirkte Änderung des Genotyps erblich wird.

Die Behauptung einer epigenetischen Vererbung über mehrere Generationen („transgenerational epigenetic inheritance“) ist dagegen mit der Annahme der modernen Evolutionstheorie, dass DNA-Mutationen völlig unabhängig von jeder Zielintention und in diesem Sinn ungerichtet erfolgen, völlig vereinbar. Epigenetische Mechanismen fallen nicht vom Himmel. Sie benötigen eine genetisch programmierte, also durch Evolution auf DNA-Ebene entstandene, Steuerung. Wenn es sich bestätigen sollte, dass ein Mangelzustand während der Fetalperiode sich nicht nur auf das weitere Leben dieses Menschen, sondern auch auf seine Nachkommen auswirkt, dann gehe ich von einer komplexen, genetisch fixierten Anpassung aus. Sie entstand wie alle Anpassungen im Verlauf der Evolution durch das Zusammenspiel von ungerichteten Mutationen und Selektion. Eine solche Anpassung macht Sinn, wenn es zyklische Veränderungen der Umwelt gibt, die immer wieder auftreten und über mehrere Generationen anhalten.<sup>127</sup> Hinweise, dass eine epigenetische Reprogrammierung sich auch auf Keimbahnzellen auswirken und so auf die nächste Generation weitervererbt werden kann,<sup>128</sup> bilden keinen Widerspruch zu der grundlegenden Erkenntnis, dass die DNA die Schrift ist, in der die Evolution langfristig schreibt.<sup>129</sup> Die epigenetische Programmierung auf einen „thrifty epigenotype“ im Mutterleib geschieht nicht deshalb, weil das verringerte Nahrungsangebot für den Feten einen direkten Einfluss auf das Genom und/oder das Epigenom der Keimbahnzellen ausüben würde mit dem unmittelbaren Zweck einer vererbaren Umstellung auf

---

127 Der Wiener Zoologe Paul KAMMERER (1880–1926) hat in den frühen 1920er Jahren Kröten, die sich normalerweise an Land paaren, dazu gezwungen, sich im Wasser zu paaren. Er behauptete, dass die Krötenmännchen nach einigen Generationen Brunftschwieneln an den Vorderbeinen entwickeln, mit denen sie die Weibchen unter den etwas glitschigen Verhältnissen einer Paarung im Wasser, besser festhalten können. Diese Beobachtung interpretierte er als Beweis für die Möglichkeit einer lamarckistischen Vererbung. Als klar wurde, dass diese „Brunftschwieneln“ zumindest bei einigen der von Paul KAMMERER vorgezeigten Photographien durch Injektion von Tusche deutlich sichtbar gemacht wurden, beging KAMMERER Suizid. Seitdem gehört der Fall KAMMERER zu den berühmten Beispielen für Wissenschaftsbetrug. In einer kürzlich erschienenen Arbeit wird die Möglichkeit diskutiert, dass die Tuscheinjektionen nicht an Stelle gar nicht vorhandener Brunftschwieneln, sondern „nur“ zu ihrer überzeugenderen Darstellung durchgeführt wurden. Das Verschweigen dieser Tuscheinjektionen ist selbstverständlich auch ein Betrug, aber wenn wir unterstellen, dass Brunftschwieneln wirklich oder wenigstens in der aufrichtigen Überzeugung KAMMERERS subjektiv vorhanden waren, muss man diese Täuschung anders bewerten. Es ist ein wichtiger Unterschied, ob ein Wissenschaftler ein Signal einfach fälscht, um einen experimentellen Befund vorzutäuschen, der – wie er genau weiß – in Wirklichkeit gar nicht vorhanden ist oder ob er *bona fide* davon überzeugt ist, dass ein Signal vorhanden, aber in einer Photographie schwer dokumentierbar ist. In diesem Fall ist KAMMERERS Vergehen in etwa mit Manipulationen digitaler Bilder vergleichbar, bei denen – ohne dass darauf hingewiesen wird – Kontraste verstärkt werden, um ein schwach sichtbares Signal deutlicher hervorzuheben. Ob diese von VARGAS (2009) diskutierte Möglichkeit zutrifft, nach der KAMMERER möglicherweise Entdecker eines dramatischen Beispiels für „transgenerational epigenetic inheritance“ war, ist zurzeit nicht entscheidbar. Aber eine Entscheidung ist möglich, wenn die Kammerer-Experimente mit den heutigen Möglichkeiten wiederholt werden.

128 CHONG und WHITELAW 2004.

129 CREWS und McLACHLAN 2006.

einen Stoffwechsel, der das Überleben von Individuen in langen Hungerzeiten erleichtert. Die Mechanismen, die eine epigenetische Umstellung der Reaktionsnorm auf Umwelteinflüsse nicht nur bei einem unmittelbar betroffenen Individuum, sondern möglicherweise auch bei seinen Nachkommen verändern, setzen ein genetisches Programm voraus, das durch Neodarwinistische Evolution (ungezielte Mutationen plus Selektion) entstanden ist. Genetische und epigenetische Mechanismen der Vererbung sind untrennbar miteinander verknüpft.

Stellen wir uns vor, dass es im komplexen, vollständig nie mehr rekonstruierbaren Verlauf der Evolution, vielleicht schon lange vor der Verzweigung des Primatenstammbaums in die Linien, die zum heutigen Menschen und zu den heutigen afrikanischen Menschenaffen führten, immer wieder zu längeren, mehrere Generationen umspannenden Phasen von besseren bzw. schlechteren Ernährungslagen kam. Unter solchen Umständen könnten Mutationen einen Selektionsvorteil besessen haben, die es ermöglichten, Individuen bereits im Mutterleib durch eine Umstellung epigenetischer Regelkreise auf das wahrscheinliche Fortdauern guter oder schlechter Ernährungslagen während des nachgeburtlichen Lebens vorzubereiten. Ob sich diese Vermutung als wissenschaftlich haltbar erweisen wird oder nicht, werden zukünftige Untersuchungen zeigen. Es kommt mir hier nur darauf an herauszustellen, wie wenig wir noch immer über die raffinierten Zusammenhänge wissen, die Umwelteinflüsse mit molekularen Mechanismen der genetischen und epigenetischen Genregulation verknüpfen, und dass diese Verknüpfungen das Leben von Menschen langfristig und möglicherweise sogar von einer Generation zur nächsten beeinflussen können. Der Weg zu besserem Verstehen führt über eine vertiefte genetische und epigenetische Grundlagenforschung im Rahmen einer Systembiologie, bei der neue experimentelle Ansätze in enger Verzahnung mit quantitativen Modellierungen entwickelt und durchgeführt werden.

## 10. Vorhersagemedizin

Die Entwicklung der Vorhersagemedizin (*predictive medicine*) soll eine Vorhersage ermöglichen, ob ein bestimmter, zum Zeitpunkt der Untersuchung gesunder Mensch ein deutlich erhöhtes, genetisch bedingtes Risiko hat, im weiteren Verlauf seines Lebens an bestimmten Krankheiten tatsächlich zu erkranken. Das Wissen um ein erhöhtes Risiko für eine bestimmte Erkrankung ist nur dann sinnvoll, wenn es vorbeugende Maßnahmen ermöglicht, durch die eine sonst drohende schwere Erkrankung vermieden oder durch frühzeitige Diagnose und Behandlung geheilt bzw. in ihrem Verlauf wesentlich abgemildert werden kann. In diesem Abschnitt beschäftigen wir uns mit Beispielen für die Möglichkeiten der Vorhersagemedizin und den drohenden Gefahren, wenn Vorhersagen von Krankheitsrisiken in der Öffentlichkeit und bei politischen Entscheidungsträgern im Rahmen überholter, gen-deterministischer Vorstellungen gefordert und interpretiert werden.

Risikovorhersagen sind heute schon für zahlreiche Mendelsche Erbkrankheiten möglich, die erst in der Kindheit oder im Erwachsenenalter auftreten. Die autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselkrankheit Phenylketonurie (PKU) ist das in der Öffentlichkeit vermutlich am besten bekannte Beispiel einer Störung, die unbehandelt typischerweise zu schwerstem Schwachsinn führt. Eine rasch nach der Geburt begonnene Diät mit einem Aminosäurengemisch, das arm an Phenylalanin und reich an Tyrosin ist, kann diese Folgen vollständig verhindern und zu einer normalen kognitiven Entwicklung verhelfen. Aus diesem Grund werden alle Neugeborenen in Deutschland auf krankheitsverursachende Mutationen des Gens für das

Enzym Phenylalaninhydroxylase untersucht, das für die Umwandlung von Phenylalanin in Tyrosin benötigt wird. Es besteht ein breiter gesellschaftlicher Konsens, dass die routinemäßige Vorsorgeuntersuchung auf PKU Sinn macht und notwendig ist.

Ein zweites Beispiel ist eine Form von erblichem Dickdarmkrebs, die in den betroffenen Familien wie eine autosomal-dominante Erkrankung vererbt wird. Träger des defekten Gens haben ein hohes Lebensrisiko, an Dickdarmkrebs zu erkranken. Eine jährliche Dickdarmspiegelung gibt jedoch gute Chancen, die Krebserkrankung in einem frühen Stadium zu entdecken und durch eine Operation zu heilen. Hier hat die Vorhersagemedizin eine rationale Basis.<sup>130</sup> Die psychischen Belastungen und die praktischen Probleme solcher engmaschigen Vorsorgeuntersuchungen dürfen jedoch nicht verschwiegen werden. Darum ist es notwendig, durch sorgfältige Langzeitstudien nachzuweisen, dass der durch ein Screening erfasste Personenkreis davon wirklich profitiert. Bei der beispielhaft genannten Vorsorgeuntersuchung auf erblichen Dickdarmkrebs ist zu hoffen, aber bislang nicht bewiesen, dass Betroffene mit einem engmaschigen Screening wirklich länger überleben als andere Betroffene, die sich dieser Prozedur verweigern. Gute Absichten und gute Wirkungen sind leider nicht kausal miteinander verknüpft.<sup>131</sup>

Bei multifaktoriellen Krankheiten geht es darum, dass Personen mit einem hohen Erkrankungsrisiko Umweltfaktoren vermeiden, die in der Wechselwirkung mit genetischen Dispositionen den Ausschlag geben, ob die befürchtete Krankheit bei diesen Menschen entsteht oder nicht entsteht. Ein Beispiel für eine vermutlich sinnvolle Vorhersagemedizin bei einem multifaktoriellen Problem sind die Pima-Indianer, die in Arizona im Süden der USA leben. Sie haben eine der weltweit höchsten Erkrankungsraten für Diabetes mellitus Typ II. In der überholten mendelistischen Sicht haben sie schlechte Allele. Ein Mensch, der das Stigma schlechter Allele trägt, läuft Gefahr, dass seine besonderen Risiken von privaten Versicherungen ausgeschlossen oder dass Prämien verlangt werden, die nur für reiche Menschen erschwinglich sind. Pima-Indianer haben aber keine schlechten Allele. Sie besitzen einen „thrifty genotype“. Diese Ethnie lebte vermutlich viele tausend Jahre in kargen Ernährungsverhältnissen, an die sie genetisch gut angepasst war. Altersdiabetes war unter diesen Bedingungen wahrscheinlich extrem selten. Im 20. Jahrhundert erfolgte dann der rasche Wechsel zu der für die USA typischen Ernährungsweise mit einem überreichlichen Angebot an Kalorien aus Fetten und Kohlehydraten. An ein Kalorienangebot im Schlaraffenland sind die Pima-Indianer genetisch nicht angepasst. Unter solchen Bedingungen neigen sie als sparsame Futterverwerter zur Fettleibigkeit, einem wichtigen Risikofaktor für Diabetes mellitus Typ II.

Das Wissen um ein besonders hohes, persönliches Risiko für bestimmte Krankheiten gehört zur rechtlich unbedingt zu schützenden Privatsphäre eines jeden Betroffenen. Eine Weitergabe diagnostischen Wissens an Personen, die nicht selbst betroffen sind, ist bei den Eltern eines betroffenen Kindes dann (und nur dann) angezeigt, wenn sie dieses Wissen für das Wohlergehen ihres Kindes benötigen. In seltenen Fällen kann der Schutz der Öffentlichkeit vorrangig sein, wenn eine bestimmte Erkrankung bei der Ausübung bestimmter Berufe zu einer unmittelbaren Gefahr für die Gesundheit und das Leben anderer führen kann. Niemand

130 ENGEL et al. 2009.

131 Bei nahezu 1,5 Millionen Kindern, die in Deutschland zwischen dem 1. Juli 1994 und dem 31. Oktober 1999 geboren wurden, wurde ein Screening-Verfahren auf das Neuroblastom – es ist der zweithäufigste bösartige Tumor im Kindesalter – durchgeführt. Diese mit großen Erwartungen begonnene Vorsorgeuntersuchung wurde wieder abgebrochen, als sich kein Vorteil für die untersuchten Kinder ergab (SCHILLING et al. 2002). Übervorsicht kann schaden und sogar zu nicht indizierten, risikoreichen Behandlungen führen.

würde sich gerne von einem Piloten fliegen lassen, der ein stark erhöhtes Risiko für Absenzen und Krampfanfälle hat. Weiter ist es einsichtig, dass jeder Mensch eine Krankenversicherung benötigt und dass auch eine Lebensversicherung zu den Notwendigkeiten einer selbst verantworteten Lebensplanung gehört. Dass ein Rechtsstaat darauf zu achten hat, dass individuelles Wissen um Risiken nicht zum Abschluss einer exorbitant hohen Lebensversicherung ausgenutzt werden kann, liegt ebenso auf der Hand. Die Praktikabilität einer diesbezüglichen Gesetzgebung wird danach zu beurteilen sein, dass der Schutz der Privatsphäre, zu der auch der Schutz vor einer unbefugten Weitergabe intimer persönlicher Daten gehört, nicht durch allerlei Hintertüren ausgehebelt wird.

Eine ernste Gefahr besteht in einer immer umfassenderen Erhebung genetischer (und in Zukunft auch epigenetischer) Besonderheiten einzelner Menschen ohne klare und verantwortbare Zielsetzungen. Menschen können das Wissen um gesundheitliche Gefährdungen als unabänderliche Bedrohungen erleben und in große Angst versetzt werden, wenn eine Vorbeugung, etwa durch eine besondere, die drohende Krankheit vermeidende Lebensführung oder frühe therapeutische Intervention, nicht möglich ist. Eine weitere Gefahr besteht im Mangel an Möglichkeiten zu einer persönlichen genetischen Beratung, die das notwendige Sachwissen für die freie Selbstbestimmung eines Menschen bietet. Solche Beratung muss nicht-direktiv und ergebnisoffen erfolgen, d. h., sie muss mit hohem Respekt vor der personalen Selbstbestimmung und den ethischen Überzeugungen anderer durchgeführt werden.

Das Recht des Individuums auf Nicht-Wissen halte ich für ein grundlegendes Menschenrecht. Auch hier tauchen viele komplizierte Fragen auf. Haben persönliche Rechte auf Wissen oder Nicht-Wissen Grenzen im Hinblick auf Gefährdungen, Bedürfnisse und Rechte anderer? Wie steht es mit noch ahnungslosen, nahen Verwandten eines Menschen mit einer schwerwiegenden genetischen Diagnose, die möglicherweise selbst betroffen sein könnten und für die dieses Wissen einen großen Einfluss auf die eigene Lebensplanung haben könnte? Welche Rechte an genetischen Informationen über ihre Kinder stehen Eltern zu und umgekehrt?

Wie weit reicht das Recht von Dritten auf Wissen? Wo liegen strikt zu beachtende Grenzen genetischer und epigenetischer Informationserhebung für Versicherungen, für einen Arbeitgeber, für den Staat? Arbeitgeber, die Wissen über Krankheitsrisiken von Angestellten sammeln, wollen wir bestimmt nicht. Angemessener Versicherungsschutz für jeden Menschen gehört zu den materiellen Grundbedingungen menschlicher Würde. Hier tut sich ein weites und schwieriges juristisches Feld auf. Es bedarf dringend einer klugen Gesetzgebung, um die Rechte auf die Erhebung und Weitergabe von genetischen und epigenetischen Informationen zu regeln. Es besteht die große Gefahr, dass genetische und epigenetische Informationen, die mit erhöhten Krankheitsrisiken korrelieren, zur gesellschaftlichen Benachteiligung und Ausgrenzung der Betroffenen führen können, wenn ein profitorientierter Versicherungsmarkt sich selbst überlassen bleibt und ohne klare, gesetzgeberische Vorgaben agiert. Das Problem stellt sich in den USA wesentlich schärfer als in Deutschland. Bei uns sind nur etwa 10% der Versicherten in privaten Krankenversicherungen, während 90% der Menschen Mitglieder der gesetzlichen, sozialen Krankenversicherungen sind. Das Versicherungssystem in den USA basiert dagegen ganz überwiegend auf privaten Versicherungen. Wie immer auch das System der Kranken- und Lebensversicherungen eines Staats organisiert ist, es muss gesetzliche Vorsorge getroffen werden, dass diese Versicherungen für jeden Menschen zugänglich und erschwinglich sind, gleichgültig welches Risiko er hat und unabhängig von den möglichen Kosten. Bei den gesetzlichen Versicherungen in Deutschland sind die Mitgliedsbeiträge nach dem Verdienst des Versicherten gestaffelt, und es gibt keine individuellen Zuschläge oder Abschläge

aufgrund erhöhter oder erniedrigter, spezifischer Risiken eines Individuums. Ganz anders ist es bei den privaten Versicherungen, die sich als profitorientierte Unternehmen im Wettbewerb des Versicherungsmarktes behaupten müssen. Die private Versicherung kann bestimmte schlechte Risiken eines neuen Kunden von der Versicherung ausschließen oder solche Risiken nur zu besonderen Konditionen versichern oder eine Mitgliedschaft auch vollständig ablehnen. Wir beschränken uns bei den folgenden Anmerkungen auf die privaten Versicherungen.

Die privaten Versicherungen in Deutschland haben unisono ihre Bereitschaft erklärt, freiwillig auf umfassende genetische Untersuchungen bei der Aufnahme von neuen Mitgliedern zu verzichten. Diese Erklärung fällt heute noch leicht, weil die Aussagekraft genetischer Untersuchungen auf Risiken für multifaktorielle Erkrankungen, die den Hauptteil an Behandlungskosten ausmachen, noch immer unzulänglich ist. Aber das kann sich in den nächsten Jahrzehnten dramatisch ändern. Nehmen wir an, genetische und epigenetische Risikokombinationen, die die Entwicklung bestimmter, multifaktorieller Erkrankungen begünstigen, lassen sich eines Tages umfassend und preisgünstig bei jedem Menschen feststellen. Würden private Versicherungen ohne eine entsprechende Gesetzgebung auch dann freiwillig auf solche Tests verzichten? Könnten Versicherungen, die das tun, sich auf dem Versicherungsmarkt gegenüber anderen Versicherungen behaupten, die ihre Mitglieder sorgfältiger auf gute Risiken hin auslesen? Wie stünde es mit der Bereitschaft von privaten Versicherungen, Menschen besonders günstige Policen anzubieten, die an Hand freiwillig durchgeführter Tests nachweisen können, dass sie Träger „guter Risiken“ sind. Diese Gruppe von Glückspilzen wird kaum Verständnis dafür aufbringen, dass ihre Versicherung auch Menschen mit sehr schlechten Risiken zu denselben günstigen Bedingungen mit der Konsequenz aufnimmt, dass die Beiträge aller Versicherten, also auch von Menschen mit „guten Risiken“, rasch steigen. Sollten sich viele Menschen auf freiwilliger Basis bereit finden, sich bei der diagnostischen Genlotterie in ihre genetischen Karten schauen zu lassen, könnte das Recht auf Nicht-Wissen derjenigen, die sich dieser Lotterie verweigern, bald ausgehöhlt werden. Denn wer bei der Lotterie nicht mitmachen will, gilt schnell als unsicherer Kantonist, der bereits von eigenen schlechten Risiken weiß, dies aber nicht zugeben will. Muss es eine Offenbarungspflicht für die Ergebnisse bereits früher vorgenommener genetischer und in Zukunft auch epigenetischer Tests geben? Dagegen spricht, dass Personen aus Angst vor Diskriminierung eine Durchführung genetischer und epigenetischer Tests ablehnen, die aus medizinischer Sicht für sie sinnvoll sind. Dafür spricht, dass die Verheimlichung eines durch Privatpersonen auf der Grundlage freiwillig durchgeführter Tests erworbenen Wissens über stark erhöhte Krankheitsrisiken die Grundlage der privaten Versicherung zerstört. Aus dieser Perspektive sieht die Sache so aus: Die Grundlage des Versicherungsschutzes besteht darin, dass das individuelle Risiko bestimmter Erkrankungen für die einzelnen Versicherungsteilnehmer unbekannt ist und die Gemeinschaft der Versicherten die Kosten von allen Gesundheitsrisiken teilt.

Das deutsche Gendiagnostikgesetz, das am 1. Februar 2010 in Kraft tritt,<sup>132</sup> ist Ausdruck des Bemühens einen rechtlichen Rahmen für die genannten Fragen zu schaffen. Bedarf für Aktualisierungen dieses Gesetz wird es in Zukunft aus vielerlei Gründen immer wieder geben. Ein besonders wichtiger Grund besteht darin, dass die Auswirkungen zukünftiger epigenomischer Analysen auf Risikobewertungen in der Vorhersagenmedizin heute noch kaum abzuschätzen sind.

---

132 Gendiagnostik-Gesetz: <http://de.wikipedia.org/wiki/Gendiagnostikgesetz>.

## 11. Resümee: Chancen und Risiken der Genom- und Epigenomforschung als Grundlage zukünftiger Vorhersagemedizin

Als vorrangiges Ziel sollte dieser Essay verdeutlichen, wie komplex die Wechselwirkungen genetischer und epigenetischer Mechanismen im Verein mit Umwelteinflüssen sind, die den Ausschlag geben, ob wir gesund bleiben oder krank werden. Diese Wechselwirkungen sind auch heute noch weithin unverstanden.

Der mendelistische Denkrahm der Vererbungsforschung in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts (Abb. 1) hat das komplexe Geschehen der Genwirkungen, der Evolution des heutigen menschlichen Genpools (der Gesamtheit aller individuellen Genome) in einer gefährlichen Weise vereinfacht. Diese unhaltbare Vereinfachung führte zu einer unangemessenen Überschätzung gendeterministischer Auswirkungen unseres individuellen Genoms für die Erhaltung unserer persönlichen Gesundheit und die Entstehung persönlicher Krankheiten. Der mendelistische Denkrahm des frühen 20. Jahrhunderts begünstigte nicht notwendigerweise, aber doch faktisch eugenische Ideologien mit fürchterlichen Folgen für Individuen, die als genetisch defekt angesehen, ja stigmatisiert wurden. Diese Folgen sind MENDEL nicht persönlich anzulasten, sie waren für ihn nicht einmal vorhersehbar. Wissenschaftler, die ihrer Verantwortung für die Gesellschaft gerecht werden wollen, sollten sich mit diesen Folgen aber schon deshalb beschäftigen, weil sie ein Modellfall für den ideologischen Missbrauch der notwendigerweise vorläufigen Einsichten reduktionistischer Wissenschaft sind. Ein Schubladendenken, das unsere Gene weiterhin in gute und schlechte einteilt, wäre sachlich falsch und politisch gefährlich.

Drastische Vereinfachungen, wie der mendelistische Denkrahm, sind nicht die Ausnahme, sondern die Regel im Erkenntnisprozess der experimentellen Naturwissenschaften, die ihre großen Erfolge einem reduktionistischen Forschungsansatz verdanken. Ein komplexes biologisches System wird in seine Einzelheiten aufgelöst, in unserem Fall vom Mensch zu den Organen, den Geweben, den Zellen und schließlich zu den Molekülen. Die mendelistische Sicht der Entstehung genetisch bedingter Eigenschaften und Erkrankungen war ein unvermeidbares Durchgangsstadium auf dem langen, mühsamen und in keiner Weise abgeschlossenen Weg zu einem tieferen, naturwissenschaftlichen Verständnis der Vererbung. Der Erfolg reduktionistischer molekularbiologischer Forschung in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts war so überwältigend, dass manche Molekularbiologen auch heute noch meinen, dass die einzige Ebene, auf der man Zusammenhänge wirklich verstehen könne, die Ebene der Moleküle sei. Auf dieser Ebene lassen sich experimentell beantwortbare Fragen vom Typ des „Entweder – Oder“ stellen. Zwei Makromoleküle A und B (beispielsweise zwei Proteine, zwei Nukleinsäuren, ein Protein und eine Nukleinsäure) interagieren miteinander oder sie tun es nicht. Solche Fragestellungen haben entscheidend zur Aufklärung von Signalwegen beigetragen, die erforderlich sind, dass Einflüsse aus der Umgebung einer Zelle zu einer angemessenen Veränderung der Aktivität bestimmter Gene führen. Sie tragen neuerdings auch entscheidend zu einem tieferen Verständnis der räumlichen Organisation des Genoms im Zellkern bei. Sie sind unverzichtbar, wenn man verstehen will, wie irgendein wesentlicher Vorgang innerhalb und zwischen Zellen wirklich funktioniert. Aber die Erforschung der molekularbiologischen Ebene allein genügt nicht für ein wirkliches Verständnis des Lebendigen. Auch der umgekehrte Weg ist notwendig: von den Molekülen zu den Zellen, zu den Geweben, zu den Organen und zum Menschen insgesamt und seiner Eingebundenheit in Welt und Kosmos. Dazu sind verschiedenste methodische Ansätze notwendig, die die Molekularbiologie allein nicht liefern kann.

Die hier auftauchenden Fragen können nicht sinnvoll an Hand eines Entweder-Oder-Schemas gestellt und beantwortet werden. Die Fragestellung, ob bestimmte multifaktorielle Krankheiten, wie Krebs, Herzinfarkt, Diabetes mellitus, Demenz, Depression, Schizophrenie usw., durch Gene *oder* die Umwelt ausgelöst werden, führt in die Irre (siehe Abschnitte 4 und 5). Das gilt ebenso für die Vorstellung, dass dieses oder jenes Gen für komplexe phänotypische Merkmale verantwortlich sei. Dennoch ist die Frage, ob es im Rahmen der überaus vielfältigen, multifaktoriellen Krankheitsbilder Formen gibt, deren Entstehung entscheidend von der Wirkung eines einzelnen Gens abhängt, sei es auf Grund einer Mutation oder einer Epimutation, sinnvoll und notwendig. Denn die Aufklärung einer derartigen Form, auch wenn sie nur selten vorkommt, kann den Weg zu ganz neuen Einsichten in die an der Entstehung einer multifaktoriellen Krankheit beteiligten genetischen und epigenetischen Netzwerke freilegen.

Es gilt, der Gefahr entgegenzuwirken, dass in der Öffentlichkeit über die Vererbung weiterhin im Rahmen der im 20. Jahrhundert geführten, unfruchtbaren „nature or nurture“-Debatte diskutiert wird, ob die Gene oder die Umwelt überwiegend oder gar ausschließlich für bestimmte menschliche Fähigkeiten (wie Intelligenz, soziales und anti-soziales Verhalten) und bestimmte Krankheiten verantwortlich sind. Bei dieser Diskussion wurde ignoriert, dass die kausalen Zusammenhänge zwischen Umwelt, Genotyp und Phänotyp völlig ungeklärt waren und es bis heute weitgehend geblieben sind. Der Beginn des 20. Jahrhunderts war bei den begüterten Gesellschaftsschichten der Industriestaaten von einer heute unglaublichen Fortschrittsüberzeugung geprägt. Alles erschien über kurz oder lang technisch machbar und technisch beherrschbar. Am Beginn des 21. Jahrhunderts ist die vorherrschende Stimmung eher von einer tiefen Skepsis geprägt.<sup>133</sup> Daran ist richtig, dass sich Wege in die Zukunft, die ein Leben in menschlicher Würde bewahren, ja für ungezählte Menschen überhaupt erst herstellen müssen, nicht wie von selbst aus naturwissenschaftlicher Erkenntnis und ihrer technischen Anwendung ergeben. Es ist nicht nur unwahrhaftig, sondern auch gefährlich, wenn Wissenschaftler unerfüllbare Erwartungen bei politischen Entscheidungsträgern und ihren Wählern wecken, um mehr Förderung für ihren angeblichen „Krieg“ (ein viel zu oft benutztes Wort!) gegen dieses oder jenes schreckliche, menschliche Leid zu erhalten. Naturwissenschaftler, die neue Verfahren mit noch unbekanntem Risiken entwickeln, dürfen ihre besondere Verantwortung für die Folgen ihres Tuns nicht einfach auf Politiker oder die Gesellschaft insgesamt abschieben.

Die Zukunftserwartungen der Medizin gründen sich gewiss nicht nur auf Gen- und Stammzelltherapien. Im Hinblick auf die Vorbeugung von Krankheiten ist es mindestens ebenso wichtig, viel mehr über die für ihre Entstehung oder ihren ungünstigen Verlauf entscheidenden Umwelteinflüsse zu erfahren. Im Lauf des Lebens einzelner Menschen entwickeln und verändern sich phänotypische Merkmale im Rahmen genetischer, epigenetischer und physiologischer (biochemischer und biophysikalischer) Regelkreise, die durch vielfältige Umweltfaktoren, aber auch stochastischer Prozesse beeinflusst werden. Um diese Wechselwirkungen zu verstehen, benötigen wir eine systembiologische Grundlagenforschung. Der Begriff Systembiologie ist zum Modewort geworden. Ich verstehe darunter Strategien, die eine bedeutende Fragestellung, z. B. wie kommt es zur Entstehung einer Schizophrenie, auf allen zugänglichen Ebenen – von den Molekülen bis zum erkrankten Individuum, den mit ihm interagierenden Menschen – und seiner Umwelt insgesamt – mit allen verfügbaren Methoden untersuchen. Der in Abbildung 10 skizzierte Denkraum der Vererbungsforschung ent-

---

133 CREMER 1998a, b.

hält – so wenig wir immer noch wissen – die Hoffnung, dass eine systembiologische Grundlagenforschung, die alle nur möglichen Forschungsansätze nutzt, um die Bedingungen von Gesundheit und die Entwicklung bestimmter Krankheiten wirklich zu verstehen, neue Wege eröffnet, Gesundheit zu erhalten oder wiederherzustellen. Dazu ist intensive genetische, epigenetische und zellphysiologische Forschung unverzichtbar. Die Suche nach Allelen und Allelkombinationen, die bestimmte Menschen für bestimmte multifaktorielle Erkrankungen disponieren, und die Aufdeckung epigenetischer Mechanismen zur Regulation dieser Gene erhöht auch die Chancen, spezifischen Umweltfaktoren auf die Schliche zu kommen, die für die Entstehung einer multifaktoriellen Krankheit wichtig sind. Die Suche nach genetischen und epigenetischen Krankheitsursachen wird immer wieder auch zu unvermuteten Hypothesen führen, welche Umweltfaktoren wichtig sein könnten, denn Umweltfaktoren entfalten ihre Wirksamkeit erst in der Interaktion mit genetischen und epigenetischen Besonderheiten eines Menschen. Der Wunsch, diese Interaktionen zu verstehen, ist nicht nur die stärkste Antriebskraft der Grundlagenforschung, sondern am Ende vermutlich sogar der kostengünstigste Weg zu neuen, wirksamen Verfahren der Prophylaxe und Behandlung von Krankheiten.

Dabei stellt sich die Frage, ob die heutigen Modelle, wie sich die Interaktionen zwischen verschiedenen Regelkreisen abspielen, auch nur einigermaßen ausreichend sind? Das zu behaupten, wäre vermessen. Was immer bei der systembiologischen Forschung im 21. Jahrhundert noch herauskommen wird, sicher scheint mir, dass das Ende des dem Menschen möglichen naturwissenschaftlichen Erkenntnishorizonts noch längst nicht erreicht, ja nicht einmal absehbar ist.

Zum Abschluss möchte ich im Hinblick auf gesundheitspolitische Weichenstellungen bei der Weiterentwicklung der Vorhersagemedizin vier Szenarien betrachten.

### *11.1 Analyse des Genoms auf spezifische, genetisch bedingte Krankheitsrisiken*

Eine partielle Analyse der DNA-Sequenz eines Individuums genügt, um eine Reihe spezifischer Gefährdungen für Krankheiten vorherzusagen. Die heutigen Möglichkeiten einer Gendiagnostik bei Mendelschen Erbkrankheiten werden – vermutlich in naher Zukunft – mehr und mehr auf die Erfassung genetisch bedingter Risiken für einzelne, häufig auftretende, multifaktorielle Krankheiten ausgedehnt werden (bestimmte Formen von Krebs, Diabetes mellitus, Depressionen, Schizophrenie, Herz- und Gefäßerkrankungen, Schlaganfall, neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer-Demenz usw.). Ein Mensch, der an allen für das Auftreten einer bestimmten multifaktoriellen Erkrankung wichtigen Orten seines Genoms eine risikoerhöhende Sequenzvariante (Allel) besitzt oder Träger von kleinen, risikoerhöhenden DNA-Deletionen ist, trägt das maximal mögliche genetische Risiko für die in Frage stehende Krankheit. Im Hinblick auf die Möglichkeiten einer vorbeugenden Medizin ist es wichtig zu beachten, dass die genetischen und umweltbedingten Ursachenbündel, die zu einer multifaktoriellen Krankheit führen, sich bei verschiedenen Menschen sehr erheblich unterscheiden können. Seltene Familien, in denen die Erkrankung wie eine dominante oder rezessive Mendelsche Erbkrankheit weitergegeben wird, bieten die Chance, das in diesen Familien entscheidende, mutierte Gen zu identifizieren und seine Funktion zu analysieren. Solche Untersuchungen sind selbst dann wichtig, wenn die Mutation sehr selten ist und als Krankheitsursache bei den allermeisten Betroffenen daher keine Rolle spielt, denn sie ermöglichen einen ersten Einstieg in komplexe genetische Netzwerke und können so zur Erfassung von Allelen zahlreicher weiterer Gene hinführen, die in ungünstiger Kombination zu einer



genetischen Disposition beitragen, bei der die Gefährdung durch jede einzelne, lokale DNA-Veränderung für sich genommen gering, ja vernachlässigbar ist.

### *11.2 Analyse des Genoms auf alle Krankheitsrisiken mit einem genetischen Hintergrund*

Da in allen Körperzellen mit einem normalen Chromosomensatz das gesamte Genom enthalten ist, sind auch alle solche Körperzellen gleichermaßen als Quelle für die zur genetischen Risikoabschätzung benötigte DNA brauchbar. Der in der Zukunft denkbare Extremfall besteht in der Sequenzierung des gesamten diploiden Genoms eines Individuums. Damit könnten im Prinzip alle genetischen, also durch individuelle Besonderheiten der DNA-Information bedingten Krankheitsrisiken zu jedem Zeitpunkt des Lebens, also auch bereits pränatal, erfasst werden. Dieses rein genetisch bedingte Risiko ändert sich im Laufe des Lebens mit Ausnahme somatischer Mutationen nicht. Solche Mutationen spielen eine große Rolle bei der Krebsentstehung. Auswirkungen auf Nachkommen sind aber nur bei Keimbahnmutationen möglich.

### *11.3 Analyse von spezifischen Umweltfaktoren bei Menschen mit erhöhtem genetischem Risiko für bestimmte multifaktorielle Krankheiten*

Hier geht es um Umweltfaktoren, die bei Individuen mit bestimmten genetischen Dispositionen den Ausbruch der in Frage stehenden Krankheit fördern oder verhindern können. Als Beispiel sei die Erfassung von Umwelteinflüssen genannt, die einen ersten Schub einer Schizophrenie in der Pubertät auslösen können. Wichtige Einflüsse können möglicherweise schon vorgeburtlich, während der Geburt, in einer frühkindlichen Entwicklungsphase oder auch während der Pubertät wirksam werden. Die individuelle Lebensgeschichte eines Menschen kann die Bewertung des genetischen Risikos entscheidend nach oben oder unten verändern. Solche Analysen sind nach wie vor sehr schwierig und werden es auch in absehbarer Zukunft bleiben. Zu den Schwierigkeiten gehören nicht nur methodologische Fragen einer quantitativen Analyse naturwissenschaftlich fassbarer Risikofaktoren in der Umwelt gefährdeter Personen, sondern auch die Gefahr ihrer Stigmatisierung, wenn etwa Eltern und Erzieher junge Menschen vor allem als risikobehaftet wahrnehmen.

### *11.4 Analyse des Epigenoms*

Epigenetische Mechanismen (DNA-Methylierungen, Histonmodifikationen und Positionierung der Nukleosomen) beeinflussen die Chromatinverpackung der DNA. Unter dem Epigenom einer Zelle verstehen wir die langfristig wirksame Chromatinverpackung und Anordnung in dieser Zelle. Umwelteinflüsse können epigenetische Veränderungen auslösen, die langfristige Auswirkungen haben und das individuelle Krankheitsrisiko im Laufe des Lebens verändern. Epigenetische Veränderungen spiegeln daher die individuelle Lebensgeschichte des Individuums wider. Eine aus epigenetischen Analysen gewonnene Vorhersage eines Erkrankungsrisikos kann sich im Lauf des Lebens eines Individuums entscheidend verändern. Die Fragestellung „Zu welchem Prozentsatz sind Genetik oder Epigenetik für ein bestimmtes vererbtes Merkmal verantwortlich?“ ist bei der Abschätzung persönlicher Krankheitsrisiken ebenso verfehlt wie die alte Fragestellung „Was bestimmt den Phänotyp? Gene oder Umwelt?“ (siehe Abschnitte 4 und 5). Solche Fragestellungen verraten einiges über unseren

eingefleischten Wunsch nach einer Vereinfachung komplexer Zusammenhänge. Die Analyse und medikamentöse Beeinflussung epigenetischer Veränderungen spielt schon heute eine Rolle bei Krebserkrankungen, und es ist zu erwarten, dass Analysen des Epigenoms (siehe Abschnitt 8 und Abb. 5) in Zukunft eine immer größere Bedeutung haben werden. Gezielte Untersuchungen des Epigenotyps, also des Verpackungszustands individueller Gene, werden wahrscheinlich schon in wenigen Jahren etabliert sein. Umfassende epigenomweite Analysen werden vermutlich erst sehr viel längerfristig ein Thema der Vorhersagemedizin. Die Möglichkeit einer genomweiten Untersuchung von DNA-Methylierungsmustern zeigt jedoch, dass auch diese Entwicklung rasch vorangeht. Da die Ausprägung des Epigenoms zelltypspezifisch ist, ist es notwendig, die für eine bestimmte multifaktorielle Erkrankung wichtigen Zelltypen zu untersuchen.

Die Sorge, dass die Möglichkeiten der prädiktiven Medizin den unmittelbar Betroffenen dienen und sie nicht stigmatisieren, sollte Priorität für das politische Handeln auf diesem Feld der Gesundheitsvorsorge haben. Bei allen komplexen wissenschaftlichen Überlegungen zu den technischen Möglichkeiten und Grenzen der heutigen und der zukünftigen Medizin, sollten wir die gute, alte Aufgabe des Arztberufs nicht vergessen, Menschen zu helfen, gesund zu bleiben, und alles Notwendige zu tun, damit sie im Falle einer Krankheit so rasch und so umfassend wie möglich ihre Gesundheit wiedererlangen. Dieses Ziel sollte der Kompass bei allen Bemühungen um die Realisierung einer personalisierten Medizin sein, die zunehmend die Besonderheiten einzelner Individuen erfassen und bei der Vorsorge und Behandlung von Krankheiten berücksichtigen will.

### Dank

Der Verfasser dankt Peter PROPPING ML (Bonn) für wertvolle Kommentare zu einem Entwurf dieser Arbeit.

### Literatur

- ALADJEM, M. I.: Replication in context: dynamic regulation of DNA replication patterns in metazoans. *Nature Review Genetics* 8, 588–600 (2007)
- ANWAY, M. D., CUPP, A. S., UZUMCU, M., and SKINNER, M. K.: Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 308, 1466–1469 (2005)
- APPLEYARD, B.: *Brave New Worlds. Staying Human in the Genetic Future*. New York: Penguin Putnam Inc. 1998
- AVERY, O. T., MACLEOD, C. M., and MCCARTY, M.: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *The Journal of Experimental Medicine* 79, 137–158 (1944)
- BARKER, D.: *Mothers, Babies, and Health in Later Life*. Edinburgh: Churchill Livingstone 1998
- BAUR, E., FISCHER, E., und LENZ, F.: *Menschliche Erblehre und Rassenhygiene (Eugenik)*. Bd. I. München, Berlin: J. F. Lehmanns Verlag 1936
- BECKER, T., BHUSHAN, S., JARASCH, A., ARMACHE, J.-P., FUNES, S., JOSSINET, F., GUMBART, J., MIELKE, T., BERNINGHAUSEN, O., SCHULTEN, K., WESTHOF, E., GILMORE, R., MANDON, E., and BECKMANN, R.: Structure of monomeric yeast and mammalian Sec61 complexes interacting with the translating ribosome. *Science Advance publication in Scienceexpress* October 29, 2009, 1–5 (2009)
- BERG, P., and SINGER, M.: *George Beadle. An Uncommon Farmer*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Press 2003
- BERGER, F., and CHAUDHURY, A.: Parental memories shape seeds. *Trends Plant Sci.* 14, 550–556 (2009)
- BLEWITT, M. E., VICKARYOUS, N. K., PALDI, A., KOSEKI, H., and WHITELAW, E.: Dynamic reprogramming of DNA methylation at an epigenetically sensitive allele in mice. *PLoS Genet.* 2, e49 (2006)
- BLUMENBERG, H.: *Der genetische Code und seine Leser*. In: BLUMENBERG, H.: *Die Lesbarkeit der Welt*. S. 372–409. Frankfurt (Main): Suhrkamp 1981

- BOO, H. A. DE, and HARDING, J. E.: The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 46, 4–14 (2006)
- BRANZEI, D., and FOIANI, M.: Regulation of DNA repair throughout the cell cycle. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 297–308 (2008)
- BRUECKNER, F.: A movie of the RNA polymerase nucleotide addition cycle. *Curr. Opin. Struc. Biol.* 19, 294–299 (2009)
- CEDAR, H., and BERGMAN, Y.: Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms. *Nature Rev. Genet.* 10, 295–304 (2009)
- CHONG, S., and WHITELAW, E.: Epigenetic germline inheritance. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14, 692–696 (2004)
- CREMER, T.: Von der Zellenlehre zur Chromosomentheorie. *Naturwissenschaftliche Erkenntnis und Theorienwechsel in der frühen Zell- und Vererbungsforschung*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokio: Springer 1985. Download: [http://humangenetik.bio.lmu.de/service/downloads/buch\\_tc/index.html](http://humangenetik.bio.lmu.de/service/downloads/buch_tc/index.html)
- CREMER, T.: Zukunftsperspektiven der Humangenetik. In: BORCHARD, K., und WALDENFELS, H. (Eds.): *Zukunft nach dem Ende des Fortschrittsglaubens: brauchen wir neue Perspektiven? Grenzfragen Bd. 25*, S. 83–117. Freiburg: Alber 1998a
- CREMER T.: Menschliche Genomanalyse: Auf dem Weg zu einer prädiktiven Medizin? In: BAUER, A. W. (Ed.): *Medizinische Ethik am Beginn des 21. Jahrhunderts. Theoretische Konzepte – Klinische Probleme – Ärztliches Handeln. Reihe Medizin im Dialog*. S. 38–51. Heidelberg, Leipzig: J. A. Barth 1998b
- CREMER, T., and CREMER, C.: Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nature Rev. Genet.* 2, 292–301 (2001)
- CREMER, T., and CREMER, C.: Rise, fall and resurrection of chromosome territories: a historical perspective. Part I. The rise of chromosome territories. *Eur. J. Histochem.* 50, 161–176 (2006a)
- CREMER, T., and CREMER, C.: Rise, fall and resurrection of chromosome territories: a historical perspective Part II. Fall and resurrection of chromosome territories during the 1950s to 1980s. Part III. Chromosome territories and the functional nuclear architecture: experiments and models from the 1990s to the present. *Eur. J. Histochem.* 50, 223–272 (2006b)
- CREMER, T., and CREMER, M.: Chromosome territories. In: MISTELI, T., and SPECTOR, D. (Eds.): *The Nucleus. Cold Spring Harbor Monograph Series Perspectives in Biology 2010* (in press)
- CREMER, T., KURZ, A., ZIRBEL, R., DIETZEL, S., RINKE, B., SCHRÖCK, E., SPEICHER, M. R., MATHIEU, U., JAUCH, A., EMMERICH, P., SCHERTHAN, H., RIED, T., CREMER, C., and LICHTER, P.: The role of chromosome territories in the functional compartmentalization of the cell nucleus. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 58, 777–792 (1993)
- CREMER, T., KRETH, G., KOESTER, H., FINK, R. H. A., HEINTZMANN, R., CREMER, M., SOLOVEL, I., ZINK, D., and CREMER, C.: Chromosome territories, interchromatin domain compartment and nuclear matrix: an integrated view of the functional nuclear architecture. *Crit. Rev. Eukar. Gene* 10, 179–212 (2000)
- CREWS, D., and MCLACHLAN, J. A.: Epigenetics, evolution, endocrine disruption, health, and disease. *Endocrinology* 147, 4–10 (2006)
- CRICK, F.: Contribution to discussion. In: WOLSTENHOME, G. (Ed.): *Man and his Future. A Ciba Foundation Volume*. London: J. & A. Churchill 1963
- CRICK, F.: Diskussionsbeitrag. In: JUNGK, R., und MUNDT, H. J. (Eds.): *Das umstrittene Experiment: der Mensch. 27 Wissenschaftler diskutieren die Elemente einer biologischen Revolution*. S. 302–304. München: Kurt Desch 1966
- CRICK, F.: *What Mad Pursuit*. New York: Basic Books 1988
- CRICK, F.: *Ein irres Unternehmen. Die Doppelhelix und das Abenteuer Molekularbiologie*. München, Zürich: Piper 1990
- CRICK, F. H. C., BARNETT, L., BRENNER, S., and WATTS-TOBIN, R. J.: General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 192, 1227–1232 (1961)
- CROPLEY, J. E., MARTIN, D. I. K., and SUTER, C. M.: Germline epimutations in humans. *Pharmacogenomics* 9, 1861–1868 (2008)
- DARLINGTON, C. D.: Chromosomes and the theory of heredity. *Nature* 187, 892–895 (1960)
- DAVE, U. P., AKAGI, K., TRIPATHI, R., CLEVELAND, S. M., THOMPSON, M. A., YI, M., STEPHENS, R., DOWNING, J. R., JENKINS, N. A., and COPELAND, N. G.: Murine leukemias with retroviral insertions at Lmo2 are predictive of the leukemias induced in SCID-X1 patients following retroviral gene therapy. *PLoS Genetics* 5, e1000491 (2009)
- DAWKINS, R.: *The Selfish Gene*. Oxford: Oxford University Press 1976
- DAWKINS, R.: *Das egoistische Gen*. Hamburg: Rowohlt Taschenbuch Verlag 1996
- DÜRR, H.-P.: Lernen aus Hiroshima und Nagasaki. Die Verantwortung der Naturwissenschaftler. *Wissenschaft & Frieden 2* (Spezial „Vor 55 Jahren: Hiroshima und Nagasaki erleben die atomare Katastrophe“) 2005 (<http://www.uni-muenster.de/PeaCon/wuf/wf-95/9521501m.htm>)
- DUNCAN, D. E.: The DISCOVER Interview: Francis Collins. *DISCOVER* 20. February 2007 (2007)

- DUNN, G. A., and BALE, T. L.: Maternal high-fat diet promotes body length increases and insulin insensitivity in second-generation mice. *Endocrinology* doi:10.1210/en.2009-0500 (2009)
- DUNN, L. C.: *Genetics in the 20th Century*. New York: Macmillan 1951
- ENGEL, C., RAHNER, R., SCHULMANN, K., HOLINSKI-FEDER, E., GOECKE, T. O., SCHACKERT, H. K., KLOOR, M., STEINKE, V., VOGELANG, H., MÖSLEIN, G., GÖRGENS, H., DECHANT, S., KNEBEL DOEBERITZ, M. VON, RÜSCHOFF, J., FRIEDRICH, N., BÜTTNER, R., LOEFFLER, M., PROPPING, P., SCHMIEGEL, W., and *German Hnpcc Consortium*: Efficacy of annual colonoscopic surveillance in individuals with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* (2009, in press)
- FEINGOLD, E. A., GOOD, P. J., GUYER, M. S., KAMHOLZ, S., LIEFER, L., WETTERSTRAND, K., and COLLINS, F. S., (ENCODE Project Scientific Management) and the *ENCODE Project Consortium*: The ENCODE (ENCyclopedia of DNA elements) project. *Science* 306, 636–640 (2004)
- FOX KELLER, E.: *Refiguring Life. Metaphors of the Twentieth Century Biology*. New York: Columbia University Press 1995
- FOX KELLER, E.: *Das Leben neu denken. Metaphern der Biologie im 20. Jahrhundert*. München: Antje Kunstmann 1998
- FOX KELLER, E.: *The Century of the Gene*. Cambridge (MA, USA): Harvard University Press 2000
- GALTON, F.: Eugenics its definition, scope and aims. *The American Journal of Sociology* 10, 1 (1904)  
zitiert nach: <http://galton.org/essays/1900-1911/galton-1904-am-journ-soc-eugenics-scope-aims.htm>
- GERSTEIN, M. B., BRUCE, C., ROZOWSKY, J. S., ZHENG, D., DU, J., KORBEL, J. O., EMANUELSSON, O., ZHANG, Z. D., WEISSMAN, S., and SNYDER, M.: What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition. *Genome Research* 17, 669–681 (2007)
- GLAD, J.: Hermann J. Muller's 1936 letter to Stalin. *The Mankind Quarterly* 43, 305–319 (2003)
- GLUCKMAN, P. D., and HANSON, M. A.: Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 305, 1733–1736 (2004)
- GÖNDÖR, A., and OHLSSON, R.: Chromosome crosstalk in three dimensions. *Nature* 461, 212–217 (2009)
- GOLDSCHMIDT, R. B.: Gen und Außeneigenschaft. Untersuchungen an Drosophila (I und II). *Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre* 69, 38–131 (1935)
- GOLDSCHMIDT, R. B.: *Erlebnisse und Begegnungen aus der großen Zeit der Zoologie in Deutschland*. Berlin: Parey 1959
- GRIFFITH, F.: The significance of pneumococcal types. *J. Hygiene* 27, 113–159 (1928)
- GUNKEL, M., ERDEL, F., RIPPE, K., LEMMER, P., KAUFMANN, R., HÖRMANN, C., AMBERGER, R., and CREMER, C.: Using conventional fluorescent markers for far-field fluorescence localization nanoscopy allows resolution in the 10-nm range. *J. Microsc.* 235, 163–171 (2009)
- GUO, X. Y., ZHANG, Z. L., GERSTEIN, M. B., and ZEHNG, D. Y.: *PLoS Computational Biology* 5, e1000449 (2009)
- GÜTT, A., RÜDIN, E., and RUTTKE, F.: *Gesetz zur Verhütung erbkranken Nachwuchses*. München: J. F. Lehmanns Verlag 1934
- HAGEMANN, R.: Das Watson-Crick-Modell – Die DNA-Doppelhelix. Die Vorgeschichte der Entdeckung und die Rolle des Protein-Paradigmas. *Acta Historica Leopoldina* 48, 113–158 (2007)
- HAGER, G. L., and MITELI, T.: Transcription dynamics. *Mol. Cell* 35, 741–753 (2009)
- HAUSMANN, R.: ... und wollten versuchen das Leben zu verstehen .... Betrachtungen zur Geschichte der Molekularbiologie. Darmstadt: Wissenschaftliche Buchgesellschaft 1995
- HELL, S.: Fluorescence nanoscopy goes multicolor. *Nature Biotechnol.* 25, 1234–1235 (2007)
- HENIKOFF, S.: Nucleosome destabilization in the epigenetic regulation of gene expression. *Nature Rev. Genet.* 9, 15–26 (2008)
- HERSHEY, A. D., and CHASE, M.: Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* 36, 39–56 (1952)
- HOFMANN, G. VON: *Die Rassenhygiene in den Vereinigten Staaten von Nordamerika*. München: J. F. Lehmanns Verlag 1913
- JENUWEIN, T., and ALLIS, C.D.: Translating the histone code. *Science* 293, 1074–1080 (2001)
- JOHANNES, F., COLOT, V., and JANSEN, R. C.: Epigenome dynamics: a quantitative genetics perspective. *Nature* 9, 883–890 (2008)
- JOHANNSEN, W.: *Elemente der exakten Erblichkeitslehre*. Jena: Verlag von Gustav Fischer 1909
- JONES, P. A., and LIANG, G.: Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nature Rev. Genet.* 10, 805–811 (2009)
- KAMINSKY, Z. A., TANG, T., WANG, S.-C., PTAK, C., OH, G. H. T., WONG, A. C. H., FELDCAMP, L. A., VIRTANEN, C., HALFVARSON, J., TYSK, C., MCRAE, A. F., VISSCHER, P. M., MONTGOMERY, G. W., GOTTESMAN, I. I., MARTIN, N. G., and PETRONIS, A.: DNA methylation profiles in monozygotic and dizygotic twins. *Nature Genet.* 41, 240–245 (2009)

- KAY, L. E.: Who Wrote the Book of Life? A History of the Genetic Code. Palo Alto: Stanford University Press 2000
- KAY, L. E.: Das Buch des Lebens. Wer schrieb den genetischen Code. München, Wien: Carl Hanser Verlag 2001
- KEVLES, D. J.: In the Name of Eugenics. Berkeley: University of California 1985
- KIM, E., GOREN, A., and AST, G.: Alternative splicing: current perspectives. *Bioessays* 30, 38–47 (2008)
- KLIER, A.-B., und CREMER, T.: Entwicklung zum Tod: der Prozess des Alterns aus evolutionsbiologischer Sicht. In: WEGNER, G. (Ed.): *Naturwissenschaftlich fundierte Ökologie. Wissen, Verantwortung, Aufgaben. Grenzfragen Bd. 30*, S. 91–142. Freiburg i. Br., München: Albers Verlag 2007
- KOEHLER, A., and HURT, E.: Exporting RNA from the nucleus to the cytoplasm. *J. Mol. Cell. Biol.* 8, 761–768 (2007)
- KOSSEL, A.: The chemical composition of the cell nucleus. Nobel Lecture, December 1910  
[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1910/kossel-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1910/kossel-lecture.html)
- LANCOT, C.: Positioning of the mouse Hox clusters in the nuclei of developing embryos and differentiating embryoid bodies. *Exp. Cell Res.* 313, 1449–1459 (2007)
- LEHMANN, K.: Das Recht, ein Mensch zu sein – Zur Grundfrage der gegenwärtigen bioethischen Probleme. In: LEHMANN, K.: *Zuversicht aus dem Glauben. Die Grundsatzreferate des Vorsitzenden der Deutschen Bischofskonferenz*. Freiburg i. Br.: Herder 2006
- LEVENE, P. A., and JACOBS, W. A.: On the structure of thymus nucleic acid. *J. Biol. Chem.* 12, 411–420 (1912)
- LIEBERMANN-AIDEN, E., VAN BERKUM, N. L., WILLIAMS, L., IMAKAEV, M., RAGOCZY, T., TELLING, A., AMIT, I., LAJOIE, B. R., SABO, P. J., DORSCHNER, M. O., SANDSTROM, R., BERNSTEIN, B., BENDER, M. A., GROUDINE, M., GNIRKE, A., STAMATOYANNOPOULOS, J., MIRNY, L. A., LANDER, E. S., and DEKKER, J.: Comprehensive mapping of long-range interactions reveals unfolding principles of the human genome. *Science* 326, 289–293 (2009)
- LING, C., and GROOP, L.: Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes* 58, 2718–2725 (2009).
- LUMEY, L. H., and STEIN, A. D.: Offspring birth weights after maternal intrauterine under nutrition: a comparison within sibships. *Amer. J. Epidemiol.* 146, 810–819 (1997)
- LYSENKO, T. D.: Address delivered on the situation in biological science. In: *The Situation in biological Science. Proceedings of the Lenin Academy of Agricultural Sciences of the U.S.S.R.* Moscow: Foreign Languages Publishing House 1949
- MADDOX, B.: Rosalind Franklin. The Dark Lady of DNA. London: Harper Collins Publishers 2002
- MAYR, E.: *The Growth of Biological Thought*. Cambridge (MA, USA): Harvard University Press 1982
- MAYR, E.: *Die Entwicklung der biologischen Gedankenwelt*. Heidelberg: Springer 2002
- MARTIN, D., and SUTER, M.: Environmental influence on epigenetic inheritance at the A<sup>vy</sup> allele. *Nutrition Rev.* 66, 512–514 (2008)
- MENDEL, G.: *Versuche über Pflanzen-Hybriden* (1866). Download: <http://www.mendelweb.org/MWGerText.html>
- MENDES SOARES, L. M., and VALCARCEL, J.: Intron removal requires proofreading of U2AF/3' splice site recognition by DEK. *Science* 312, 1961–1965 (2006)
- MIESCHER, F.: *Chemische Zusammensetzung der Eiterzelle*. Hoppe-Seyler's Medicinisch-chemische Untersuchungen Heft IV, 441–460 (1871)
- MISTELI, T., and SOUTOGLOU, E.: The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 10, 243–254 (2009)
- MITSCHURIN, I. W.: *Gesammelte Werke. Bd. IV*. Moskau: Selchosgis 1948
- MORGAN, T. H.: *The Theory of the Gene*. New Haven: Yale University Press 1926
- MULLARD, A.: DNA replication – follow the path. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 424–425 (2008)
- MULLER, H. J.: *Out of the Night: A Biologist's View of the Future*. New York: Vanguard Press 1935
- MULLER, H. J.: *Our Load of Mutation*. Presidential Address to the American Society of Human Genetics 1949. *Amer. J. Hum. Genet.* 2, 111–176 (1950)
- MULLER, H. J.: Genetic progress by voluntarily conducted germinal choice. In: WOLSTENHOM, G. (Ed.): *Man and his Future*. A Ciba Foundation Volume. London: J. & A. Churchill 1963
- MULLER, H. J.: Genetischer Fortschritt durch planmäßige Samenwahl. In: JUNGK, R., und MUNDT, H. J. (Eds.): *Das umstrittene Experiment: der Mensch*. 27 Wissenschaftler diskutieren die Elemente einer biologischen Revolution. S. 277–291. München: Kurt Desch 1966
- MÜLLER-WILLE, S., und RHEINBERGER, H.-J.: *Das Gen im Zeitalter der Postgenomik. Eine wissenschaftliche Bestandsaufnahme*. Frankfurt (Main): Suhrkamp 2009
- MURKEN, J., und CLEVE, H.: *Humangenetik*. 6. Aufl. Stuttgart: Thieme 1996
- NIRENBERG, M. W., and MATTHEI, J. H.: The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 47, 1588–1602 (1961)
- PAULING, L., ITANO, H. A., SINGER, S. J., and WELLS, I. C.: Sick cell anemia a molecular disease. *Science* 110, 543–548 (1949)

- PEMBREY, M. E.: Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur. J. Hum. Genet.* *14*, 159–166 (2006)
- PENNISI, E.: Environmental epigenomics meeting. Food, tobacco, and future generations. *Science* *310*, 1760–1761 (2005)
- PFEIFFER, J.: *Hirnforschung in Deutschland 1849 bis 1974. Schriften der mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse der Heidelberger Akademie der Wissenschaften Nr. 13.* Heidelberg: Springer 2004
- PILATZ, A., ZIEGERT, C., und SEICHTER, J.: Sterilisation bei Einwilligungsunfähigen: Medizin, Recht und Ethik. *Dtsch. Ärztebl.* *105*, A-1131–1133 (2008)
- PINKER, S.: *Das unbeschriebene Blatt. Die moderne Leugnung der menschlichen Natur.* Berlin: Berlin Verlag GmbH 2003
- PROBST, A. V., DUNLEAVY, E., and ALMOUZZI, G.: Epigenetic inheritance during the cell cycle. *Mol. Cell Biol.* *10*, 192–206 (2009)
- PROKHORTCHOUK, E., and DEFOSEZ, P.-A.: The cell biology of DNAN methylation in mammals. *Biochem. Biophys. Acta* *1783*, 2167–2173 (2008)
- RAKYAN, V. K., and BECK, S.: Epigenetic variation and inheritance in mammals. *Current Opinion in Genetics and Development* *16*, 573–577 (2006)
- RAVELLI, A. C., VAN DER MEULEN, J. H., MICHELS, R. P., OSMOND, C., BARKER, D. J., HALES, C. N., and BLEKER, O. P.: Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* *351*, 173–177 (1998)
- REDON, R., ISHIKAWA, S., FITCH, K. R., FEUK, L., PERRY, G. H., ANDREWS, T. D., FIEGLER, H., SHAPERO, M. H., CARSON, A. R., CHEN, W., CHO, E. K., DALLAIRE, S., FREEMAN, J. L., GONZÁLEZ, J. R., GRATACÒS, M., HUANG, J., KALAITZOPOULOS, D., KOMURA, D., MACDONALD, J. R., MARSHALL C. R., MEI, R., MONTGOMERY, L., NISHIMURA, K. N., OKAMURA, K., SHEN, F., SOMERVILLE, M. J., TCHINDA, J., VALSESIA, A., WOODWARK, C., YANG, F., ZHANG, J., ZERJAL, T., ZHANG, J., ARMENGOL, L., CONRAD, D. F., ESTIVILL, X., TYLER-SMITH, C., CARTER, N. P., ABURATANI, H., LEE, C., JONES, K. W., SCHERER, S. W., and HURLES, M. E.: Global variation in copy number in the human genome. *Nature* *444*, 444–454 (2006)
- RHEINBERGER, H.-J., und MÜLLER-WILLE, S.: *Vererbung. Geschichte und Kultur eines biologischen Konzepts.* Frankfurt (Main): Fischer Taschenbuch Verlag 2009
- RICHARDS, E. J.: Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Review Genetics* *7*, 395–401 (2006)
- ROUQUETTE, J., GENOUD, C., VAZQUEZ-NIN, G. H., KRAUS, B., CREMER, T., and FAKAN, S.: Revealing the high-resolution three-dimensional network of chromatin and interchromatin space: a novel electron-microscopic approach to reconstructing nuclear architecture. *Chromos. Res.* *17*, 801–810 (2009)
- SAZE, H.: Epigenetic memory transmission through mitosis and meiosis in plants. *Cell Dev. Biol.* *19*, 527–536 (2008)
- SCHILLING, F. H., SPIX, C., BERTHOLD, F., ERTTMANN, R., FEHSE, N., HERO, B., KLEIN, G., SANDER, J., SCHWARZ, K., TREUNER, J., ZORN, U., and MICHAELIS, J.: Neuroblastoma screening at one year of age. *New Engl. J. Med.* *346*, 1047–1053 (2002)
- SCHLENK, F.: Early nucleic acid chemistry. *Trends Biochem. Sci.* *13*, 67–69 (1988)
- SCHRÖDINGER, E.: *What Is Life.* Cambridge: Cambridge University Press 1944
- SCHRÖDINGER, E.: *Was ist Leben? – Die lebende Zelle mit den Augen des Physikers betrachtet.* 2. Aufl. München: Leo Lehnen Verlag (Sammlung Dalp) 1951
- SHOCKLEY, W. B.: Population control or eugenics. In: ROSLANSKY, J. D. (Ed.): *Genetics and the Future of Man. A Discussion at the Nobel Conference;* pp. 65–105. Amsterdam: North Holland Publishing Company 1966
- STERN, A. A.: *Eugenic Nation. Faults and Frontiers of Better Breeding in Modern America.* Berkeley, Los Angeles, London: University of California Press 2005
- STRAHL, B. D., and ALLIS, C. D.: The language of covalent histone modifications. *Nature* *403*, 41–45 (2000)
- STUDITZKI, A. N.: Die mendelstisch-morganistische Genetik im Dienste des amerikanischen Rassismus. In: MITIN, M. B., NUSHDIN, N. I., OPARIN, A. I., SISSAKIAN, N. M., and STOLETOW, W. N.: *Gegen den reaktionären Mendelismus-Morganismus.* S. 399–428. Berlin: Deutscher Verlag der Wissenschaften 1953
- SUZUKI, M. M., and BIRD, A.: DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Genetics* *9*, 465–476 (2008)
- SWAMI, M.: Deciding between the alternatives. Research highlights. *Nature Genet.* *10* (2009)
- SYDOW, J. F., and CRAMER, P.: Structural basis of transcription: Mismatch-specific fidelity mechanisms and paused RNA polymerase II with frayed RNA. *Mol. Cell.* *34*, 710–721 (2009)
- THANNHAUSER, S.: *Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten.* München: J. F. Bergmann 1929
- UNSCHULD, P. U.: *Was ist Medizin? Westliche und östliche Wege der Heilkunst.* München: C. H. Beck 2003
- VARGAS, A.: Did Paul Kammerer discover epigenetic inheritance? A modern look at the controversial midwife toad experiments. *Mol. Dev. Evol.* *312B*, 667–678 (2009)

- VERSCHUER, O. Frhr. VON: Erbpathologie. Ein Lehrbuch für Ärzte. In: GROTE, L. R., FROMME, A., und WARNEKROS, K.: Medizinische Praxis. Sammlung für ärztliche Fortbildung. Bd. 18. Dresden, Leipzig: Theodor Steinkopf 1934
- WADDINGTON, C. H.: Principles of Embryology. London: George Allen & Unwin 1956
- WALLACE, B.: Die genetische Bürde: ihre biologische und theoretische Bedeutung. Jena: Fischer 1974
- WANG, W.: Emergence of a DNA-damage response network consisting of Fanconi anaemia and BRCA proteins. *Nature Genetics* 8, 735–748 (2007)
- WATERLAND, R. A.: Does nutrition during infancy and early childhood contribute to later obesity via metabolic imprinting of epigenetic gene regulatory mechanisms? Nestlé Nutrition Institute Workshop Series Pediatric Program 56, 157–171; discussion 171–174 (2005)
- WATSON, J. B.: Behaviorism. New York: Norton 1925
- WATSON, J. D.: The Double Helix. London: Weidenfeld and Nicholson 1968
- WATSON, J. D.: Die Doppelhelix. Reinbek bei Hamburg: Rowohlt Taschenbuch Verlag 1997
- WATSON, J. D.: Good gene, bad gene: What is the right way to fight the tragedy of genetic disease. In: WATSON, J. D.: A Passion for DNA. Genes, Genomes and Society. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2000a
- WATSON, J. D.: Genes and politics. In: WATSON, J. D.: A Passion for DNA. Genes, Genomes and Society. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2000b
- WATSON, J. D., and CRICK, F.: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171, 737–738 (1953a)
- WATSON, J. D., and CRICK, F.: Genetic implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 171, 964–969 (1953b)
- WEINGART, P., KROLL, J., und BAYERTZ, K.: Rasse, Blut und Gene: Geschichte der Eugenik und Rassenhygiene in Deutschland. Frankfurt (Main): Suhrkamp 1996
- WEINZIERL, R. O. J., DYNLACHT, B. D., and TIJAN, R.: Largest subunit of Drosophila transcription factor II D directs assembly of a complex containing TBP and a coactivator. *Nature* 362, 511–517 (1993)
- WHITELAW, E.: Epigenetics: sins of the fathers, and their fathers. *European Journal of Human Genetics* 14, 131–132 (2006)
- WHITELAW, N. C., and WHITELAW, E.: How lifetimes shape epigenotype within and across generations. *Human Molecular Genetics* 15/ Special No. 2, R131–R137 (2006)
- WHITELAW, N. C., and WHITELAW, E.: Transgenerational epigenetic inheritance in health and disease. *Current Opinion in Health and Disease* 18, 273–279 (2008)
- WOLF, U.: Identical mutations and phenotypic variation. *Human Genetics* 100, 305–321 (1997)
- WOLSTENHOLME, G. (Ed.): Man and his Future. A CIBA Foundation Volume. London: Churchill 1963
- WU, J. Q., DU, J., ZHANG, Z., URBAN, A. E., EUSKIRCHEN, G., WEISSMAN, S., GERSTEIN, M., and SYNDER, M.: Systematic analysis of transcribed loci in ENCODE regions using RACE sequencing reveals extensive transcription in the human genome. *Genome Biology* 9, R3 (2008)
- YOO, A. S., and CRABTREE, G. R.: ATP-dependent chromatin remodeling in neural development. *Curr. Opin. Neurobiol.* 19, 120–126 (2009)
- ZIMBARDO, P. G.: Psychologie. 4. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer 1983

Prof. Dr. THOMAS CREMER  
Lehrstuhl für Anthropologie und Humangenetik  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Biozentrum  
Grosshadernerstraße 2  
82152 Martinsried  
Bundesrepublik Deutschland  
Tel.: +49 89 218074329  
Fax: +49 89 218074331  
E-Mail: Thomas.Cremer@lrz.uni-muenchen.de  
<http://www.t-cremer.de/>

# **Festakt zur Ernennung der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina zur Nationalen Akademie der Wissenschaften**

## **Ceremony to Mark the Nomination of the German Academy of Sciences Leopoldina to the National Academy of Sciences**

Nova Acta Leopoldina N. F., Bd. 98, Nr. 362

Herausgegeben vom Präsidium der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina  
(2009, 76 Seiten, 50 Abbildungen, 21,95 Euro, ISBN: 978-3-8047-2551-5)

Die Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina wurde am 14. Juli 2008 im Rahmen eines Festaktes in Halle zur Nationalen Akademie der Wissenschaften ernannt. Damit erhielt Deutschland – wie andere europäische Länder oder die USA – eine Institution, die Politik und Gesellschaft wissenschaftsbasiert berät und die deutsche Wissenschaft in internationalen Gremien repräsentiert. Der Band dokumentiert den Festakt mit der Übergabe der Ernennungsurkunde durch die Vorsitzende der Gemeinsamen Wissenschaftskonferenz und Bundesministerin für Bildung und Forschung Annette SCHAVAN. Er enthält die Reden von Bundespräsident Horst KÖHLER, Sachsens-Anhalts Ministerpräsident Wolfgang BÖHMER und Leopoldina-Präsident Volker TER MEULEN sowie den Festvortrag „Rolle und Verantwortung nationaler Akademien der Wissenschaften“ von Jules A. HOFFMANN, Präsident der Académie des sciences, Paris. Der Aufbau einer Nationalen Akademie ist ein richtungsweisender Schritt für die deutsche Forschungslandschaft, da für den kontinuierlichen Dialog von Wissenschaft und Politik eine solche Einrichtung erforderlich wurde. Der Publikation ist eine DVD mit dem Mitschnitt der Festveranstaltung beigelegt.



## Research on Human Life – New Demands for Moral and Ethical Discourses

Hans-G. ULRICH (Erlangen)

### *Abstract*

Modern life sciences are a particular challenge to moral, ethical, philosophical and theological reflection. This touches fundamental issues of *conditio humana*. The paper discusses basic issues of the nature of humans, the notions of nature and science and their reflection in the ethical discourse.

### *Zusammenfassung*

Die modernen Biowissenschaften fordern in besonderem Maße moralische, ethische, philosophische und theologische Reflexionen heraus. Davon werden fundamentale Probleme der *conditio humana* berührt. Der Beitrag behandelt grundlegende Fragen des Menschseins, des Natur- und Wissenschaftsverständnisses und deren Widerspiegelung im ethischen Diskurs.

### **1. Introduction**

When we look in the endless world of debates in the field of bio-sciences and ethics – as we can do e.g. in a most recently published collection of essays on *Bioethics in Cultural Contexts* (REHMANN-SUTTER et al. 2006) –, we are still confronted with the situation that bio-sciences and medicine come into consideration for other disciplines and fields of reflection like “bio-ethics” (what ever this means), bio-philosophy, ethics in general or theology within the context of specific ethical, philosophical or theological frameworks and questions. Bioscience and medicine then will be considered or reconsidered in a certain context of reflection – the moral, ethical, the philosophical and the theological. This is of course a necessary, fruitful and still open task.

There is a whole list of most important reflected moral, ethical, philosophical and theological questions and issues – as we can find them in numerous publications on bioethics.<sup>1</sup> The reflections refer to general topics like gene-therapy, diagnosis, cloning, stem-cell research. The moral or ethical topics concern basic problems of our human condition and its moral implications.

It is striking that in these debates almost no particular details of knowledge within the various fields of scientific research play a significant – direct – role for moral or ethical ques-

---

<sup>1</sup> See Dietmar MIETH's overview “The need for ethical Evaluation in Biomedicine and Biopolitics” 2006.

tions. The ethical questions and topics seem to be widely independent of the actual status of knowledge within the scientific field.

Many topics are so fundamental that they seem to be not really touched by details of scientific research. For instance: There is some knowledge about aging. In what sense do we have to distinct the ability to “regeneration” of individuals from their ability to “reproduction”? What is the relation between regeneration and reproduction – as to what extent is our given “nature” primarily directed to the ability to reproduction and not to regeneration? Why do many work intensively on an improvement of the ability of regeneration? Any reflection on the enlargement of human life span then may be in tension or contradiction to that disposition. Or – to take an other example – the question in what sense we, human beings, participate in a normal frame of life, within a limited area of certain variations, so that certain variations can be signified as a set of diseases which is in itself limited and not open in any direction. Here any knowledge about the range of diseases, which are “embedded” in our human nature and the limits of its development, could become very important, and raise questions about “normality” or about a “normal” human life.

There are many questions of that kind, which depend on certain knowledge, for instance the question for the stability of our human condition, the contingency of variations etc. Ethicists at this point would like to get specific knowledge which they need in order to articulate ethical questions.

## 2. Knowledge and Moral Reflection

Therefore, when we talk about different languages within ethics and science or even about different cultures we have to notice this quite specific separation or independence – the separation between ethical discourses from scientific knowledge, from development of knowledge and its reflection in theories of knowledge on the one hand and ethical or moral reflection on the other.

The very question, however, is for any ethical discourse, which deals with our living as human beings in this world, how it is related to cognition and knowledge, and how it is able to refer to the world of knowledge in all its relevant details for instance in biosciences, and how and to what extent this knowledge will change ethical or moral questions and problems. When we look backwards and read in a report about the “crisis of gen-therapy” (GRAUMANN 2003) from the perspective of rapidly changed knowledge we have to ask in what sense it has also affected the ethical discourses.

Of course we have also to ask the other way around – i.e. for the awareness of scientists to what we may call “ethical” knowledge or perhaps ethical know how, but this then is a further chapter of debate, and I will follow here firstly the other one. In my work together with Walter DOERFLER I have learned a lot about the importance of that reflection for any ethical question. We have to look for the intersection of scientific knowledge and ethical reflection, and we have to ask how scientific knowledge may provide or demand a change in moral or ethical thoughts and issues.

When we draw the attention to that possible interrelation we will find I guess immediately many interesting examples for a close connection or correlation between scientific knowledge and moral or ethical reflection. There are simple but anyway striking examples for that close interrelation of scientific data and moral judgments. I take one from Francis COLLINS *The*

*Language of God* (2006), when he discusses the question of the beginning of an individual's life. He refers to the commonplace statement that an individual's life begins with the union of sperm and egg. COLLINS argues: "From a biologist's perspective [...] there is [...] no convenient biological dividing line between a human being and embryonic form that might be called 'not quite there yet'. [...] Interesting light has been shed on this issue from the existence of identical twins, who develop from a single fertilized egg. Very early in development (presumably at the two-cell-stage), the embryo comes apart, resulting in two distinct embryos with identical DNA sequences. No theologian would argue that identical twins lack souls, or that they share a single soul. In these cases, therefore, the insistence that the spiritual nature of a person is uniquely defined at the very moment of conception encounters a difficulty."<sup>2</sup> This point is in accordance with theological and philosophical traditions, which see the beginning of personal life independent from a specific stage of development.<sup>3</sup>

This is of course a simple example. The research on human genetics and epigenetics has yielded significant details, which touch the question for our moral and ethical behavior: for instance new knowledge about diseases correlated with "genes" within an individual's genome and expressed in an individual person which are, however, at the same time rooted in a common human genome. This fact that diseases are to be found within a common genome touches the moral principle of solidarity. This is still the fundamental basis for public healthcare. If diseases are implemented in a common genome or even in what we may call our "human nature" then solidarity with those who are affected by any diseases can be seen embodied in that given common nature. This touches the discourse on solidarity insofar as solidarity then refers to that common nature.

### **3. Is and Ought – "Moral Naturalism"?**

At this point there may be brought up the classic argument that an "ought" does not follow an "is". But we have to be cautious, not to use this argument in order to separate any moral "ought" from what we have to know about our human "bodily" existence and, mediated to that knowledge, from that existence. Rather we have to look for details within scientific knowledge, which may concern very much the ethical discourses.

This track from scientific knowledge to ethical reflection becomes all the more important as scientific knowledge brings about more and more "data" which may change scientific models and theories in a dramatic way. Of course we have to be aware, that there are not plain "data" but "data" connected with or mediated through articulated models, theories and interpretations. Nevertheless, this is the kind of articulated knowledge ethics has to relate to in order to understand. Understanding may depend on certain details, even seemingly marginal details, which may cause a new understanding of the whole issue.

The communication between biosciences and ethics (or humanities) then is not only and not primarily needed because of consequences which may come from medical practices or from the imagination or prediction of that practices but rather – more dramatic – because of the increase and change of knowledge. The task of ethics then is not to make this knowledge understandable or acceptable within an already given moral or ethical context – rather to be

---

<sup>2</sup> COLLINS 2006, p. 250.

<sup>3</sup> For the discussion within the theological context see ULRICH-ESCHEMANN 2000.

aware of the demand for changes, perhaps rapid changes and transformations of that moral and ethical context itself. We may suppose e.g. that there will be deep changes for the ethical discourse when bio-scientists differentiate e.g. the knowledge about cell-mechanisms and the possibility to use cells for regeneration processes. (We will come back to that issue later.)

Insofar ethics relates to our human “embodied” nature it has to be aware of any scientific knowledge of this embodied nature.<sup>4</sup> Ethics has to interpret this knowledge as science itself presents interpretations. Both, biosciences and ethics share the question in what sense the “human nature” has to be respected or to taken normative insofar as they are not in a position beyond the task of understanding that nature. This is different from any “naturalism” according to which moral norms have to be “grounded” in an “objective” given nature, which is not “given” within the medium of that communication but in independent “data” about that “nature”.<sup>5</sup>

#### **4. Limits of Knowledge – Limits within “Nature” – Moral Limits**

When we talk about scientific knowledge and ethics we are confronted with the fact that any scientific knowledge includes also reflections about certain limits of knowledge – i.e. on the one hand about the limits of research (perhaps because of methodological limits, i.e. barriers to get knowledge by experiments etc.) which of course are on the agenda to be overcome, and on the other hand also limits which seem to be – so far – fundamental and which cannot be broken down within the given status of fundamental thoughts and paradigms. Reflections on both kinds of limits cause again the question how they affect the moral and ethical discourse and articulated limits within this discourse.

Scientific knowledge is the more worthwhile the more it is able in itself to follow the unceasing critical question for evidence or “truth”, the more it is able to be aware of the complex simultaneous development of knowing and a certain “knowledge” of not knowing.

Here we have to talk about the difference between diverse limits of scientific research on the one hand and moral or ethical limits on the other, which we may identify as – perhaps – given moral limits (connected with our nature) and ethical limits within our familiar contexts of living. It is then most important how the limits of knowledge touch moral or ethical limits or how they do not touch such limits because they are far away from affecting them. For example: what is really known about the possibilities of gene therapy, what are the perhaps decisive details? As to what extent is the moral debate quite virtually because of a lack of knowledge?

Equally important and most interesting is also the question how the limits of knowledge (perhaps together with moral limits) are related to limits, which are inscribed into what we call “nature”. The scientific task then is to discover that limits. In this sense scientific research is very much needed for any moral and ethical discourse, which may try to refer to “given” limits. Scientific knowledge – e.g. about the possibility of “therapeutic cloning” – may include in the end insights in insurmountable limits. This may show that the problem is different from the question of risks and reveal fundamental contours of our human condition.

The research on limits must not – of course – result in constraints for human endeavor and development but rather provoke new ideas, which may open up new wide areas of discovery.

---

4 Here has to be discussed the distinction between “body”, “embodiment” and “corporeality”. See BÖHME 2002.

5 See for the theological discourse SCHOBERTH 2006.

## 5. Limits and Finitude

In this sense we may say with Michel FOUCAULT that bio-science is working – despite such limits – in an infinite field, and bio-science is one of three sciences (beginning in the 17<sup>th</sup>–18<sup>th</sup> Century) – as sciences of language and of economy – which opened up the infinity of our (human) reality and its research. Together with the emergence of these sciences in infinite fields new questions arose about the finitude and the limits of human perspectives related to language, to economy and to “life”.

The field of life is open for infinite research on the one hand and provoking all the more the question for its finitude, i.e. the defined contour of our human nature. “Finitude” must not mean limitation or restriction – rather it means in this context a specific definition in a throughout positive sense, a profile. The immense wide space of living in its specific infinity includes a certain concurrent finitude, which gives “nature” its positive meaning. And this is the most interesting point of research for ethical reflection.

We may refer here to Dietrich BONHOEFFER’s theological ethics in which he has elaborated this issue in a concise theological reflection: “Natural life is formed life. The natural is form, immanent in life and serving it. If life detaches itself from this form, if it seeks to break free and to assert itself in isolation from this form, if it is unwilling to allow itself to be served by the form of the natural, then it destroys itself to the very roots. [...] God desires life, and He gives life a form in which it can live, because if it is left to itself it can only destroy itself.”<sup>6</sup>

This interpretation – (which may be addressed especially to Protestants because of their tendency to forget nature as a place of recognition what God’s will is about) – includes a fundamental epistemological presupposition: “Reason is not a divine principle of knowledge and order in man which is raised above the natural, but it is itself a part of this preserved form of life, namely that part which is adapted to the function of introducing into the consciousness of ‘perceiving’, as a unity whatever is entire and general in the real.”<sup>7</sup>

Therefore the epistemological demand for any ethics consists in this task of “perception” or “understanding” – in order to bring to the fore what nature is meant to be.<sup>8</sup>

Ethical reflection and bio-scientific research concur in this task – to understand “nature” and human nature in its infinity and its finitude, form, and profile. It is not on ethics to talk about limits without certain knowledge about a definite profile, a form of life (BONHOEFFER’s phrase) or form of human life. Ethical reflection has in this sense to be embedded in knowledge, as it has reason in general, ethical reflection has not to ask independently what is (according to a separate moral principle) allowed or forbidden to do but rather what are we, human beings, scientists, etc. really, in view of all the complexities and limits, able to do or invited to do, and on what basis of knowledge and understanding of that nature we are – including our reason – part of.

The classic question for theologians, philosophers and also for scientists is always “Do you understand, what you observe, do you understand what you read or what you describe?” and this entails the more fundamental question “Did you find something which has to be transformed into knowledge, which can be and should be transformed into knowledge?” etc. And then – of course follows again the question what “knowledge” consists of, and what knowledge is about, in what sense knowledge includes ethical reflection, wisdom etc.

---

6 BONHOEFFER et al. 1971, p. 149.

7 BONHOEFFER et al. 1971, p. 146.

8 See for further discussion within the theological context HAUERWAS 2002.

## 6. Ontological Questions

There is within the ethical and moral discourses a new interest on “ontological” questions not at least provoked and stimulated by the revolutionary development in the biosciences. Ontological questions are questions about what we may call “reality”, or what we may call our human “reality”. The philosophical debate here is about the fundamental question if what we call “reality” is related to the distinction between the (supposed) known and the (supposed) unknown.

It would be (according to that discourse) nihilistic to confine knowledge to what is already known (or intuitively given) instead of looking for the changing and renewing of our knowledge, which may come from new insights.<sup>9</sup> It would be nihilistic to argue that we already “have” the reality, as it would be nihilistic to ignore what we know and follow the abstract imperative that everything is changing or should be changed.

## 7. *Secundum Naturam* – In Accordance with Nature

The common way of understanding what we call “nature” presupposes that any of our human activities including of course the medical practices should (!) not be in conflict with “nature”, should not oppose “nature” or destroy “nature”. This does not mean that “nature” should not be changed by our human activities but that this change still has to occur in relation to the profile of nature (which is also reflected within the various theories of evolution). In this wider sense we have to reflect ethically how we act according to nature (*secundum naturam*). We presuppose that what we call “nature” is of course not simply there, but also produced, constructed by ourselves.<sup>10</sup> This construction, however, has to be “according to a nature” which is connected with us, as long as we are interested not only to live (more or less) in a vague harmony with nature (because of several reasons) but also because we presuppose that we have in the long run to cooperate, to interact and to communicate with nature, and that we are not able really to replace nature by our own constructions, that we on the contrary have to understand that nature which is “given” to us or even “addressed” to us. Nature is still more, and we therefore are interested to understand more. This “nature” is called in a theological language “creation”.<sup>11</sup>

The question “What does mean ‘secundum naturam’?” is a shared question between science and ethics. It includes the question if “nature” as we can know something about it and as we can understand it could help us to find what we according to that knowledge *can* do and what we therefore (because we are able to do it) also *should* do. There has been often discussed the question “Are we morally or ethically permitted to do what we can?” Instead asking this, which presupposes that we are able to state, what we “can”, we have to ask what we “really” can – if “can” means that we do something according to that what “nature” is offering, that we do something which is in this sense meaningful.

---

9 This has been discussed in the context of the “change of paradigms” by Thomas KUHN 1962.

10 See for that issue FOX KELLER 2002.

11 See for the theological discussion *Evangelische Kirche in Deutschland* 1997; for a general framework see ULRICH 2007.

## **8. “Nature” Asking for Research**

Then we have not to talk in an abstract manner about the mission of us, human beings in this world or for this world, rather very concrete in relation to what we are able to do and what we therefore are invited to do. One key question is what “nature” which we encounter in the context of sciences and in other non-scientific contexts (religion, daily life) offers to us, what “nature” even asks us to do. This must not include a comprehensive philosophy or theology of nature (creation) but rather – much more modest – attention to details which may address something like that to us. “Secundum naturam” then means “following its message to us”.

Following this track of a common task we have to communicate directly about details of research, which may change our ethical issues or generate new ones. When we discuss the complex issue of gene therapy it is highly interesting in what sense or to what extent “nature” asks for something like that or in what sense nature provokes to do it – or not. When we say “nature” – then this means again “nature” within the context of our reflected knowledge. It remains abstract to reflect upon the responsibility for therapeutic help if there is not at least certain knowledge and understanding why this could be indicated by our “natural” condition and therefore itself mediated by scientific knowledge. Of course, the question what are we asked to do, may – related to our knowledge so far – be an open question. It also may be that research will show that there are – perhaps even – fundamental barriers to reach a certain goal.

## **9. Details – to be Considered in Ethical Discourse**

Many details may become interesting here. For instance: There is the phenomenon that “genes” (what ever this is by definition) have a specific determined location within the genome and that they “find” this location when they come into connection with the genome (perhaps by a vector carrying them to a relevant place). Does this “fact” indicate that there is an invitation or even a debt to work on that? To answer this question depends again on knowledge – so that this is an objective for research.

A second example: We are aware that organ-transplantation does get its main barrier from the fact, that our organism rejects foreign organic material. Immunosuppressive drugs help prevent or treat the rejection. The therapeutic practice and its immense positive effect for people raise the question if the difficulties which result from the effect of reaction provoke rightly any trial to find alternatives by producing organic material for one’s own organism. If there is a chance for success this may indicate that again “nature” is inviting us to work on this kind of therapy or/and regeneration and it is offering even data for moral (or ethical) distinctions.

There has been drawn a morally relevant distinction between getting stem-cells from “embryos” which are “produced” through a combination of “egg and sperm”, i.e. on the roots of two individuals (mother and father), on the one hand *and* getting stem-cells (i.e. totipotent cells) by the practice of “Somatic cell nucleus transfer” (SCNT). Here we have a widely discussed example where moral reflection and biological knowledge converge. There has to be articulated the morally relevant difference between “embryos” which stem from a father and a mother and other “embryos” (if we may call them that way). The moral or ethical side is asked: What is the (deeper) reason for that difference – in moral (or ethical) terms? The question is towards morality or ethics if it is able to clarify that. This is not an obviously given distinction. It presupposes that we, human beings, are fundamentally defined as coming from

“father and mother”. The moral opposition to reproductive “cloning” has to be connected with that moral presupposition – otherwise we would get only secondary aspects (e.g. the aspect of getting a contingent identity or manipulating “human life” etc.). Why is it fundamentally important to preserve that specific origin for any human being from “father and mother”, and thus to keep the fact of having parents?<sup>12</sup>

Francis COLLINS (former head of the Human Genome Project) writes: “I would argue that the immediate product of a skin cell and an enucleated egg cell fall short of the moral status of the union of sperm and egg. The former is a creation in the laboratory that does not occur in nature, and is not part of God’s plan to create a human individual. The latter is very much God’s plan, carried out through the millennia by our own species and many others.”<sup>13</sup>

COLLINS also formulates: “Over the course of the next few years [published 2006] it is likely that scientists will discover the signals that are contained within the egg cell cytoplasm that allow the skin cell nucleus to erase its history and recover its remarkable potential to turn into many different types of tissues.”<sup>14</sup>

This is a remarkable formulation insofar COLLINS is talking about “signals” – which will scientists be aware of and which show an alternative track for producing organisms. This language of research ethics points exactly to the very task of science. Science has to get the signals from nature for our doing. These signals have to be interpreted with respect to the question what we have to do. That does – again – not imply a normative lead by “nature” or a “naturalistic” grounding, but a reflected communication with the “given” nature. Within theological traditions is in many ways reflected, in what respect this “given” nature, the created “nature” is entrusted to human beings for their living in it and their working with it. For the moral discourse follows from there the demand (again in COLLINS’s formulation) for a “complete consideration of the facts” before any moral judgment about right and wrong. In Rudolf JAENISCH’s abstract for his contribution to a Leopoldina international conference last year (2006) we can read: “Although therapeutic cloning holds the promise of yielding new ways of treating a number of degenerative diseases, it is not acceptable to many because the derivation of an embryonic stem cell line from the cloned embryo (an essential step in this process) necessarily involves the loss of an embryo and hence the destruction of potential human life. I will describe a proof of principle experiment of the ‘Altered Nuclear Transfer’ (ANT) approach [...], a modification of SCNT [...]. The purpose of ANT is to avoid the generation of embryos that have any potential for fetal development but still can be the source of ‘customized’ ES cells for cell therapy.” And he continues saying: “The intention of this experiment has been to provide a basis for a more rational discussion of these complex issues.”

There is the question if the possibility of S-C-N-T (somatic cell nuclear transfer) is an invitation because there are indications that cells are predisposed for that. If it is possible to stimulate cells for producing specific types of cells and to use them for regeneration why should this not be an invitation to follow this path? It depends, on the other hand, still fundamentally on the distinction between regeneration and reproduction. Is there an invitation to expand the dimension of regeneration beyond reproduction? What can we know about that distinction and relation? Where are the criteria for that distinction – in what proportion?

---

12 See the arguments by HABERMAS and others on “dependency”.

13 COLLINS 2006, p. 256.

14 COLLINS 2006, p. 254.



## **10. Moral and Scientific Communication with Nature**

Questions like this belong to a (very) complex context of communication and dialogue with “nature”. This, however, does not mean, to consider a supposedly “given” nature nor a supposedly given intellectual understanding to be normative by itself. When we ask what nature is demanding or provoking this presupposes that we are ready for renewal by a renewal of our attention, our cognition and understanding (as we read it in Paul’s letter to the Romans: 12,2). When we are attentive to nature and learn this attentiveness – then we should be prepared of course also for the possibility that we have to learn what we should not try, where are perhaps meaningful barriers or limits of what we want to do. This then must not mean to feel restricted – but rather to look for alternatives.

## **11. Call for Research**

This is of course not a general call for a human regime or government on nature (Gen 1) but this concrete calling (not only the moral calling to help people, but also the call to be aware of that nature, we are part of) seems to me to be a demand for any research. Philosophers like Christoph REHMANN-SUTTER ask for a “hermeneutics of the genome”. Are we ready to develop something like this? To what details had this referred to? The very question is in what sense “moral” limits are related to “given” limits or barriers within nature and at the same time in what sense there is an invitation for any research within that limits. These limits then have not to be understood as constraints but as the contours of a human life, which we are still on the way to discover. And more than that: the hermeneutical approach is not primarily about limits but first of all about the “good” entrusted to our human work. The field of molecular biology is one of the most promising fields of that kind of “research”. What will we have to discover within this field, which will touch our understanding of our embodied existence and its ethical reflection?

This is still a beginning. Ethics has not only to ask for a seemingly given human “nature” which has to be preserved, supported and perhaps even enhanced or improved. Ethics has not only to ask for consequences or implications for that “nature”, which we are in a sense responsible for. Rather ethics has to ask how and as to what extent are we able to understand what we are going to “know”, the data and facts, which can be identified and the theories we need to do it. We should gather detailed examples for this argument. The ethical and moral debate has, I think, the chance to find more and connect scientific research and ethical reflection much closer together.

References

- BÖHME, G.: On human nature. In: GRUNWALD, A., GUTMANN, M., and NEUMANN-HELD, E. M. (Eds.): On Human Nature. Anthropological, Biological, and Philosophical Foundations; pp. 3–14. Berlin: Springer Wissenschaftsethik und Technikfolgenbeurteilung 2002
- BONHOEFFER, D., BETHGE, E., and SMITH, N. H.: Ethics. London: S. C. M. Press 1971
- COLLINS, F. S.: The Language of God. A Scientist Presents Evidence for Belief. New York (NY) et al.: Free Press 2006
- Evangelische Kirche in Deutschland*: Einverständnis mit der Schöpfung. Ein Beitrag zur ethischen Urteilsbildung im Blick auf die Gentechnik und ihre Anwendung bei Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren. 2., um einen Anh. erw. Aufl. Gütersloh: Gütersloher Verlags-Haus 1997
- FOX KELLER, E.: Making Sense of Life. Explaining Biological Development with Models, Metaphors, and Machines. Cambridge, MA: Harvard University Press 2002
- GRAUMANN, S.: Die somatische Gentherapie in der Krise. Kritische Fragen an ein experimentelles Theoriekonzept. In: REHMANN-SUTTER, C., and MÜLLER, H. (Eds.): Ethik und Gentherapie. Zum praktischen Diskurs um die molekulare Medizin. 2. Aufl. S. 117–133. Tübingen: Francke 2003
- HAUERWAS, S.: With the Grain of the Universe. The Church's Witness and Natural Theology. Being the Gifford Lectures delivered at the University of St. Andrews in 2001. London 2002
- JAENISCH, R.: Nuclear cloning, embryonic stem cells and cell therapy: Promise, problems, reality. In: TER MEULEN, V., and WOBUS, A. M. (Eds.): International Conference Embryonic and Somatic Stem Cells – Regenerative Systems for Cell and Tissue Repair. Nova Acta Leopoldina NF Bd. 95, Nr. 352, 29–30 (2006)
- KUHN, T. S.: The Structure of Scientific Revolutions. Chicago: University of Chicago Press 1962
- MIETH, D.: The need for ethical evaluation in biomedicine and biopolitics. In: REHMANN-SUTTER, C., DÜWELL, M., and MIETH, D. (Eds.): Bioethics in Cultural Contexts. Reflections on Methods and Finitude. International Library of Ethics, Law, and the New Medicine Vol. 28. Dordrecht: Springer 2006
- REHMANN-SUTTER, C., DÜWELL, M., and MIETH, D. (Eds.): Bioethics in Cultural Contexts. Reflections on Methods and Finitude. International Library of Ethics, Law, and the New Medicine Vol. 28. Dordrecht: Springer 2006
- SCHOBERTH, W.: Einführung in die theologische Anthropologie. Einführung Theologie. Darmstadt: Wissenschaftliche Buchgesellschaft 2006
- ULRICH, H. G.: Wie Geschöpfe leben. Konturen Evangelischer Ethik. Ethik. 2. Aufl. Münster u. a.: LIT 2007
- ULRICH-ESCHEMANN, K.: Vom Geborenwerden des Menschen. Theologische und philosophische Erkundungen. Münster u. a.: LIT 2000

Prof. Dr. Hans-G. ULRICH  
Kochstraße 6  
91054 Erlangen  
Germany  
Phone: +49 9131 8522724  
Phone: +49 9131 8522187 (Secretary)  
Fax: +49 91 318526020  
E-Mail: HansG.Ulrich@t-online.de

# **Dialogue between Science and Ethics. Phenomenological Considerations on Interdisciplinary Research into Scientific Discourses**

Stefan HEUSER (Erlangen)

## *Abstract*

This paper discusses features of interdisciplinary dialogue between science and ethics as research into scientific discourses. I will draw on insights of both phenomenology and the philosophy of dialogue in order to outline the hermeneutical implications of interdisciplinarity, if conceived of as mutual listening. Is there a task of exploring reality common to science and to ethics, one that commits neither a naturalistic nor a moralistic fallacy, a task that can be vindicated by reference to a hermeneutically rich understanding of “listening”, and of “dialogue”? I will argue that such listening entails mutual “learning” in the form of the controversial exposure of the constructions, propositions and metaphors that constitute one’s own discourse: a mutual test of the inner-discursive relation of models of reality to the way that reality makes itself known to us. The paper concludes with one historic and one contemporary case study of interdisciplinary dialogue.

## *Zusammenfassung*

Dieser Beitrag stellt dar, unter welchen Bedingungen interdisziplinäre Dialoge zwischen Naturwissenschaft und Ethik der Erforschung und der kritischen Reflexion wissenschaftlicher Diskurse dienen können. Gibt es eine den Naturwissenschaften und der Ethik gemeinsame Aufgabe, die Wirklichkeit zu erforschen – eine Aufgabe, die weder einem naturalistischen noch einem moralistischen Fehlschluss verfällt und die durch den Bezug auf ein hermeneutisch reiches Verständnis von „Hören“ und „Dialog“ gerechtfertigt werden kann? Ausgehend von Erkenntnissen sowohl der Phänomenologie als auch der dialogischen Philosophie erörtere ich die Konturen und die hermeneutischen Implikationen einer Praxis des interdisziplinären Hörens. Ich werde zeigen, dass ein solches „Hören“ einen wechselseitigen Lernvorgang beinhaltet. In diesem Lernvorgang werden die Konstruktionen, Propositionen und Metaphern, die den je eigenen Diskurs konstituieren, identifiziert und dem Widerspruch des Dialogpartners ausgesetzt. Ziel dieses interdisziplinären Dialogs ist es, die den wissenschaftlichen Diskursen innewohnende Beziehung zwischen unseren Modellen von Wirklichkeit und der Art und Weise, wie sich uns die Wirklichkeit präsent macht, wahrzunehmen und kritisch zu prüfen. Der Beitrag schließt mit einer historischen und einer aktuellen Fallstudie über interdisziplinäre Dialoge.

## **1. Listening to Scientists from other Fields**

At the 2007 Weißenburg Symposium devoted to the discussion of “Medicine at the Interface between Science and Ethics”, Walter DOERFLER introduced the topic to the audience by stating that “the human condition is characterized by our living in a universe of 13.7 billion years in which – so the physicists teach us – we can only understand 4% of all existing matter. We are equipped for this task with about  $5 \times 10^{14}$  cells including  $10^{11}$  neurons and  $3 \times 10^9$  nucleotide pairs in the human genome in each cell.” While this message sank in, DOERFLER

added: “There seems to be ample reason to broaden our horizons and listen to scientists from other fields.”<sup>1</sup>

DOERFLER’s statement goes well beyond the mainstream of science theory which questions whether there is an “and” between science and ethics at all. Science and ethics have been held conceptually separate since HUME’s influential distinction between is and ought.<sup>2</sup> Max WEBER’s thoughts on the “Wertfreiheit” of science,<sup>3</sup> as well as POPPER’s distinction between “facts” and ethical norms,<sup>4</sup> are cornerstones of contemporary scientific theory, and for good reasons: the distinction between science and ethics prevents any external moralization of science. However, it threatens to render cognition theory – science’ understanding of understanding – reductionist by concealing that the models, metaphors and discourses of science bear intrinsic moral implications. What is more, a wrongly understood distinction between science and ethics also reduces ethics to the realm of universal morality, that is norms and principles, and neglects the significance of life forms and habitual practices. Today’s ethicists mostly take a moralizing perspective on research, discussing its “risks”, its consequences and the norms and regulations to which it should comply to. Genuine dialogue between science and ethics on the inner composition of scientific discourses, its semantics, models, metaphors and narratives is rare. It finds itself vaguely institutionalized in ethics committees where the personal interests or characters of the participants allow for dialogue beyond the mere production of codes of conduct and ethical guidelines. It can be found in enterprises like the Third Weißenburg Symposium where dialogue between science and ethics is explicitly on the agenda.

In this paper, I draw on my experiences at Weißenburg, and on discussions with Walter DOERFLER and Hans G. ULRICH in the course of their Erlangen lecture series on molecular biology and ethics, to discuss features of interdisciplinary dialogue as research into scientific discourses. I will investigate the hermeneutical implications of Walter DOERFLER’s invitation to mutual listening as an interface between science and ethics. Is there a task of exploring reality common to science and to ethics, one that commits neither a naturalistic nor a moralistic fallacy, a task that can be vindicated by reference to a hermeneutically rich understanding of “listening”, and, as I will show, of “dialogue”?

## 2. Central Questions of a Dialogue between Science and Ethics

In view of the complexity of the world to which the curiosity of both scientists and ethicists is directed, to “listen to scientists from other fields” seems to be the most obvious thing to do. It could, of course, be understood as just another call for interdisciplinarity. The question remains, however, what the point of interdisciplinarity is, if conceived of as mutual listening. There is a hermeneutical twist to “listening”, one that raises challenging questions regarding our capacity to encounter, understand and articulate “reality” at all. I suggest that DOERFLER’S statement is a call for dialogue between science and ethics that promises to yield a better understanding of the scientific discourse of both partners. Such listening entails mutual “learn-

---

1 See Walter DOERFLER’S opening statement in the unpublished conference program.

2 HUME 1886 (1964).

3 See WEBER’S distinction between “Erfahrungswissen” and “Werturteilen”; WEBER 1904 (1922a).

4 „Aus der Feststellung einer Tatsache läßt sich niemals ein Satz herleiten, der eine Norm, eine Entscheidung oder einen Vorschlag für ein bestimmtes Vorgehen ausspricht.“ POPPER 1980; p. 100. (Original in italics.)

ing” in the form of the controversial exposure of the propositions and metaphors that constitute one’s own discourse: a mutual test of the inner-discursive relation of models of reality to the way that reality makes itself known to us.

In dialogue between science and ethics, we encounter several questions and challenges with which I want to deal in this essay:

- Different responses to the different ways the object of research appears depend on the inner composition of propositions, metaphors and models that constitute scientific knowledge. The interrelation between the way we explore and structure reality, and the way the phenomena appear to us, forms a major part of the complex inner structure of scientific knowledge. Implicit narratives continue to structure scientific perceptions of the phenomena and shape discourse. For a dialogue between science and ethics to succeed, the narratives on which different scientific discourses are based will have to be named and explored. It will be the task of any such dialogue to mutually engage our interpretations and constructions of the phenomena and transform them into accounts of reality that can inform the course of human action.
- Dialogue between science and ethics can enhance reflexivity by articulating different perspectives on reality. This dialogue, however, cannot be confined only to the similarities between perspectives but needs to explore their differences as well. It needs to be both controversial and explorative. This will entail an exploration into the distinction between the reality that we depict and the reality that we name. Will we encounter genuine contradiction that reveals those elements of our own scientific discourse that we would regard as constitutive and those which might be challenged or even replaced? And will we find accounts that articulate “reality” in a way that renews our perception and cognition of the world instead of merely representing “facts” according to our dominant schemes of perception?
- Dialogue between science and ethics opens both fields of enquiry for research into their own narratives and models of reality, including their divergent moral and anthropological implications. These implications need to be discerned and open to public discourse. In this way, dialogue between science and ethics can better communicate the state of the art in contemporary science to a wider public. It needs to inform the public of realistic expectations concerning the application of research. This entails a public discussion on the correlation between basic research in bioscience and social constructions of the task of medicine, particularly of the future tasks of molecular medicine. If we do not want to fall prone to habitual and schematized perceptions and interpretations of reality, we will need to cooperatively explore new narratives and fresh ways for understanding human life and the related tasks of scientific research and medical practice.

In the following, I will examine Walter DOERFLER’s suggestion to “listen to scientists from other fields” against the backdrop of both phenomenology and the philosophy of dialogue in order to sketch a phenomenologically enriched dialogical heuristic, and to explore what can be expected from a dialogue with scientists from other fields.

### **3. From Scientific Discourse to Dialogical Research**

How can listening to others be a way to learn more about the phenomena that we find when investigating the molecular dimension of nature? What does “dialogue” add to technical skills,

to virtues like patience, perseverance and trustworthiness, and to scientific discourse in which we formulate and validate the results of research?

The importance of dialogue stems from the verbal character of our cognition and from how our perceptions and interpretations are situated. Dialogue is helpful for the simple reason that what we call “real” is always an articulated or verbalized reality, one in which the disorderly and our ordering capacities are interwoven. Explaining the methods, propositions and results of one’s research to a partner in dialogue who does not participate in the inner-scientific discourse enhances reflection on the narrative one can tell about those scientific endeavors, their composition and moral implications. It opens up the discourse for questions, contradictions and stimuli from other contexts and narratives, particularly those that originate in the life-world. Dialogue does not only foster the reflexivity of discourse, it provides new insights and perceptions of lifeworldly phenomena, including accounts of reality other than those based on a merely instrumental rationality.

Since the medieval nominalism controversy, the term “real” has oscillated between the realm of phenomena and of the intelligible world, and has been discussed according to its relation to the “truth”. The validity of truth claims about reality used to be based either on naturalistic or on idealistic lines of thought. The linguistic turn in philosophy shifted this tension into the juxtaposition of the constructive power of language and that of reason. The question remains how to balance the world-immanence of the human subject with its capacity to structure and construct its world.

To answer this question, philosophical pragmatism distinguished between “reality” as we structure, articulate and believe it, and the “real” objects whose existence we cannot help but expect when we engage ourselves in the world. Charles Sanders PEIRCE says that “the only effect which real things have is to cause belief”<sup>5</sup>. What we may call “real” is articulated in opinions that must be qualified as “true” by all who investigate. This pragmatist notion of reality evades the pitfalls of idealism and naturalism alike. While we pragmatically impute the “existence” of the objects we encounter, “reality” is articulated by our propositions through which the existing objects are brought to bear in the way they relate to a particular subject. The existence of objects that we pragmatically impute exceeds our accounts of reality, a notion that serves as a permanent critical sting to our perceptions, and as a heuristic stimulus to find more appropriate accounts of reality.

As Jürgen HABERMAS has shown, such an epistemic concept of truth needs to be backed up by a real discourse on its rational acceptability in order not to become a merely subjectivistic representation theory of truth.<sup>6</sup> What we call “real” as distinct from “existing”, then, needs neither to stand the test of mere “facts”, nor of mere “ideas”, but of rational, intersubjective discourse. This concept of discursive reasoning is at work not only in politics, but also in a scientific community where the adequacy theory of truth is backed up by a consensus theory of truth.

The discourse theory of truth, however, restricts our definitions of what is real to a formal rationality: real is what can be rationally validated. Discourse, in the sense that discourse theory uses the term, serves primarily as a procedure to test the intersubjective validity of normative claims, including truth claims.<sup>7</sup> Discourse is not an ideal life form to be put into

---

5 PIERCE 1968, p. 82 (5.406).

6 HABERMAS 2004a.

7 See, for instance, HABERMAS 1983.

practice, but is, among other things, a procedure to abstract arguments from real persons in order to test the universality of their arguments. However, what we may come to call “real” may not be identical with what we may hold to be rationally acceptable.<sup>8</sup> Granted that we insist that scientific descriptions or metaphors should not be irrational, they might still entail aspects that exceed their thorough rationalization, such as remaining elements of disorder and obstinacy, of mystery or of the ineffable.<sup>9</sup> We cannot help but experience reality, some might even say “suffer” it, and respond to it rationally. The question is how deeply the lifeworldly phenomena and the narratives that we associate with them permeate into our rational scientific cognitions, and how much we let them enter our practices and renew our perception of reality. Reality is not only a sum of objects, to which we had to accord rationally, but a motivating set of variations of encounter, sighting, givenness, withdrawal, striving, stories, etc. that bear on our rationality and on which rationality has its bearing. What we call “reality”, then, is not only a sum of these variations, but these variations in the medium of their announcement. In this process, the critical question is whether we merely customize or assess reality, or whether our articulations of reality (also) witness to its intractability and to narratives that contradict our attempts to control reality.

HABERMAS responds to the problem that discourse is actually to be kept as devoid as possible from such bearings by reconstructing the internal relation of the idea of truth in a lifeworldly context and in discourse.<sup>10</sup> For him, lifeworldly contexts deliver the propositional contents of the language of truth that discourse translates into rationally acceptable arguments and tries to appropriate critically.<sup>11</sup> However, the practice of discourse means to apply a formal reason abstracted from the often chaotic and refractory reality in which human beings find themselves. This characteristic of the idea of discourse also effects our conceptions of scientific discourses. Just how much can and should we prevent scientific discourse from becoming messed up by the lifeworld without losing aspects that intrinsically belong to the “objects” of inquiry and narratives or even practices that let them appear in a different light?

This problem of scientific discourse is also its strength, insofar as it helps to distinguish between what is given and what is valid, a distinction that is pivotal to any critical science theory, provided that it does not lead to a separation of the two. Through various moves to separate epistemology from metaphysics, HABERMAS holds tightly to the principle of cognition theory that the human spirit needs to be fed by the “other word” or else it will either vaporize into an idealized sphere or it will drown in mere talkativeness, a flood of verbal representations of facts or circumstances. It takes the other, external word to explore what is “real”, that is what the semantics, distinctions and narratives are that prepare and guide our ways of judgment. This “other word” is uttered here and now, and by no other means than through human words. These are bound to specific practices that may transcend or even contradict discursive modes of interaction, insofar as they serve to vindicate recognition claims, to normalize or to exclude the other, as well as to control differences. The capturing of the “ra-

---

8 For this critique of discourse ethics see WELLMER 1986, pp. 111f.

9 For this argument see WALDENFELS 2005a.

10 HABERMAS 2004b, pp. 48ff.

11 These considerations may be regarded as a postmetaphysical version of the old theological method of “fides quaerens intellectum”, which means that the human spirit, transformed by and bound to the logos as the medium of the Divine spirit, searches for an understanding of the reality in which it is situated. See LANGTHALER und NAGL-DOCEKAL 2007.

tio” by the “logos” cannot be proceduralized. It lends itself to practices of communication that transform scientific discourse. This is where the philosophy of dialogue comes into play.

#### 4. Interdisciplinary Dialogue as Research into Discourses

According to the philosophy of dialogue, the dialogical situation of being addressed saves our understanding from collapsing into our intentions, our interests or into our subjectivity and its construction of the world.<sup>12</sup> Dialogue can be more than just the practice of the dialogical verification or falsification of our claims about reality, a practice which we also call “discourse”. Dialogue on the phenomenology of reality happens where human beings articulate the reality in which they cannot help but find themselves, and which they need to understand in its relation to their lifeworld – their becoming, their dying, their life forms, their desires, hopes and fears.<sup>13</sup> It is, among other things, about the “logos” of the reality in which we find ourselves, a reality of which we are part. Propositional claims about the full reality in which we live lend themselves to discursive normativity tests, but the truth they bear cannot be measured only in terms of acceptance. Their narratives, and with them the possibility to express the various ways in which things appear to us and in which we respond to and inquire into them, are weakened when they become translated into the language of discourse. The practice of discursive argumentation relates and restricts truth to consensus. It tries to unify different narratives: it does not articulate them, nor does it bring to light the interfaces and incommensurabilities of their different semantics and heuristic metaphors.

One of the fathers of dialogical philosophy, Martin BUBER, elaborates how the “I” and its “world” are constituted by being addressed by the “You”.<sup>14</sup> The “You” is the medium through which reality is communicated. It might help to explain that dialogical philosophy distinguishes between “ansprechen” (address) and “besprechen” (discuss).<sup>15</sup> Addressing (“ansprechen”) is the immediate mode in which “I” and “You” relate to each other. Discussing (“besprechen”) is the mode in which the “You” addresses the “I” with “It”. The message of “It” is not immediate or non-interpretative, nor can it be inferred transcendently. The “It” and the “You” intertwine in complex ways when articulating a perception of reality for “I”. What can be expected from dialogical communication is that it may interrupt and contradict subjective constructions of reality without granting access to pure, unmitigated reality. Instead, dialogue may let us “suffer” other perceptions of reality and thus challenge our own perception and construction of reality.

The practice of discourse is epistemic appropriation, the attempt to come to grips with reality by ordering and taming it so that we can test its normative validity for reasonable beings. The practice of dialogue, as dialogical philosophy understands it, is epistemic renewal in the sense that it renews cognition through confrontation with different semantics and narratives, and by the undomesticated und undomesticable dimension of reality as it is articulated

---

<sup>12</sup> WALDENFELS 1990.

<sup>13</sup> Rationality cannot clear itself from our bodily existence, but must permeate through it. For a critique on HABERMAS that focusses on an embodiment of reason see WALDENFELS 2005b.

<sup>14</sup> See BUBER 1994. BUBER holds that there are two “Grundworte”: “I-It” and “I-You”. The “I-It” articulates the relation of man to the world, in which the world of objects remains dependent on the human subject, while the “I-You” relation constitutes the existence of man as a human being between “I” and “You” in an immediate way.

<sup>15</sup> See THEUNISSEN 1977.



through the other and breaks open subjectivity. The effect on discourse is more than gradual. For example, in dialogue we are addressed with the difference between the reality of nature as we know it through our interpretative accounts of the objects that we deal with, and the “other” reality as it is revealed to us through “You”. The unique result of dialogue, such as that between science and ethics, is that we not only discuss what can be rationally acceptable for each of us among different descriptions of reality that we give, but that we gain insight into the way our models guide our perceptions, and thematize the specific, complex and highly differentiated ways the objects of research appear to each of us and become articulated through us. In dialogue we articulate aspects of reality which would otherwise remain unheard, and which can be called the “logos” of things: the heuristic, the story and the context of their appearance. This may lead the concepts, metaphors and propositions that constitute our narratives directly into controversy, and prove how much we would insist on each of them when confronted with propositions from different accounts of the phenomena.

Such dialogue reveals how our scientific practices and knowledge respond to the way that the objects of research present themselves to us, how they resist and promote our attempts to understand, rationalize and instrumentalize them, and how our heuristic metaphors shape the results of our research. This might even embody their existential meaning for us and others. Dialogue makes clear how the things that we have to deal with in our world either approach or withdraw from the human mind as it is developing and changing. It is the practice in which a vivid and disordered reality becomes articulate, a reality of becoming that may run counter to our own aspirations, or, on the contrary, may cooperate with them and stimulate new endeavors. We should not expect less from interdisciplinary dialogue than articulations of differences and distinctions that help us orient ourselves critically within our own scientific narrative, and that contribute to the continual renewal of our perception.

## **5. Interdisciplinary Dialogue as a Transfer Point for the Logos of the Phenomena**

If dialogue forces both scientists and ethicists to expose the narrative that informs their research, they may come to explore how its semantics shape the interrelation between those aspects of reality that we actively use and organize, and those aspects of reality that we find, receive and suffer. Dialogue enables the activities of reason to be changed back to the life-world, and to be enriched with lifeworldly semantics. In dialogue, both scientists and ethicists are forced to step out of the boundaries of their own scientific discourse and to formulate the narrative on which their research is based, which shapes and orients their perception. They may receive responses that articulate consent, difference or even contradiction to their accounts of reality. Such dialogue can help to sharpen the use of models and metaphors. It may in return give to scientific discourse both an enhanced reflexivity, and through contradiction, an articulation of difference that tests and renews the dominant perceptions and cognitions that compose one’s own scientific discourses.

Dialogue questions how permeable scientific narratives and practices can be used for different, countervailing purposes. Are one’s own scientific activities designed to ensconce and isolate oneself within a discourse, or do they reveal that our accounts of “reality” are subject to a deep controversy? Rather than a pluralism of perspectives, it is the awareness of difference and the contradiction of which difference becomes the medium that constitutes this controversy. The hope of interdisciplinary dialogue is that differences and distinctions come

into view which stimulate and enhance both the articulation and the transformation of scientific discourse. From the discovery of room to manoeuvre in each discourse to fundamental critique, the renewal of our cognition is based on the dialogical probing of the metaphors and narratives with which we both grasp and structure reality. Furthermore, it is based on the exploration of the complex interrelation of the way we perceive things and the way we intentionally respond to them, being attentive to what is heard through this complex relation. Dialogue is the practice of awaiting and pointing to the logos of the phenomena that is heard through our articulations of reality. The exploration of the differences in our accounts of reality and the attentiveness to the message that is enunciated through these differences opens up our understanding to renewal.

With regard to the warning implicit in discourse-theory and other theories not to confound givenness with validity, and theology's insistence that the cognition of reality as it really is depends on an enunciation external to self-made accounts of reality, a dialogue on the way the phenomena appear is a practice of expecting the logos of the things to be articulated. Attentiveness to things as they present themselves to us in the complexity of our scientific methods and the interdisciplinary dialogue that confronts us with different semantics are complementary in this practice. Both are necessary for any articulation of the "real", its effects, fractures and junctions. But both point to the arrival of a logos who witnesses to what we can really trust in our accounts of the phenomena. This arrival is what we implicitly hope for when entering into dialogue, and it is connected to a rich understanding of mutual "learning". Any such dialogue entails the curiosity of whether the message that we trust will be articulated.

But what is the message that can be heard through the logic of the phenomena? Such a message is not to be understood as a superior interpretation of reality, yet it brings knowledge of the reality that is given to us through the phenomena. It is not simply another or better interpretation, but a message on which we can rely. The logos of reality is bound to the message that becomes articulated through the other human being, and only through him or her, because what we call "real" neither could nor should be abstracted from his or her physical existence, permeating as it does through his or her story. To be addressed by someone in dialogue may confront us with a message which we cannot ourselves create, and which cannot be controlled. Dialogue offers no guarantee, but hopes that reality may become articulated without being abstracted from persons, without others attempting to control it, and without vindicating human behavior in relation to a concept of nature. Scientific discourse is about the reality that we know of; interdisciplinary dialogue is about the reality in which we live and discern, and about the narratives and metaphors that help us to live according to it.

These suggestions mean that whenever we enter into a dialogue between science and ethics, we enter into a controversy about reality.<sup>16</sup> The words that we lend to nature remain prone to be cast out by our morals, conventions and ideologies. In the "I-It" relations of the kind dealt with in the field of molecular biology, nature is silent, but it lends itself to our interpretations, such as when nature becomes articulated religiously, anthropomorphically, morally or naturalistically. To say what is real means to enter a controversy about reality, not to end it. Dialogue may serve to let "reality" become articulated neither as mere facts nor as an ideal, but as a reality that forestalls our constructions of it. This is a reality that we need to explore in its manifold ways of relating to our hopes and expectations, its shaping of our lives, its resistance to our aspirations of a good life and its invitation to cooperate with all its

---

16 For a theological account of this controversy on reality see ULRICH 2005 (2007), pp. 226ff.

richness. What this means will and must, in any case, remain disputed. Our understanding of reality and of our place in it can be challenged by renewed perspectives, different logics and surprising insights as they become articulated in dialogue.

The “listening” that Walter DOERFLER suggests in his introductory statement is guided by the hope that something will be articulated by the other which is more than a simple affirmation of the facticity of reality or of our view on it. The hope with which we listen to the other is nourished by the expectation that he or she addresses us with a reality that neither sinks into the plurality of different worldviews, nor creates the vision of an ideal world. Such listening keeps our descriptions of reality from becoming idealism on the one hand and naturalism on the other. The former duplicates the world into a real and an ideal world, the latter renders nature as the field of research which is merely an accumulation of infinite and equally relevant processes. We remain in need of listening to the word of the other to renew our perceptions of nature and its inexhaustible richness that invites us to explore it together.

In the next section, I will further examine these considerations on the heuristic of scientific metaphors and narratives by analyzing the historic controversy between GALILEO and BELLARMIN. I will then refer to the contemporary discussion on genetic diseases by sketching how ethics may respond to the findings of genetics by articulating its implications for human action.

## **6. Historic Case Study: Dialogue on the Significance of Lifeworldly Experience for Science**

One of the most notorious encounters between modern science and ethics, the controversy between GALILEO and BELLARMIN, shows the importance of the question of phenomenology in revealing the inner structure of a scientific discourse. Besides the catastrophic results of that dialogue and its later ideological misuse, we may find that it met some of the crucial requirements of dialogue in the sense mentioned above by succeeding to identify the axiomatic differences between and within the colliding discourses.

In this controversy, the scientist held that the measurements he obtained from the use of his telescope empirically proved the reality of the earth’s movement, whereas the cardinal stated that physics must confine itself to hypothetical sentences.<sup>17</sup> GALILEO’s main narrative was that of a universal physics that postulates causal interdependencies among the phenomena of experience which can be expressed in mathematical terms and measured accordingly. Hannah ARENDT has named this a “*reductio scientiae ad mathematicam*”.<sup>18</sup> GALILEO deeply distrusted sensual perceptions and considered them merely subjective. When looking at the phenomena, he expected to find formulae, natural laws, which he indeed found by measuring the individual objects of experience. These did not interest him in their particularity, but as a whole in their exemplarity of a natural law. For him, the phenomena are not to be seen as what they appear, but as how they together validate the formulae of an exact science.<sup>19</sup>

---

17 VON WEIZSÄCKER 1966, p. 115.

18 ARENDT 1958 (2001), p. 341.

19 For this reading of GALILEO’s science theory see HUSSERL 2002.

BELLARMIN'S arguments in the GALILEO trial revealed that he was not afraid that GALILEO might disenchant the world, intellectualize science<sup>20</sup> or enlighten the ordinary people who should instead stay ignorant. Rather, the cardinal learned that GALILEO'S subsumption of the phenomena under mathematical laws was highly idealistic, threatening to gradually replace the world of experience with an ideal world. BELLARMIN'S main narrative was that of classical catholic natural theology, featuring an anti-idealistic twist: the human senses are by virtue of their creaturely signature capable of understanding both the contents and the form of nature. BELLARMIN wanted to hold tight to the scientific relevance of the phenomena of everyday experience. His plea was for the interwovenness of research and the phenomena of the lifeworld.

Before GALILEO, the impression that the phenomena made on human senses would suffice to prove a theory of physics. Everyday experience served to validate scientific theory. Since GALILEO and his methodological use of the telescope, the truth claims of scientific thesis have been bound to fabricated, instrumental experience.<sup>21</sup> Starting with physics, this merging of *theoria* and *techné* quietly but effectively, and with enormous speed, changed natural science and formed the modern world.<sup>22</sup> The world itself has gradually become an artefact. The controversy between GALILEO and BELLARMIN thus revealed two different discourses which rest on two very strong propositions. GALILEO'S proposition was that trustworthy knowledge of reality is only to be found by means of an infinite approximation to an ideal measurement, implying that science needs to be based on a formalized rationality. Any experience that can be called "real" by science needs to be made and tested by virtue of an apparatus, and must comply with a mathematical formula. The ideal formula is what structures all perceptions of reality. It is the central metaphor of this discourse. BELLARMIN proposed that human beings can trust phenomena to make themselves freely present to the human senses. His central metaphor is the "givenness" of creation. Human beings can trust that they know enough by being attentive to the objects of the world because reason is joined with nature by virtue of an implicit inner bond between all created beings. GALILEO held BELLARMIN'S discourse to be naturalistic, while BELLARMIN held GALILEO'S discourse to be scientific.

Neither of the two was able or willing to review their own discourse in view of what they had heard from the other. Dialogue needs to return to the respective scientific discourse and clarify the heuristic function of its various propositions and narratives. BELLARMIN could have asked whether his justification of the accessibility of the world's ontology for human understanding would not confuse a theological heuristic with a scientific description. GALILEO might have asked what the moral implications are of the difference between a perception that structures reality mathematically, and an exploration of the way phenomena freely present themselves. Dialogue can lead to a clash of discourses, but it can also lead to a reflective permeability of the narratives effecting a reformulation and transformation of one's own perception of reality. In the GALILEO–BELLARMIN controversy, this could have led to a dialogue

---

20 For disenchantment as the effect of the intellectualisation of culture through science see WEBER 1919 (1922b), p. 536ff.

21 See MITTELSTRASS 1996, p. 17: „Erfahrung (im Rahmen von Naturwissenschaft und Technik) wird zur Konstruktion; das theoretische Wissen der Schulen (z. B. im Rahmen der Geometrie und der Statik) verbindet sich mit dem technischen Wissen der Werkstätten im Medium dieser Konstruktion zur ‚neuen Wissenschaft‘. Deren Konsequenz ist dann die moderne Welt, die Leonardo-Welt in Form von wissenschaftsgestützten technischen Kulturen.“

22 See for this development WHITEHEAD 1984, pp. 53ff.

on the complex relation between the appearance of things and the fabrication of knowledge, and what is to be learned from that relation.

In the final section, I will probe a dialogue between science and ethics, one that could prove more successful than that of GALILEO and BELLARMIN in terms of some renewed perceptions. To that end, I will sketch an ethical response to molecular biology's understanding of "genetic diseases".

## **7. Contemporary Case Study: A Dialogue on the Heuristic Significance of Calling Diseases "genetic"**

To approach the question of genetic diseases, phenomenologically-informed cognition theory is a tricky thing insofar as scientists tell us that despite new insights into molecular malfunctions we still lack understanding of the exact mechanisms that lead to the phenotypic expression of genetic diseases. The diagnosis of genetic "diseases" seems in many cases only loosely bound to the phenomena of "illness". The metaphor of genetic "diseases" seems to imply more of a research program than an articulation of reliable knowledge about gene expressions. What is more, in the way that modern medicine shapes public expectations, to use the metaphor of genetic "diseases" quite naturally implies a specific course of human action, namely gene "therapy". But what is the correlation between "genetic diseases" and "gene therapy" when it is still an open question whether the metaphor of "disease" can be adequately applied to the realm of gene functions?

In an introductory article, Walter DOERFLER offers the following rough subdivision of "genetic diseases": "1. chromosomal abnormalities; 2. monogenic diseases; 3. complex, multifactorial or polygenic diseases; 4. imprinting defects; 5. amplifications of trinucleotide repeats; 6. diseases caused by mutations in mitochondrial DNA."<sup>23</sup>

It is important to note how the metaphors within the semantic field of "disease" change in this account, and how this implicit phenomenology of genetic diseases evokes very different responses from the side of both medicine and of ethics: "abnormality", "defect", "amplification", and "mutation" bear a certain "family resemblance" which opens up a complex range of possible connections to what we may come to define as "genetic disease". It is different to define "ill" in relation to "normal", than to define it in relation to "sound", "functional", "unaltered" or "identical". All of these concepts entail very different propositions with divergent normative contents. On the level of the description of genetic structures, there is nothing "ill" about a mutation, or a defect, or a genotype in general. We may call it the origin of a phenotype that we would see as "ill", but at the present stage this causality is fragmentary and we would still be left with the question of what a "disease" is. There is no genome that is ill in itself; all that we can apparently say today is that one assumed phenotypic expression of the complex interrelation of nucleotide sequences and their environment may appear as ill for someone, or in a specific context. Like any other concept of illness, the talk of genetic "disease" relates to at least three different determinants:

- to the internal judgment of the patient, who may or may not feel ill;

---

<sup>23</sup> DOERFLER 2007, pp. 122ff.

- to the external criteria of medicine which defines illness in relation to its state of the art, and
- to the social criteria for the systemic functioning of an individual.<sup>24</sup>

To become aware of a “disease” is not based on the mere factualness of phenotypes, but on the culturally variant ways in which we have learned to see phenotypes as “healthy” or as “ill”. Hence, the term “genetic diseases” is challenged by many factors. The phenotype seems to be the result of the extremely complex and gradual ontogenesis of genetic and epigenetic networks.<sup>25</sup> New insights into ontogenesis that seem far from being the realization of a genetic blueprint challenge the development of newer models and paradigms of genetics.

This task has been taken up by recent dialogue between science and ethics.<sup>26</sup> The implication of a program-paradigm of genetics on human self-understanding and on the course of human action is being questioned by the ethical and anthropological consequences of an interaction-paradigm of genetics.<sup>27</sup> The question remains whether we can talk of “genetic diseases” in the sense of the term “genetic”, since we still lack a sufficient understanding of the epigenetic processes and of the complex communication between genes and their environment. The dialogue between science and ethics has thus brought a renewal of schematized perceptions of the phenomena by discussing new insights into complex molecular step-by-step interactions.

While the social construction of the task of gene therapy and of other applications of basic research is related to a program-theory of genetics, public opinion needs to be informed that in the case of “genetic diseases” the correlation between disease and therapy is fractured.<sup>28</sup> Specifically, a discussion on the ethical implications of the results of research is required. This may entail public debates on the question of what “diseases” are, how “diseases” belong to us, and what message “diseases” may convey for each of us. This presupposes that we need to enter into dialogue on the possible responses to the insights of molecular biology. Where the hopes of (sick) persons are concerned, we just cannot afford to base our actions on idealistic or naturalistic narratives that eliminate reality. We need to discern the logos of the phenomena, the message that is heard through the complex way our scientific structuring of reality relates to the appearance of the phenomena.

Two messages for the course of human action can be drawn from this dialogue between science and ethics. Firstly, the results of research into the genome signal the need for more basic research. The ethical question of this research is not how much knowledge we are *allowed* to gain, but which kind of knowledge we *can* gather when exploring the human genome, and what this means for our self-understanding and for the tasks of medicine.<sup>29</sup> Second, the social construct of the concept of disease and of human nature, and the complexity of the results of genetic research challenge attempts to draw a line between “therapy” and “enhancement”. However, the practices of a future molecular medicine will have to respond to at least three questions:

---

24 See KÖRTNER 2001, pp. 38f.

25 Cf. WOLF 1995.

26 Cf. NEUMANN-HELD and REHMANN-SUTTER 2005.

27 Cf. REHMANN-SUTTER 2005.

28 See BROCK et al. 2007, pp. 149f.

29 See SAUTER 1978, p. 95.

- Will they leave room for a renewal of the perception and of the understanding of human life in its complexity, or will they hold to established judgments on the reality of human life?
- Will they suggest alternative medical decisions and practices or will they dictate both diagnostic and therapeutic measures by means of social pressure?
- Will they instigate a just allocation of medial resources or will they consume resources at the expense of more radical therapies?

The enormous task that is still ahead for any dialogue between science and ethics, and the moral implications of their shared phenomenology, is how to let the wider public participate in and learn from this dialogue. This common task comes from the fact that both science and ethics deal with the question of which message of reality can people live and set their hopes upon. Let me conclude with a quote by Walter DOERFLER that applies to research in ethics as well, and to any dialogue between science and ethics: “The second most important task for scientists, next to their duty to search for novel insights into nature and the recognizable reality of this universe, amounts to informing the public in comprehensible terms about their discoveries.”<sup>30</sup>

## *References*

- ARENDRT, H.: *Vita activa oder vom tätigen Leben.* (The human condition.) (1958) München: Piper 2001
- BROCK, B., DOERFLER, W., and ULRICH, H. G.: Genetics, conversation and conversion: A discourse at the interface of molecular biology and Christian ethics. In: SWINTON, J., and BROCK, B. (Eds.): *Theology, Disability and the New Genetics. Why Science Needs the Church*; pp. 146–160. London: T & T Clark: 2007
- BUBER, M.: *Ich und Du.* In: BUBER, M.: *Das dialogische Prinzip.* S. 7–136. 7. Aufl. Gerlingen: Lambert Schneider 1994
- DOERFLER, W.: *Conditio Humana as Viewed by a Geneticist.* In: SWINTON, J., and BROCK, B. (Eds.): *Theology, Disability and the New Genetics. Why Science Needs the Church*; pp. 115–131. London: T & T Clark 2007
- HABERMAS, J.: *Diskursethik – Notizen zu einem Begründungsprogramm.* In: HABERMAS, J.: *Moralbewußtsein und kommunikatives Handeln.* S. 53–125. Frankfurt (Main): Suhrkamp 1983
- HABERMAS, J.: *Die Zukunft der menschlichen Natur. Auf dem Weg zu einer liberalen Eugenik?* Frankfurt (Main): Suhrkamp 2001
- HABERMAS, J.: *Wahrheit und Rechtfertigung. Zu Richard Rortys pragmatischer Wende.* In: HABERMAS, J.: *Wahrheit und Rechtfertigung.* S. 230–270. Frankfurt (Main): Suhrkamp 2004a
- HABERMAS, J.: *Einleitung: Realismus nach der sprachpragmatischen Wende.* In: HABERMAS, J.: *Wahrheit und Rechtfertigung.* S. 7–64. Frankfurt (Main): Suhrkamp (2004b)
- HUME, D.: *A treatise of human nature. Book III “Of morals”, part I, section I.* 1964. In: HUME, D.: *The Philosophical Works*; edited by T. HILL GREEN and T. HODGE GROSE. Vol. 2. Aalen: Scientia 1886
- HUSSERL, E.: *Das Problem der Lebenswelt.* In: HUSSERL, E.: *Phänomenologie der Lebenswelt. Ausgewählte Texte II.* Ed. von K. HELD. S. 220–292. Stuttgart: Philipp Reclam 2002
- KÖRTNER, U. H. J.: *Unverfügbarkeit des Lebens? Grundfragen der Bioethik und der medizinischen Ethik.* Neukirchen-Vluyn: Neukirchener 2001
- LANGTHALER, R., and NAGL-DOCEKAL, H. (Eds.): *Glauben und Wissen. Ein Symposium mit Jürgen Habermas.* Wien: Oldenbourg Verlag 2007
- MITTELSTRASS, J.: *Leonardo-Welt: über Wissenschaft, Forschung und Verantwortung.* Frankfurt (Main): Suhrkamp 1996
- NEUMANN-HELD, E. M., and REHMANN-SUTTER, C.: *Genes in Development. Re-reading the Molecular Paradigm.* Durham, NC: Duke University Press 2005

---

<sup>30</sup> DOERFLER 2007, p. 129.

- PIERCE, C. S.: How to Make Our Ideas Clear (Über die Klarheit unserer Gedanken). Ed. by K. OEHLER. S. 82 (5406). Frankfurt (Main): Vittorio Klostermann 1968
- POPPER, K. R.: Die offene Gesellschaft und ihre Feinde. I. Der Zauber Platons. (The Open Society and its Enemies, I. The Spell of Plato.) S. 100. München: Francke 1980
- REHMANN-SUTTER, C.: Gene, Körperlichkeit und Identität. In: Zwischen den Molekülen. Beiträge zur Philosophie der Genetik. S. 135–174. Tübingen: Francke 2005
- SAUTER, G.: Mensch sein – Mensch bleiben, Anthropologie als theologische Aufgabe. In: FISCHER, H. (Ed.): Anthropologie als Thema der Theologie. S. 71–118. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 1978
- THEUNISSEN, M.: Der Andere. Studien zur Sozialontologie der Gegenwart. 2. Aufl. Berlin, New York: Walter de Gruyter 1977
- ULRICH, H. G.: Wie Geschöpfe Leben. Konturen evangelischer Ethik. Münster: Lit 2005 (2007)
- WALDENFELS, B.: Jenseits des Subjektprinzips. In: WALDENFELS, B.: Der Stachel des Fremden. S. 72–79. Frankfurt (Main): Suhrkamp 1990
- WALDENFELS, B.: In den Netzen der Lebenswelt. 3. Aufl. Frankfurt (Main): Suhrkamp 2005a
- WALDENFELS, B.: Rationalisierung der Lebenswelt – ein Projekt. Kritische Überlegungen zu Habermas' Theorie des kommunikativen Handelns. In: WALDENFELS, B.: In den Netzen der Lebenswelt. S. 94–119. 3. Aufl. Frankfurt (Main): Suhrkamp 2005b
- WEBER, M.: Die „Objektivität“ sozialwissenschaftlicher und sozialpolitischer Erkenntnis. (1904) In: WEBER, M.: Gesammelte Aufsätze zur Wissenschaftslehre. S. 146–214. Tübingen: Mohr (Paul Siebeck) 1922a
- WEBER, M.: Wissenschaft als Beruf. (1919) In: WEBER, M.: Gesammelte Aufsätze zur Wissenschaftslehre. S. 524–555. Tübingen: Mohr (Paul Siebeck) 1922b
- WEIZÄCKER, C. F. VON: Die Tragweite der Wissenschaft I. Schöpfung und Weltentstehung. Die Geschichte zweier Begriffe. Stuttgart: S. Hirzel 1966
- WELLMER, A.: Ethik und Dialog. Elemente des moralischen Urteils bei Kant und in der Diskursethik. Frankfurt (Main): Suhrkamp 1986
- WHITEHEAD, A. N.: Wissenschaft und moderne Welt. (Science and the Modern World. (1925). Übers. von H. G. HOLL. Frankfurt (Main): Suhrkamp 1984
- WOLF, U.: The genetic contribution to the phenotype. *Human Genetics* 95/2, 127–148 (1995)

Dr. theol. habil. Stefan HEUSER  
Private Lecture at the Chair for Ethics  
Universität Erlangen-Nuernberg  
Department of Theology  
Kochstraße 6  
91054 Erlangen  
Germany  
Phone: +49 9131 8522187  
Fax: +49 9131 8526020  
E-Mail: [Stefan.Heuser@theologie.uni-erlangen.de](mailto:Stefan.Heuser@theologie.uni-erlangen.de)  
Internet: <http://www.sozialethik.theol.uni-erlangen.de/heuser.htm>



## **New Aspects for the Philosophical and Theological Concept of the *conditio humana***

Wolfgang SCHOBERTH (Erlangen)

### *Abstract*

New findings in the life sciences, primarily human genetics and neurobiology, pose fundamental challenges for anthropology and ethics. They lead to fundamental questions of the *conditio humana*. The paper deals with the concept of „human“ and its ethical implications.

### *Zusammenfassung*

Die neuen Erkenntnisse in den Biowissenschaften, vor allem in der Humangenetik und der Neurobiologie, liefern fundamentale Herausforderungen für Anthropologie und Ethik. Sie führen auf grundlegende Fragen der *conditio humana*. Der Beitrag beschäftigt sich mit dem Konzept „Mensch“ und seinen ethischen Implikationen.

According to many feuillets, popular science magazines, as well as to some scientists, recent scientific developments, especially in neurobiology and human genetics, have led to a fundamental challenge for anthropology and ethics. Basic concepts of the traditional thinking about humanity seem to be obsolete; it is said that the classic European idea of man is no longer tenable. These concepts are not only of theoretical, philosophical and religious importance, but also form the basis of our common ethics as well as our political order and our system of laws. They are based on the central ideas of European anthropology: Freedom, individuality, responsibility, solidarity and so on. Are those foundations no longer valid because of the new scientific results? For instance: Is our system of laws sustainable when free will and individual responsibility are said to be an illusion?

But if we look closer, it turns out that the far reaching ethical and political claims, which are sometimes connected with neurobiology and human genetics and find remarkable public resonance, are not justified. In the first and longest part of my lecture I want to show that these claims result from incorrect conclusions and ignore the character and the limitations of scientific method; they neglect as well the characteristics of ethical and anthropological discussions. The second part will argue that this criticism of the ethical use of scientific results does not imply a simple return to traditional anthropology from ARISTOTLE to the philosophical anthropology in the twentieth century. In fact these traditions of anthropology share some questionable presuppositions with the criticised extrapolations of biological research. Therefore, we need different approaches to anthropological theory which allow us to discuss the present ethical problems in a more adequate way. I want to show some outlines of such an

anthropological approach in the third part. I also want to point out that the treatment of these ethical problems must inevitably include religious and philosophical discussions.

## 1. Far-Reaching Presuppositions–Too Far Reaching?

The present situation is characterized by the claim that ethical questions can be treated and answered by scientific means derived from biology. The transformation of ethical, philosophical and religious problems and concepts into scientific terms is connected with the promise that these problems, which until now led to endless discussions, could be solved in a definitive and objective manner.

There is further the expectation that an ethics based on biological methods and results would be more effective, because it corresponds to the nature of human life. But this demand is not really a new one: The ethics of the Stoa was expressly based on the idea that a good life is a life that corresponds human nature. And no one in antique ethics as well as in medieval philosophy and theology would have refused that conviction. It is not the demand itself that is new, but a deep difference in the meaning of the term “human nature” which must be noticed: Are natural sciences capable of conceiving human nature in its entirety? Are “human nature” and “human biology” synonyms?

In the establishment of the term “life sciences” we can observe an interesting recent semantic shift which is quite similar to the reception of the term “biology” as a discipline. The term “bios” was not only the Greek word for life but a distinct ethical concept as well. Based on Aristotelian philosophy, “bios” did not stand for the mere vitality of organisms but pointed out that human life has an irreducible moral dimension. “Bios” stood for the necessity of a certain “form of living” which a human being can and must choose and follow. In this tradition following a certain form of living characterizes man as a *human* being. Even the problematical backside shows that “bios” was a central category in the moral universe: For ARISTOTLE slaves, who are unable to choose and follow their own form of living, cannot achieve humanity in a full sense. Obviously the concept “bios” stood for the specificity of human life as it is essentially morally shaped.

The elimination of this moral dimension, on the other hand, was constitutive for establishing “biology” as science. So it can be said that moral agnosticism (and therefore moral irrelevance) was the price that had to be paid for the development of a successful scientific discipline. The term “life sciences” implies a similar reduction. Although “life” is not a well-defined philosophical concept, our common use of the term “life” includes many connotations which are incoherent to scientific method. So “life science” is at least a misleading term as it promises too much: Either “life sciences” is simply an exaggeration, because it does not cover some of the most important aspects of life, or it stands for the belief that everything what is important in human life can be transformed in biological categories.

There is no doubt that human life *can* be described in biological terms. No philosopher and no theologian ever doubted the fact that human life is in many respects quite similar to animal life. What is probably the most famous definition of man – I hold this term for its importance in tradition, – which has had far reaching consequences on European philosophical anthropology, operates with this similarity: “animal rationale” points out that man is a kind of animal, but also a specific one. It is the same in biblical tradition. According to the first chapter of the book Genesis man is created on the sixth day like all other animals on land.

The importance of biological conditions for human life is clearly evident. But that importance does not justify the pretension that human life could sufficiently be understood by scientific methods: If we define “life” with exclusively biochemical terms, it is simply tautological that we only find biochemical factors.

Those excessive presuppositions are a burden for the discussion because they imply an *a priori* declaration, which ends the debate before it begins. For this reason it is necessary to refute those claims. And there is good reason that those promises cause mistrust in science as a reaction. If – according to too eagerly cited statements – scientists claim to cure nearly all sicknesses, if they pretend to abolish starvation by scientific development, then the public becomes afraid of such a power – and of the fact that all other factors are neglected: No word about the scandal that there is already enough food for everybody, no word about the price paid for technical power. I find it rational to be sceptical of almightiness as a human aim. More modesty and more understanding for political logic would surely be helpful for the public acceptance of new scientific developments. It is nothing but rational to mistrust the claim that scientists are the only experts and the others have to follow; and it is also good common sense to believe that not only scientific perspectives are relevant.

If we leave the annoying debate on abstract claims – annoying because the debate cannot be cleared on this abstract level – and look at the material statements which are made in the context of socio-biology, evolutionary ethics and evolutionary theory of knowledge, there is a remarkable contrast to the announcement of a new ethics and philosophy. In fact (i) they turn out as variations of well-known positions which had been formulated before without using biological terms. (ii) They are ambiguous, so that some authors can draw the opposite consequences. For instance: Of course contemporary man is the result of his evolution. But what does this mean in an ethical respect: Should we behave as hunter-gatherers or should we overcome those manners? And why does the socio-biological image of a hunter-gatherer look so much like a *homo oeconomicus* in capitalistic societies? Is this more than a mere projection onto the past? (iii) The arguments used by socio-biologists can be understood and accepted completely without their supposed scientific basis. Their plausibility or non-plausibility does not depend on the biological deduction. So you can eliminate this deduction, and the argument remains the same. They could as well be based on common perceptions. The biological deduction, so one could conclude, is simply an *ex post* legitimation for preformed convictions.

What is the reason for this striking disproportion between the far-reaching claims and the poor results? The reason is that science on the one hand, ethics and anthropology on the other are constituted by different terms and conditions. Within the approved methods of science terms of ethical or anthropological meaning cannot be used appropriately. Scientists who want to make relevant ethical assertions must leave the realm of scientific methods and step over to the field of moral debates where scientific categories are no longer valid and often enough not even meaningful. The public attention on socio-biology is a result of (regarding some of the protagonists one could ask: strategically?) mixing up to different spheres.

The basic difference between scientific and ethical discourses can clearly be seen when we look at the very basic term “freedom”. This term can’t play any role in a system which is geared to causal connections – causality in the modern sense, where only the *causa efficiens* is accepted and the other *causae*, which ARISTOTLE pointed out, are neglected. To put it ironically: In spite of quantum physics electrons are scientifically not allowed to behave freely; neither are human beings as long as we look for nomothetic relations. Where we use the term “freedom” in ordinary language, science can only see a gap in causal explanation. There are

good reasons for this blind spot: In a scientific perspective we only understand a phenomenon if we find out the inherent causality, so we must not stop seeking for a causal explanation. This is why no experiment ever could testify freedom – freedom is one of the essential concepts which cannot be founded by arguments but is the precondition of any argument.

Immanuel KANT drew attention to this characteristic; he realized that there is an irreducible difference between scientific method and moral (as well as religious etc.) reason, which he stated as the distinction between the “realm of necessity”, which is the domain of scientific knowledge, and the “realm of freedom”, where ethics belong. Today we can conceive this distinction as the existence of two heterogeneous language-systems with different grammars and a different vocabulary, or as different methodical approaches to our reality. As human beings we normally use this distinction intuitively, for we know that responsibility is essential for social action.

This distinction remains essential, but is neglected by the supporters of socio-biology, evolutionary theory of knowledge and ethics. But because they neglect this distinction they are not beyond KANT, as they pretend, but fall behind his insight, back in the “dogmatic slumber”, as KANT would have formulated. It is the very reduction of all propositions to object-level-propositions which causes the blind spot in which freedom becomes invisible. This blind spot is acceptable as long as we hold in mind that it is a side-effect of the scientific concentration on such phenomena which can be covered by scientific method – this reduction was one of the preconditions of the success of science. But it becomes a deception in the very moment when the methodological reduction is transformed into an ontological reduction and the sum of scientific objects is taken for the world. And it is the same reduction which wrongly seems to allow the transformation of ethical and anthropological concepts into scientific terms. This reduction is also a self deception as the entire practice of science is based on concepts which lie in the back of attention: “freedom”, for instance, is essential for any decision that governs scientific practice, but not a possible object of scientific research. The misleading elimination of the dimensions that KANT named as the “realm of freedom” must be fatal for ethical and anthropological reflection.

This essential distinction is connected with the need of a language which contains the logic of the subject. But referring to the subject in knowledge is not at all irrational or implies a lack of critical control; instead it marks the crucial point of knowledge. Tradition put this logic in the problematic metaphor of the “inner world”; it is problematic, because the logic of subject refers less to introspection than to communication and interaction. Because of the importance of this point I want to illustrate the confusion which results from the disregard of this logic. Let’s have a look on the popular confusion of “brain” with “subjectivity” or even “thinking”. Is there any way that brain imaging techniques could distinguish between a false conclusion and a correct one? How should we see the difference of a sonata or a fugue by looking on the EEG of a listener? For all these simple distinctions we need extra-scientific knowledge; we need a language, which contains concepts and operations lacking the language of neurobiology.

## 2. The Impasse of Traditional Anthropology

The insight into the necessity of KANT’s distinction does not imply a return to traditional anthropology. In fact this anthropology shares a basic mistake with the present attempts of trans-

forming anthropology into a matter of science. Both do not adequately grasp the character of anthropological questioning and reflection. Anthropology is characterized by the fact that subject and object cannot be separated, not even in an analytical manner. In anthropology and ethics an acting and perceiving “I” is the very core. The perspective of the “first person” is essential; and therefore the perspective of the “third-person”, which is the ground of scientific method, cannot grasp ethical and anthropological problems. The classical question: “What is man?” cannot be answered by a definition of an object; this question has its genuine sense in its inseparable connection to the questions: “Who am I?”, “Who I want to be?”, “Who I ought to be?”

Every imaginable answer to these questions is related to a certain cultural, historic, social situation. All answers are relative to the values, schemata of experience and so on, which are valid in my social world, and which direct my thinking, acting and perceiving. Any “objective” definition of man misses the point of the question. Such a definition could only be so completely vague that it finally would not say anything, or it would deny the variety of human life. Most of the definitions of man we find in history and present times combine both weaknesses: They seem to be wide and flexible but secretly promote presuppositions, which are not justified. This is also the case with the classic definition of man as the *zoon logon echon*, the *animal rationale*, as it underlies the term *homo sapiens*. Of course man has language in an eminent sense: but what follows from that? The Greeks, as it is generally known, took their own language for the real one – and the others were only barbarians. So we have to ask: Whose language, which rationality?

A definition of the *conditio humana* which neglects the variety of man in a historical and cultural respect is not only imperialistic but also misses its own task: We look for an answer onto the question “What is man?”, because *we* need orientation in *our* world – not an objective answer, which necessarily would be without any relevance for the needed orientation. The important question is: What are the conditions of *our* humanity? When we ask for our *conditio humana*, we must consider our cultural conditions as well as our natural conditions.

I have to add that I am very sceptical towards the present attempts to disqualify the characteristics of man – although I think as well that the quest for a definition of man is misleading. A closer view of the *aprioria* of those attempts can lead us to a better understanding of the specific function of the term “man”. I will concentrate on two aspects: (i) If we focus on natural attributes, for methodical reasons there can only be gradual differences. A biologist certainly regards human language as more complex than the language of bees and apes, but he integrates it in a continuum of language – and as a biologist he must do so: Only by doing so can language be a useful biological category. But the price is that he must reduce language to such factors he can integrate in this special perspective. Speech forms like promise, order, wish, poem, prayer are eliminated. Last year there was some public attention on experiments that wanted to show that a dog can learn an elementary language. In fact it was not language learning but training. Those experiments do not show that animals can understand language but that the experimenters do not really understand what language is. This example makes clear that the “exceptional position” of man – even the term is problematical – is not a concept which can be proved or refuted by biological methods. And we should not be concerned by its popular refutation as long as we do not invite rabbits and gorillas to academic meetings.

Nevertheless, it is misleading to define man by empiric attributes. It is misleading because the concept “man” is a very specific one. This becomes clear by regarding the second aspect which is of direct ethical relevance: “Man” cannot be defined as an object but is an ethical term in an eminent sense.

(ii) The definition by empiric attributes leads to the problem that a human being who lack these attributes may no longer appear as human being. If language is the criterion what about the barbarians or the dumb? If self-awareness is the decisive attribute: Does our humanity end when we fall asleep or loose consciousness? Any definition of man by attributes shares the problem of being too narrow or too unspecific. This dilemma has severe consequences for ethics. How can we escape the trap that any definition of man would also define non-humans and “Untermenschen”?

### 3. The Concept “Man” – Beyond a Definition

On a closer view we can see that this problem derives from a misunderstanding of the concept “man”. The everyday use of the term is here more accurate than all definitions: Normally we do not use this term by examining attributes. But everybody knows how to use this term. And we know that “man” does not mean an object among others. We do not look at a thing, check if it has some qualities and at last decide that this is a human being. The term is rather fundamental for our perceiving and acting as we can observe on young children. A human being is not a “woof-woof”, but a duck and a bird can be. We enter, so to speak, a distinct universe if we recognize something as somebody. “Man” is a category by itself. The ordinary usage of “man” does not start from extreme examples but from the normal: I can communicate with human beings – and in its entire sense only with human beings. This is the truth in the classical definition: *logos* is not to be put as an objective quality but refers to the community of communication. Therefore, the *zoon logon echon* is not a peculiar object in the world, but the living being I can talk to and who can talk to me. I can understand his or her motives – but I can’t imagine how to be a bat. The nutritive habits of some cultures can evoke disgust – the nourishment of animals does not; and so on. And I can wake up a sleeping man to talk to him; in a man who lies in coma I recognize the person I spoke to or others spoke to. And I can imagine that I could be in his position. And I know that this coma patient is my father – or the father of somebody else: Why should I ask for “objective” attributes?

Therefore the concept “man” is connected primarily not with the perception of world and things but with actions. It is essentially a moral and not an ontological term. If I meet somebody I know I have to behave in a certain manner. I have to show respect, which would be completely senseless towards animals etc. I know we share the same world.

At this point we have reached a better understanding of the concept “man”. If we want at all to define this term we should not look for attributes; “man” is not a cluster of features. This definition of “man”, if any is possible, must be in consistent relation to my self-conception. Maybe the only adequate definition could be: “Somebody like myself”. Lev 19:18 gives most precisely the elementary sense of the very meaning of “man”; and any other use must be derived from this basic meaning, or it will be off the mark.

If we follow the outlined structure of anthropological interest the focus of many ethical problems will make a shift. The crucial point is no longer if this or that object is a man – as you know regarding human life there is no consensus and there can be no consensus because life is a continuum from its very beginning. But we must ask ourselves how we can accept the consequences of our doing, so that acting can be a part of our identity as the person we are.

If we ask for the human condition “my” ideas of a real human life is the centre. And because “I” am not alone, we have to discuss *our* ideas. Those ideas are in permanent flux;

we learn them from tradition and modify them because of our needs, our experiences, our knowledge. What we learn of the biology of man will form our ideas of humanity (as well as religious and philosophical convictions form our ideas of human biology). These ideas are fundamental for our perception, our acting, our thinking. We can modify them but we must assume those ideas in all our arguments and thoughts. So we can say that our anthropological convictions belong to the sphere of ultimate validity. It is valid because all our values depend on it. Therefore we can call this dimension the religious or the philosophical. Debates on the human condition therefore unavoidably include the religious foundation, and it would be great progress if we did not deny those convictions but reveal them and talk about. The human condition is that there is no timeless or objective nature of man but the never ending and very human debate about life and humanity.

Prof. Dr. Wolfgang SCHOBERTH  
Universität Erlangen  
Lehrstuhl für Systematische Theologie I (Dogmatik)  
Kochstraße 6  
91054 Erlangen  
Germany  
Phone: +49 9131 8522215/18  
Fax: +49 9131 8526392  
E-Mail: wolfgang.schoberth@theologie.uni-erlangen.de

## Altern in Deutschland

Die Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina und die Deutsche Akademie für Technikwissenschaften acatech gründeten im Mai 2005 eine gemeinsame interdisziplinäre Akademiengruppe „Altern in Deutschland“, die auf der Grundlage der besten verfügbaren wissenschaftlichen Evidenz öffentliche Empfehlungen erarbeitete, um die Chancen der im letzten Jahrhundert erheblich gestiegenen Lebenserwartung – die „gewonnenen Jahre“ – vernünftig zu nutzen und mit den Herausforderungen des demographischen Alterns klug umzugehen.

### **Nova Acta Leopoldina N. F.**

Bd. 99, Nr. 363 – Altern in Deutschland Band 1

#### **Bilder des Alterns im Wandel**

Herausgegeben von Josef EHMER und Otfried HÖFFE unter Mitarbeit von Dirk BRANTL und Werner LAUSECKER

(2009, 244 Seiten, 32 Abbildungen, 1 Tabelle, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2542-3)

Bd. 100, Nr. 364 – Altern in Deutschland Band 2

#### **Altern, Bildung und lebenslanges Lernen**

Herausgegeben von Ursula M. STAUDINGER und Heike HEIDEMEIER

(2009, 279 Seiten, 35 Abbildungen, 9 Tabellen, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2543-0)

Bd. 101, Nr. 365 – Altern in Deutschland Band 3

#### **Altern, Arbeit und Betrieb**

Herausgegeben von Uschi BACKES-GELLNER und Stephan VEEN

(2009, 157 Seiten, 29 Abbildungen, 20 Tabellen, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2544-7)

Bd. 102, Nr. 366 – Altern in Deutschland Band 4

#### **Produktivität in alternden Gesellschaften**

Herausgegeben von Axel BÖRSCH-SUPAN, Marcel ERLINGHAGEN, Karsten HANK, Hendrik JÜRGES und Gert G. WAGNER

(2009, 157 Seiten, 28 Abbildungen, 2 Tabellen, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2545-4)

Bd. 103, Nr. 367 – Altern in Deutschland Band 5

#### **Altern in Gemeinde und Region**

Stephan BEETZ, Bernhard MÜLLER, Klaus J. BECKMANN und Reinhard F. HÜTTL

(2009, 210 Seiten, 10 Abbildungen, 11 Tabellen, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2546-1)

Bd. 104, Nr. 368 – Altern in Deutschland Band 6 (in Vorbereitung)

#### **Altern und Technik**

Herausgegeben von Ulman LINDENBERGER, Jürgen NEHMER, Elisabeth STEINHAGEN-THIESSEN, Julia DELIUS und Michael SCHELLENBACH

Bd. 105, Nr. 369 – Altern in Deutschland Band 7

#### **Altern und Gesundheit**

Herausgegeben von Kurt KOCHSIEK

(2009, 302 Seiten, 46 Abbildungen, 18 Tabellen, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2548-5)

Bd. 106, Nr. 370 – Altern in Deutschland Band 8

#### **Altern: Familie, Zivilgesellschaft und Politik**

Herausgegeben von Jürgen KOCKA, Martin KOHLI und Wolfgang STRECK unter Mitarbeit von Kai BRAUER und Anna K. SKARPELIS

(2009, 343 Seiten, 44 Abbildungen, 9 Tabellen, 24,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2549-2)

Bd. 107, Nr. 371 (2009) – Altern in Deutschland Band 9

#### **Gewonnene Jahre. Empfehlungen der Akademiengruppe Altern in Deutschland**

(2009, 102 Seiten, 1 Abbildung, 12,00 Euro, ISBN: 978-3-8047-2550-8)



# Host Range Virus Mutants as Vaccines for Arthropod Vectored Viruses

Dennis T. BROWN and Raquel HERNANDEZ (Raleigh, NC, USA)

8 Figures and 1 Table

## *Abstract*

Viruses communicating disease are among the most important agents causing disease in humans. For example, they are the cause of malaria. The paper discusses most recent molecular biological developments for vaccination strategies.

## *Zusammenfassung*

Von Insekten übertragene Viren gehören zu den bedeutendsten Krankheitserregern des Menschen. Sie sind z. B. die Ursache der Malaria. Der Beitrag befasst sich mit neuen molekularbiologischen Entwicklungen für Vakzinierungsstrategien.

## **1. Introduction**

### *1.1 Medical Significance*

Arthropod borne viruses are major sources of human disease. They are collectively second only to malaria as world health problem number one. About 700 of these agents are presently known with emerging strains appearing annually. For one of these agents, Dengue Fever, approximately 100 million cases are reported annually with many more cases unreported. About 2.5 billion people are at risk of contracting this disease annually. Despite the enormous economic and medical impact of these agents very few effective vaccines exist for their control. Live virus vaccines, which are the most effective forms of vaccination, have been particularly difficult to produce. A novel technique for the production of live virus vaccines for arthropod vectored viruses is under development. This technology is based on the observation that evolution has provided these viruses with genetic information essential for replication in one of the two hosts (vertebrate and invertebrate) but is nonessential or quiescent in the other. Recent work has identified genetic elements required for efficient assembly of Alphaviruses in a host-dependent manner, restricting growth to the insect host. These genetic motifs have been mapped by constructing deletion mutations which restrict the growth of the virus to the insect host producing a host range mutation. Infection of the insect-produced virus into mice results in the production of high titers of neutralizing antibody and protection against challenge with neurovirulent virus in the absence of disease. In principle this technology will produce a live

virus vaccine against any of the arthropod-vector-diseases for which a cDNA clone can be produced. The significance of vaccines against these agents is that they could provide prophylactic treatment of arthropod-borne diseases that collectively infect over 100 million people annually and put over 2.5 billion people at risk of infection. This research provides pivotal proof of principle of the technology which through strategic alliances and partnerships could lead to the development of a commercial product.

### 1.2 Relevance

Arthropod-borne viruses (arboviruses) are agents of important and increasing emerging disease. These diseases were previously confined to tropical climates but are becoming a global concern as their insect vectors expand their range. The Arbovirus group includes representatives of the *Togaviridae*, *Flaviviridae* and *Bunyaviridae* virus families. Arboviruses are a distinct group in virology because they express a unique set of characteristics. Arthropod-borne viruses are vectored in nature by blood sucking insects which infect an intermediate vertebrate host in a life cycle which continues when the vertebrate host transfers the virus during a blood meal, culminating the natural cycle. As such, these viruses represent naturally occurring chimeric genomes which have evolved to be expressed in the biochemical environments of two highly divergent hosts. Not only are the environments of the hosts different biochemically, but function optimally at different temperatures. Insects are poikilothermic organisms and as such must adapt to the temperature of the surrounding environment. Thus the arbovirus infection must be efficient at a vast range of temperatures (WANG et al. 2007). Infections in vertebrate and invertebrate hosts initiate in different organs and tissues producing profoundly different types of infections. Infections of the insect result in an acute phase of infection followed by a chronic phase for the remaining lifespan of the insect. This infection in the insect persists with little to no obvious pathology. The insect becomes infected by the oral route, subsequently infecting secondary target tissues, specifically the salivary glands for successful virus transmission in nature. Arbovirus infections of vertebrate hosts, however, are acquired intravenously during the course of the insect blood meal. Infections of vertebrates by arboviruses vary from nonpathogenic with no clinical symptoms to virus strains which cause febrile illness with associated symptoms of arthralgia and haemorrhagia. *In vitro*, arbovirus infections of vertebrate cells are generally cytotoxic and the cells die apoptotically (KARPF and BROWN 1998).

### 1.3 Assembly

Sindbis virus is the alphavirus prototype of the *Togaviridae* family. Sindbis virus is encoded by a plus-stranded RNA genome of 11703nt. Seven proteins are produced, of which four are nonstructural (nsP1, nsP2, nsP3, and nsP4) and form the replicase. Three structural proteins capsid (C), PE2 and E1 are synthesized from a subgenomic RNA (STRAUSS and STRAUSS 1994). Upon infection, the non structural proteins are produced from the newly replicated genomic RNA. After sufficient genomic replication has occurred, RNA synthesis switches to produce a subgenomic message encoding the structural proteins. These genes are found in the sequence NH-C-PE2(E3 + E2)-6K-E1-COOH. Upon translation, the capsid protein autolytically processes itself from the polyprotein, exposing the signal sequence found in PE2. The polyprotein incorporates into the endoplasmic reticulum (ER) as a type II multipass protein containing 6 transmembrane domains (LILJESTROM and GAROFF 1991) (Fig. 1).

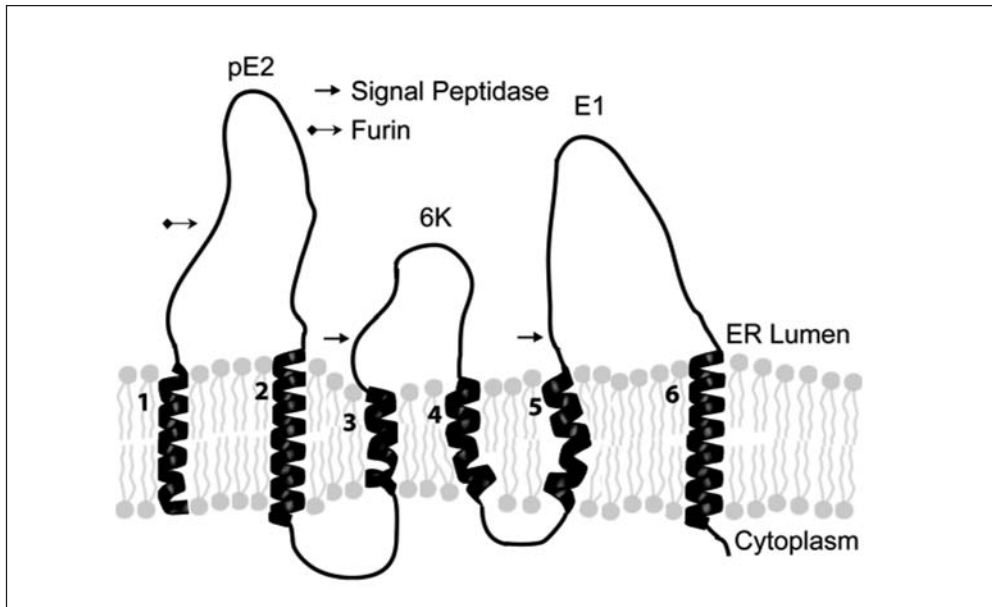


Fig. 1 Assembly of the structural polyprotein in the ER. Six membrane spanning regions are assembled. Only domains 2 and 6 are found in the mature virion. Reproduced from WHITEHURST et al. 2006, with permission of Elsevier Press.

In the ER, signalase processes the spacer protein 6K, and E1. PE2 and E1 form heterotrimers prior to their export to the Golgi. In the Golgi, furin processes PE2 to E3 and E2, and E1 and E2 are glycosylated as the proteins are trafficked through the exocytic pathway. Only the E1 and E2 glycoproteins are found within the mature virion. Capsid protein assembles with genomic RNA in the cytoplasm of the cell to form the nucleocapsids. At some point during maturation of the glycoproteins E2 is reorganized topologically and the second transmembrane domain region becomes reoriented from the membrane to the cytoplasm by an unknown mechanism (LIU and BROWN 1993) (Fig. 2).

The E2 endodomain contains the recognition site for nucleocapsid binding and, once exposed, nucleocapsids will bind to E1E2 modified membrane and budding is initiated (LEE et al. 1996). Once envelopment of the virion is initiated, 240 E2 proteins will associate with capsid proteins within the nucleocapsid in a 1:1 stoichiometric association (FERREIRA et al. 2003). The final product of envelopment is thus a chimeric virion, containing RNA and proteins encoded by the virus, and membrane and protein modifications acquired from the host cell.

While most biochemical and structural studies on Sindbis virus replication and assembly have been done in the vertebrate system, infections of insect vectors are less well understood (BROWN and CONDREAY 1986). There are, however, significant differences in infection of the insect host and in the virus assembly pathway. Distinct from vertebrate cells, Sindbis virus infections of mosquito cells *in vitro* do not produce a lytic infection. While assembly of the virus in the invertebrate host also occurs via the exocytic pathway, nucleocapsids and processed structural proteins are assembled within cytoplasmic vacuoles termed “virus factories” (MILLER and BROWN 1992). Unlike the vertebrate system, virions bud through membranes internal to the vesicles and not at the plasma membrane.

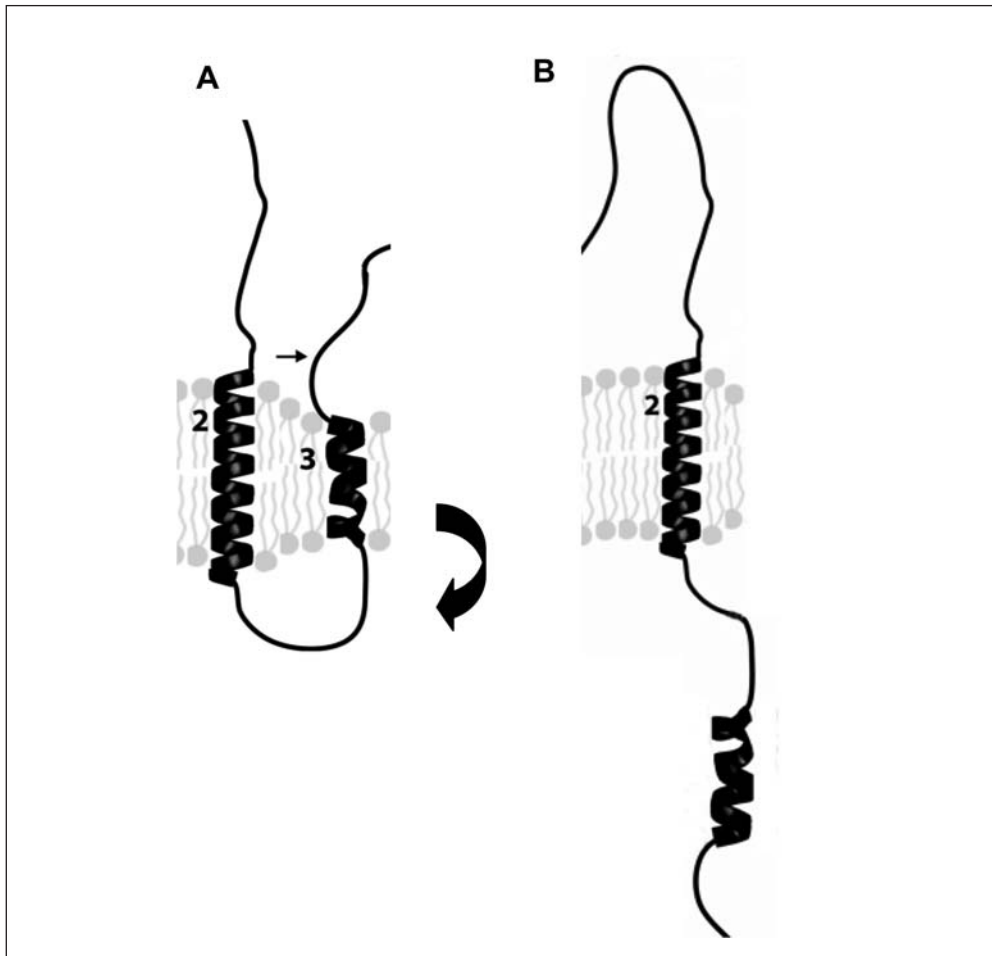


Fig. 2 Reorganization of the second E2 membrane spanning domain. (A) During protein maturation the E2 endodomain is found within the membrane. (B) Before budding is initiated at protein modified membrane, the E2 endodomain is relocated to the cell cytoplasm.

The infection is completed as the vesicles fuse with the plasma membrane releasing the virus into the surrounding media. Some types of invertebrate cells display limited cytopathology, but insect cultures will recover from the infection and become persistently infected (MILLER and BROWN 1992). While the vertebrate and invertebrate hosts show distinct dissimilarities in many aspects of Sindbis virus infection the final outcome is that both hosts produce biologically equivalent virions (STOLLAR 1980).

#### 1.4 Structure

Sindbis virus displays icosahedral structure composed of two nested protein shells of  $T = 4$  triangulation (Fig. 3) (PAREDES et al. 1993). The virion core is comprised of the genomic

RNA associated with the capsid protein forming an ordered nucleocapsid structure. The outer shell contains the two envelope proteins carrying the specific glycosylation motifs conferred by the specific host (STOLLAR et al. 1976). The heterotrimeric E1 and E2 are the basic capsomeres of the virion. Sandwiched between the two shells is the lipid bilayer derived from the host cell. The two protein shells are held together by the E2 endodomain or “tail” which associates specifically with capsid protein (LEE et al. 1996). E1 expresses a membrane anchor domain, but does not make significant contact with the nucleocapsid core. The relatively simple composition of this virus as well as the high degree of symmetry imposed in the structure has made this a model virus for the study of self assembly. It is assumed that the structure of Sindbis virus from vertebrate and invertebrate cells is biologically equivalent. Recent evidence, however, demonstrates that Sindbis virus glycosylation patterns derived from the mosquito host cells do not illicit the same innate immune response as that seen for mammalian derived virus (SHABMAN et al. 2007). There is also increasing evidence that the host derived virus membrane confers specific structural and biochemical differences related to the membrane composition of the host cell. These subtle, but important Sindbis virus host determined structural differences form the basis for the derivation of host range virus mutants as vaccine strains which could be developed for viruses of the Arbovirus group.

### *1.5 Background*

One of the most studied and still poorly understood steps in Sindbis virus assembly is the highly specific association of E2 tail and the nucleocapsid. The E2 endodomain (Fig. 4) is composed of multiple overlapping functional sequences which are required in a temporal manner during the assembly of the virus particle. These functional motifs are encrypted within the genome and can be expressed differentially in the vertebrate or invertebrate hosts. The

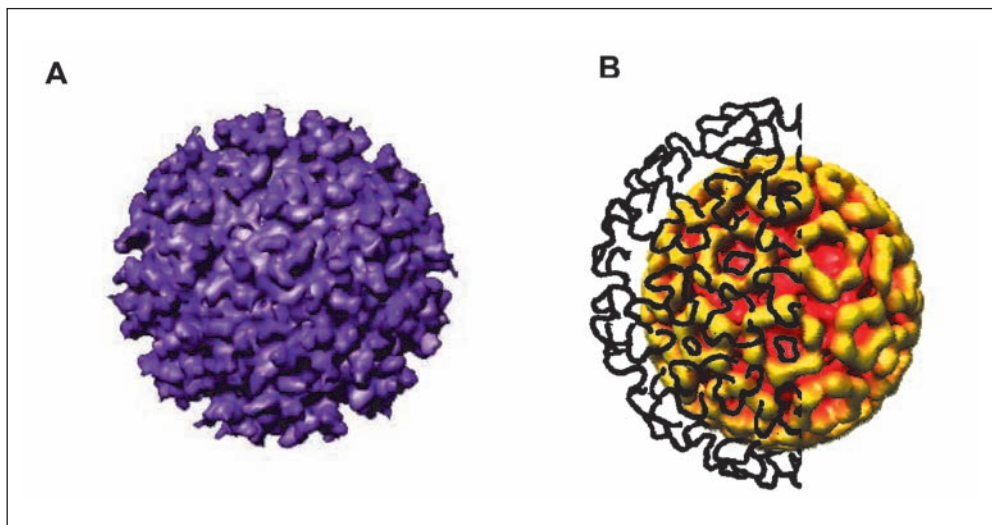


Fig. 3 (A) A cryoEM reconstruction of a native Sindbis virus virion. (B) Cutaway of the Sindbis virus outer shell revealing the nested nucleocapsid structure

best described motifs found within the E2 endodomain include the signalase recognition consensus sequence, the second transmembrane domain, a completely conserved 398TPY400 motif, and the region at the NH terminus of the tail which is juxtaposed to the membrane and is required for tight capsid binding and efficient budding (HERNANDEZ et al. 2000, 2003). Structural studies of the capsid protein structure fit into the electron cryomicroscopic density of the virus (Fig. 5) revealed a possible interaction of the conserved TPY motif within a previously identified hydrophobic pocket formed in the capsid protein (LEE et al. 1996). Of particular interest to particle assembly were two conserved aromatic residues in the capsid protein, Y180 and W247. These amino acids line the putative binding pocket and are located at a position within capsid into which the E2 tail could penetrate. A mathematical fit of the E2 endodomain sequence into the capsid binding pocket also suggested that a conserved Y400 in the E2 tail could be placed proximal to the conserved capsid Y180 and W247. This analysis led to the proposal that specific interactions between these three aromatic residues reinforced by stacking and pi-bonding could provide sufficient stability to drive particle assembly. If this proposal was correct, mutations changing the position of Y400 in the binding pocket should affect assembly. To test this hypothesis, a non conserved K at position 391 in the E2 tail ( $\Delta$ K 391) was deleted to relocate Y400 toward the membrane (HERNANDEZ et al. 2000). The phenotype predicted for this mutant was that of an assembly defective mutant.

Surprisingly, virus particles failed to assemble when BHK cells were transfected with RNA containing the deletion while wild type levels of infectious virus particles were assembled when mosquito cells were transfected. Thus, the resulting assembly defective phenotype was restricted to BHK cells. This mutant represents a host range mutant. While this outcome

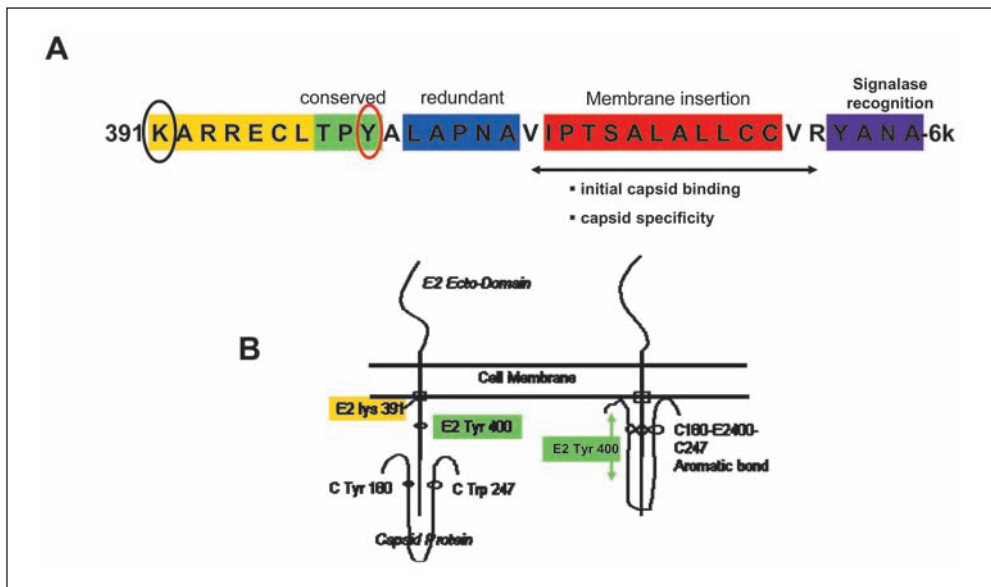


Fig. 4 (A) E2 endodomain contains multiple domains. A non-conserved K at position 391 (circled) is the most membrane proximal residue. Y400 (circled) is completely conserved throughout the alphaviruses. (B) Proposed nucleocapsid association with the E2 endodomain. E2 Y400 requires the correct alignment within the binding pocket. Deletion of K391 resulted in a host range mutant  $\Delta$ K391 restricted to growth in mosquito cells.

was unexpected, this initial observation suggested a structural role for the virus membrane during assembly beyond delivery of the glycoproteins to the cell surface. The membranes of insect cells differ dramatically from those of mammalian cells in both their chemical composition and their physical and structural properties (CLAYTON 1964, CLEVERLEY et al. 1997). The physicochemical differences between the insect and vertebrate membranes are functionally significant, thus the membranes of the viruses produced in these cells reflect those differences. One of the most significant differences between insect and mammalian membranes is the low level of cholesterol found in the insect membrane (RIETVELD et al. 1999). Insects are cholesterol auxotrophs and acquire the critical levels needed for growth from environmental and microbial sources. Insect membranes are also composed of lipids with shorter, less saturated hydrocarbon chains (RENKONEN et al. 1971). Because of these biochemical differences it is reasonable to propose that the insect membrane is thinner than the mammalian membrane. It has been established in mammalian cells that a gradient of membrane thickness is maintained with thinner membranes (ER and Golgi) internal to the cell, with thicker membranes toward the plasma membrane (BRETSCHER 1993). This membrane gradient is accompanied by an increase in cholesterol from the ER to the plasma membrane. These differences led to the postulate that the host range phenotype displayed by the mutant  $\Delta K 391$  was the result of a cooperative compensation of the proximal transmembrane domain (TMD) for the deletion in the E2 tail. This compensated function of the E2 tail was host dependent and could be explained if there was a differential interaction with the thicker mammalian membrane but not with the thinner mosquito membrane. In effect, for a truncated domain to assemble in either system, the structure must be able to accommodate the deletion and the altered structure. For assembly to occur selectively in the mosquito cells, amino acids in the E2 TMD adjacent to the membrane would need to function in a manner which would allow the tail region to bind capsid efficiently and reestablish virus assembly. If this hypothesis was correct, and the E2 transmembrane domain residues required for efficient assembly and infectivity in the mosquito host could be reduced proportionate to the membrane spanning distance, then selected amino acid deletions could be made and the virus could still assemble. This led to the corollary that the chimeric requirements placed on the Sindbis virus genome would be determined by the number of amino acids required to span the thicker mammalian membrane. Thus, a thinner mosquito membrane would not require the same number of amino acids to correctly span the lipid bilayer. To test this notion a nested series of amino acid deletions within the E2 TMD were constructed (HERNANDEZ et al. 2003). It was proposed that single and small deletions in this domain would not affect assembly in either host but that at some critical spanning length, truncated E2TMD would not assemble in the thicker mammalian membrane but would assemble in the thinner insect membrane. Further, at some critical span length, large truncations would not span either host membrane.

## **2. Results**

The TMD of glycoprotein E2 was incrementally truncated from its wild type length of 26 amino acids to a minimum of 8 amino acids. The sequence of these deletions is presented in Figure 5. Mutants are named to reflect the number of amino acids remaining in the TMD. The cDNA containing these mutations was transcribed into infectious RNA, and BHK-21 or *Aedes albopictus* cells were transfected by electroporation (HERNANDEZ et al. 2003).

<u>VY</u> TILAVASATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	Wild Type
<u>VY</u> TILAVASATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM25
<u>VY</u> TILAVASATVA <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM24
<u>VY</u> TILAVASATVA <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM23
<u>VY</u> TILAVASATVA <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM22
<u>VY</u> TILAVASATV <b>A</b> M <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM21
<u>VY</u> TILAVASATV <b>A</b> M <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM20
<u>VY</u> TILAV <b>A</b> SATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM19
<u>VY</u> TILAV <b>A</b> SATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM18
<u>VY</u> TILAV <b>A</b> SATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM17
<u>VY</u> TILAV <b>A</b> SATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM16
<u>VY</u> TILAV <b>A</b> SATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM14
<u>VY</u> TILAV <b>A</b> SATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM12
<u>VY</u> TI <b>L</b> AVASATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM10
<u>VY</u> TIL <b>A</b> VASATVAM <b>M</b> IGVTVAVLCAC	TM8

Fig. 5 Sindbis virus E2 TMD deletions series. The designation indicates the number of amino acids remaining after deletion of the amino acids indicated in bold face.

The amount of infectious virus produced by each mutant in either cell type was determined by plaque assay on BHK-21 cells and the virus titers of the TM mutants grown in BHK and *Aedes* cells are shown in Figure 6. As seen by the complexity of the data, the thorough phenotypic analysis of these mutants will require much analysis. Wild type virus, Y420, produces very high titers of virus in both host cell types. A single amino acid deletion (TM25) reduces virus production by 4 orders of magnitude and favors virus production in BHK cells.

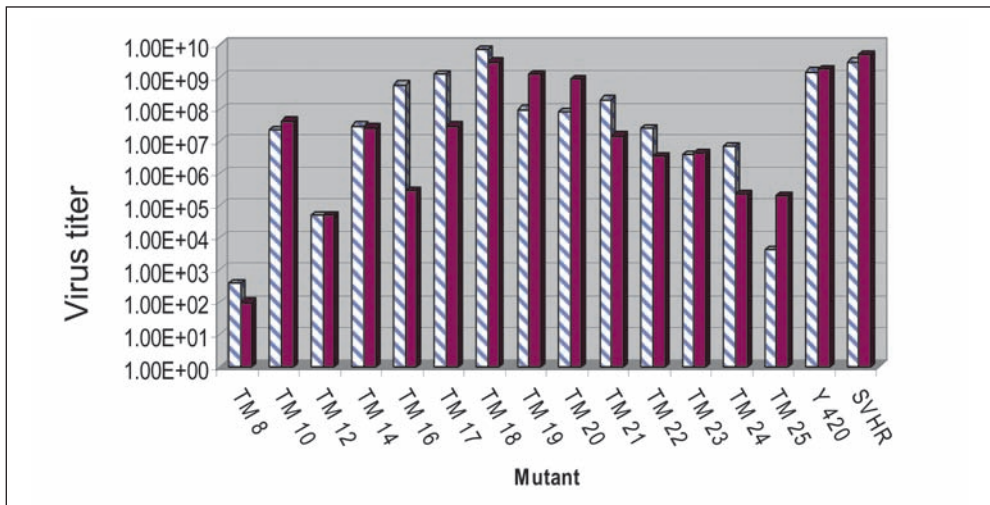


Fig. 6 Growth of TM deletion mutants in insect (hatched) and mammalian (solid) cells. Reproduced from HERNANDEZ et al. 2003, with permission of The American Society for Microbiology.



The mammalian cells infected with TM25 produce 10.5 times more virus than do infected insect cells. A TMD of 24 amino acids (TM24) increases virus production in both cell types but production is still well below wild type levels and favors growth in insect cells. TM 23 results in equivalent infectious virus production from both cell types. Truncations to 22 and 21 amino acids (TM 22 and 21 respectively) progressively increases virus production in mammalian cells but still favors growth in insect cells. Additional deletions to 20 and 19 amino acids (TM 20 and 19) increases virus production in mammalian cells while growth in insect cells remains at the levels seen for TM 22 and 23. At a length of 18 amino acids (TM 18) wild type levels of growth are seen for both cell types. Further deletions producing TM17 and TM16 begin a progressive reduction in virus production from BHK cells accompanied by the dramatic retention of near wild type levels of growth in insect cells. The most dramatic difference is seen with TM16 which produces virus at a level 1000 fold less virus from BHK cells relative to production in *Aedes* cells. Reduction to TM14 and TM12 continues the trend of virus titer reduction produced from the *Aedes* cells although equivalent amounts of virus is produced in both cell types and disrupt the trend of differential virus production in the two cell lines seen in TM 16 and 17. TM10 resulted in a surprising increase in virus production in both cell types to levels only 100 fold below wild type. The loss of 18 amino acids from the TMD (TM 8) dramatically reduces virus production to only about 100 PFU/ml in both cell types. Sequencing of cDNA from the progeny virus produced by each of the TM mutants revealed that the original deletions installed into the TMD mutants were recovered. No restoration of the wild type sequence occurred in any of these viruses during the transfections or after one infection in either host.

### **3. Host Range Mutants as Vaccine Strains**

Although the phenotypes of the Sindbis virus E2 TMD deletion mutants were much more complex than anticipated, generation of the predicted host range phenotypes was reproduced in TM16 and TM17. These two virus mutants produced 4 to 2 orders of magnitude more virus respectively, from the mosquito cells than from the mammalian BHK cells. This large differential in the amount of virus produced from the insect host cells raised the possibility that these mutants would be good vaccine strain candidates. To determine if these mutants maintained wild type immunogenicity, mutant viruses produced in insect cells were injected into 3-5 week old CD-1 mice. TM16 and 17 were UV-irradiated as controls for immunogenicity of the virus in the absence of replication and secondary infections in the mice. These viruses were found to produce no morbidity or mortality prior to challenge (Tab. 1). After 14 days of infection the mice were challenged i. c. with SAAR86, a highly neurotropic and pathogenic form of Sindbis virus. Challenge was done with ~ 1 LD50 unit and it is of note that live TM17 produced complete protection against both morbidity and mortality, compared to the mock infected control mice, or TM16, or TM16uv (Tab. 1).

While both TM 16 and 17 produced circulating antibody in vaccinated mice (Fig. 7) TM17 produced significantly higher titers of neutralizing antibody (Fig. 8). We have found that TM 16 is a less effective vaccine because it has reduced stability allowing its proteins to collapse into non native conformations.

A new, patented technology (US Patent Number 7,335,363) for the production of live virus vaccines of Arboviruses is based upon the following argument. The host range phenotype demonstrated by TM16 and 17 are the result of the differences seen in virus replication and

Tab. 1 Protection of mice from morbidity and mortality by immunization with TM mutants. Mice were vaccinated with 1000 PFU of mutant, UV-treated mutant or buffer and subsequently challenged with SAAR virus a highly pathogenic strain of Sindbis.

Group (12 Mice)	Virus s. c.	Dose	Mortality	Morbidity	Challenge (14 days)	Morbidity post challenge	Mortality post challenge	Protection
1	Mock (buffer)	NA	0 %	0 %	SAAR86 1000 pfu i. c.	92 %	36 %	66 %
2	TM16	106	0 %	0 %	SAAR86 1000 pfu i. c.	68 %	48 %	66 %
3	TM16 UV	NA	0 %	0 %	SAAR86 1000 pfu i. c.	92 %	36 %	50 %
4	TM17	106	0 %	0 %	SAAR86 1000 pfu i. c.	0	0	100 %
5	TM17 UV	NA	0 %	0 %	SAAR86 1000 pfu i. c.	84 %	36 %	66 %

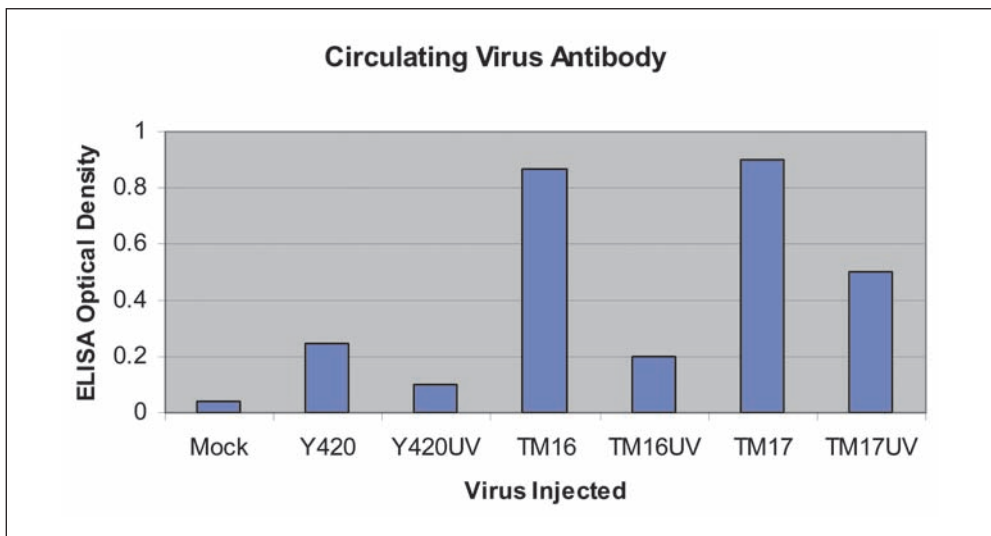


Fig. 7 Circulating virus antibody production in vaccinated mice

host response reflecting fundamental differences in the biology of the vertebrate and invertebrate cells. Using molecular cloning techniques deletion mutations have been produced in the membrane spanning domains of virus envelope glycoproteins (HERNANDEZ et al. 2003). These mutations restrict the ability of the virus to grow to the cells of the insect host. Virus produced from insect cells can infect mammals but does not produce significant progeny virus. The result is development of immunity in the absence of pathology. As all arboviruses have glycoproteins with non conserved hydrophobic transmembrane domains this vaccine strategy should work for any of the 700 plus agents in this family for which a cDNA clone could be produced.

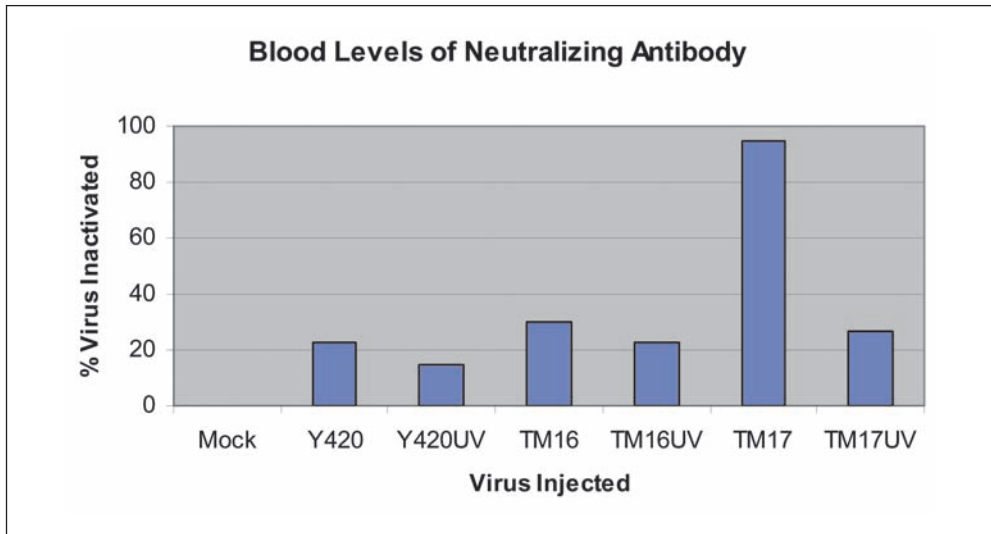


Fig. 8 Neutralizing antibody levels in vaccinated mice

This approach will produce live virus vaccines which will produce long term immunity to diseases caused by arthropod-vectored viruses. Live vaccines to these agents are thought to be the best immunogenic vehicle because of the metastable nature of these viruses. Alphavirus and Flaviviruses present particular problems in vaccinology. The membrane glycoproteins of Alphaviruses and (probably) Flaviviruses are folded during assembly into compact high energy metastable structures (CARLETON et al. 1997, MULVEY and BROWN 1994, 1995, 1996). The energy stored in the proteins is likely employed to drive the events that lead to infection of a host cell by the virion (PAREDES et al. 2004). The unstable high energy configuration of the protein renders it exquisitely sensitive to treatments used to remove it from the virion. Protocols that release and purify the protein result in its collapse into non native low energy configurations (MULVEY and BROWN 1994). The folding process resulting in the production of the high energy, native configuration is complex and involves interactions with other virus proteins and molecular chaperones (CARLETON et al. 1997, MULVEY and BROWN 1995). This latter point suggests that expression of domains of these proteins as subunits or as components of other virus proteins may not result in the conformation of the protein that exists in the mature infectious virus. All of these issues present problems for many existing protocols for the production of vaccines. We have overcome the problems presented above by exploiting the fact that these viruses (Alphaviruses and Flaviviruses) have evolved to effectively replicate in the unique biochemical and genetic environments of both vertebrate and invertebrate hosts (BROWN and CONDREAY 1986). This implies that they have adapted to engage various components of these diverse hosts. It is reasoned that certain elements of virus structure may be essential for assembly in the mammalian host cell that are not essential for growth in the insect host cell. The Alpha- and Flaviviruses are hybrid structures expressing proteins which are the products of virus genes but with membranes which are the product of the host cells biochemistry. When virus is grown in insect cells it acquires insect membrane and conversely when grown in mammalian cells it acquires mammalian membrane. There are dramatic dif-

ferences in the physical and chemical properties of mammalian and insect membranes. Insect cells have very low levels of cholesterol whereas mammalian membranes are cholesterol rich (CLAYTON 1964, CLEVERLEY et al. 1997). Cholesterol alters structural and chemical properties of cell membranes and thus the membrane glycoproteins of these viruses have evolved to interact with the diverse properties of these membranes.

This technology has been demonstrated to be effective using a model Alphavirus in a mouse model system. Because the technique involves the production of mutations which restrict the ability of the virus to replicate to the insect host infections in the mammalian host would be expected to be mild. These mutations are large deletions which have a low probability of reversion to wild type during the course of the infection. Using full length cDNA clones of any arbovirus which can replicate in cultured insect cells similar mutations to those demonstrated to be effective in the Alphavirus model could be generated. Those mutants producing the desired host range phenotype would be screened for their ability to produce an immune response and high levels of neutralizing antibody in mice. Success at this level will take the potential vaccine to primate trials in the case of human vaccines. These differences have been exploited to develop a method for the production of virus mutations which are capable of efficient replication in the invertebrate cell but are incapable of growth in vertebrate cells. These mutants are the basis for the development of vaccines against insect-vectored membrane containing viruses. This strategy will produce a superior vaccine as it will be a live virus vaccine.

*Safety considerations:* The live virus vaccine produced by this study still produces low levels of virus in the mammalian host. This is preferable to other forms of immunization as it ensures a substantial immune response. It does present a safety concern as it may present an opportunity for reversion or homologous recombination to yield wild type (pathogenic) virus. The large deletions have not been found to revert to wild type in multiple sequential passage experiments. Issues related to stability of the vaccine deletion mutations in the invertebrate host have also been addressed. Infection of adult mosquitoes with deletion mutants by blood meal or intrathoracic injection produces a disseminated infection which persists for the life of the insect (Ca 30 days). No revertants to wild type sequence have been recovered from the insects. We have also co-infected adult mosquitoes with wild type Sindbis virus and the deletion mutants. No mutant virus which had recovered sequence by homologous recombination with wild type virus was detected in preliminary studies (HERNANDEZ et al., to be published elsewhere). This suggests that the probability of such an event is very low.

*Insect cells as a vaccine source:* We will produce virus vaccines in cultured insect cells. There is presently no insect cell line certified for production of vaccines in humans. Certification of a cell line for use in the production of biologicals for use in humans, however, would be required (COX et al. 2008). Control of Dengue viruses is of such a medical and economic importance that certification of a cell line would be forthcoming if this strategy proves effective.

*References*

- BRETSCHER, M.: Cholesterol and the Golgi apparatus. *Science* 261, 1280 (1993)
- BROWN, D. T., and CONDREAY, L. D.: Replication of Alphaviruses in mosquito cells. In: SCHLESINGER, M. J. (Ed.): *The Togaviridae and Flaviviridae*; pp. 171–207. Plenum Publishing Corporation 1986
- CARLETON, M., LEE, H., MULVEY, M., and BROWN, D. T.: Role of glycoprotein PE2 in formation and maturation of the Sindbis virus spike. *J. Virol.* 71/2, 1558–1566 (1997)
- CLAYTON, R. B.: The utilization of sterols by insects. *J. Lipid Res.* 5, 3–19 (1964)
- CLEVERLEY, D., GELLER, H., and LENARD, J.: Characterization of cholesterol-free insect cells infectible by baculoviruses: effects of cholesterol on VSV fusion and infectivity and on cytotoxicity induced by influenza M2 protein. *Exp. Cell Res.* 233/2, 288–296 (1997)
- COX, M. M., PATRIARCA, P. A., and TREATOR, J.: FluBlok, a recombinant hemagglutinin influenza vaccine. *Influenza Other Respi. Viruses* 2/6, 211–219 (2008)
- FERREIRA, D. F., HERNANDEZ, R., HORTON, M., and BROWN, D. T.: Morphological variants of Sindbis virus produced by a mutation in the capsid protein. *Virology* 307/1, 54–66 (2003)
- HERNANDEZ, R., LEE, H., NELSON, C., and BROWN, D. T.: A single deletion in the membrane-proximal region of the Sindbis virus glycoprotein E2 endodomain blocks virus assembly. *J. Virol.* 74/9, 4220–4228 (2000)
- HERNANDEZ, R., SINODIS, C., HORTON, M., FERREIRA, D., YANG, C., and BROWN, D. T.: Deletions in the transmembrane domain of a Sindbis virus glycoprotein alter virus infectivity, stability, and host range. *J. Virol.* 77/23, 12710–12719 (2003)
- KARPF, A. R., and BROWN, D. T.: Comparison of Sindbis virus-induced pathology in mosquito and vertebrate cell cultures. *Virology* 240/2, 193–201 (1998)
- LEE, S., OWEN, K. E., CHOI, H. K., LEE, H., LU, G., WENGLER, G., BROWN, D. T., ROSSMANN, M. G., and KUHN, R. J.: Identification of a protein binding site on the surface of the alphavirus nucleocapsid and its implication in virus assembly. *Structure* 4/5, 531–541 (1996)
- LILJESTROM, P., and GAROFF, H.: Internally located cleavable signal sequences direct the formation of Semliki Forest virus membrane proteins from a polyprotein precursor. *J. Virol.* 65/1, 147–154 (1991)
- LIU, N., and BROWN, D. T.: Transient translocation of the cytoplasmic (endo) domain of a type I membrane glycoprotein into cellular membranes. *J. Cell Biol.* 120/4, 877–883 (1993)
- MILLER, M. L., and BROWN, D. T.: Morphogenesis of Sindbis virus in three subclones of *Aedes albopictus* (mosquito) cells. *J. Virol.* 66/7, 4180–4190 (1992)
- MULVEY, M., and BROWN, D. T.: Formation and rearrangement of disulfide bonds during maturation of the Sindbis virus E1 glycoprotein. *J. Virol.* 68/2, 805–812 (1994)
- MULVEY, M., and BROWN, D. T.: Involvement of the molecular chaperone BiP in maturation of Sindbis virus envelope glycoproteins. *J. Virol.* 69/3, 1621–1627 (1995)
- MULVEY, M., and BROWN, D. T.: Assembly of the Sindbis virus spike protein complex. *Virology* 219/1, 125–132 (1996)
- PARADES, A. M., BROWN, D. T., ROTHNAGEL, R., CHIU, W., SCHOEPP, R. J., JOHNSTON, R. E., and PRASAD, B. V.: Three-dimensional structure of a membrane-containing virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90/19, 9095–9099 (1993)
- PARADES, A. M., FERREIRA, D., HORTON, M., SAAD, A., TSURUTA, H., JOHNSTON, R., KLIMSTRA, W., RYMAN, K., HERNANDEZ, R., CHIU, W., and BROWN, D. T.: Conformational changes in Sindbis virions resulting from exposure to low pH and interactions with cells suggest that cell penetration may occur at the cell surface in the absence of membrane fusion. *Virology* 324/2, 373–386 (2004)
- RENKONEN, O., KAARAINEN, L., SIMONS, K., and GAHMBERG, C. G.: The lipid class composition of Semliki forest virus and plasma membranes of the host cells. *Virology* 46/2, 318–326 (1971)
- RIETVELD, A., NEUTZ, S., SIMONS, K., and EATON, S.: Association of sterol- and glycosylphosphatidylinositol-linked proteins with *Drosophila* raft lipid microdomains. *J. Biol. Chem.* 274/17, 12049–12054 (1999)
- SHABMAN, R. S., MORRISON, T. E., MOORE, C., WHITE, L., SUTHAR, M. S., HUESTON, L., RULLI, N., LIBBURY, B., TING, J. P., MAHALINGAM, S., and HEISE, M. T.: Differential induction of type I interferon responses in myeloid dendritic cells by mosquito and mammalian-cell-derived alphaviruses. *J. Virol.* 81/1, 237–247 (2007)
- STOLLAR, V.: Togaviruses in cultured arthropod cells. In: SCHLESINGER, R. W. (Ed.): *The Togaviruses*. New York: Academic Press Inc. 1980
- STOLLAR, V., STOLLAR, B. D., KOO, R., HARRAP, K. A., and SCHLESINGER, R. W.: Sialic acid contents of Sindbis virus from vertebrate and mosquito cells. *Virology* 69, 104–115 (1976)
- STRAUSS, J. H., and STRAUSS, E. G.: *The Alphaviruses: Gene expression, replication, and evolution*. *Micro. Rev.* 58, 491–562 (1994)

*Dennis T. Brown and Raquel Hernandez*

WANG, G., HERNANDEZ, R., WENINGER, K., and BROWN, D. T.: Infection of cells by Sindbis virus at low temperature. *Virology* 362/2, 461–467 (2007)

WHITEHURST, C. B., WILLIS, J. H., SINODIS, C. N., HERNANDEZ, R., and BROWN, D. T.: Single and multiple deletions in the transmembrane domain of the Sindbis virus E2 glycoprotein identify a region critical for normal virus growth. *Virology* 347/1, 199–207 (2006)

Prof. Dr. Dennis T. BROWN  
Dr. Raquel HERNANDEZ  
Department of Molecular & Structural Biochemistry  
NC State University  
Raleigh, NC 27695  
USA  
Phone: 001 919 5155802 (office)  
Fax: 001 919 5152047  
E-Mail: dennis\_brown@ncsu.edu

# An Early Recognized Epigenetic Signal: DNA Methylation Synopsis of Work from the Author's Laboratory

Walter DOERFLER ML (Köln/Erlangen)

## Abstract

Between 1976 and the present, the structural and functional consequences of DNA methylation have been a major scientific interest in my laboratory. In this article, I will present a synopsis of our work on DNA methylation, the first epigenetic signal to be recognized. The following topics will be discussed: the *de novo* methylation of foreign DNA integrated into mammalian genomes; inverse correlations between promoter methylation and activity; long-term silencing effects of site-specific promoter methylation; adenovirus E1 functions *in trans* and a strong enhancer *in cis* cancelling the silencing effect of promoter methylation; frog virus 3, an iridovirus with a completely CpG-methylated genome; mechanisms of *de novo* methylation; different segments of the genome with topical methylation memories; consequences of foreign DNA insertion into mammalian genomes: alterations of DNA methylation *in cis* and *trans*; the epigenetic status of an adenovirus transgenome in Ad12-transformed hamster cells; and cell type-specific patterns of DNA methylation: interindividual and interethnic concordance in the human genome.

## Zusammenfassung

Die strukturellen und funktionellen Mechanismen der DNA-Methylierung im Genom von Viren und Säugerkzellen sind seit dem Jahr 1976 eines der zentralen Themen in meinem Laboratorium gewesen. Dieser Artikel ist eine Zusammenfassung unserer Arbeiten in den vergangenen Jahrzehnten. Hier werden die folgenden Themen als Synopsis behandelt: (a.) Die *De-novo*-Methylierung von fremder DNA, die in ein Säugergenom integriert wurde. (b.) Inverse Korrelationen zwischen Promotormethylierung und Genaktivität sowie die langfristige Genabschaltung durch Sequenz-spezifische Promotormethylierung. (c.) Die Aufhebung der durch Methylierung bedingten Promotorinaktivierung *in trans* durch die E1A-Funktionen von Adenoviren und *in cis* durch die Nähe starker *enhancer*. (d.) Das Irido-Frosch-Virus 3 mit einem vollständig CpG-methylierten Genom und aktiven CpG-methylierten Promotoren. Eine interessante Ausnahme in der Welt der DNA-Methylierung. (e.) Zum Mechanismus der *De-novo*-Methylierung. (f.) Genomsegmente mit einem Methylierungsgedächtnis. (g.) Zu einer der Folgen der Insertion fremder DNA in etablierte Säugergenome: Änderung der DNA-Methylierung in zellulärer DNA *in cis* und *in trans*. (h.) Der epigenetische Status eines Adenovirus-Transgenoms in Ad12-transformierten Hamsterzellen. (i.) Zelltyp-spezifische Methylierungsmuster in ausgewählten Abschnitten des menschlichen Genoms. (j.) Nachweis einer scharfen Methylierungsgrenze in der 5'-*Upstream*-Region des menschlichen FMR1 (*fragile X mental retardation*)-Gens. Unsere und die Arbeiten zahlreicher anderer Laboratorien belegen, dass viele in der Biologie und der Medizin wichtigen Mechanismen durch die sequenzspezifische Methylierung von Genomabschnitten durch Einfluss auf die Struktur von Promotoren und von Chromatin geprägt werden.

## 1. Introduction

Against the background of a wealth of fundamental knowledge in classical molecular genetics, the excitement in the field today emanates from the genetic information encoded in DNA

sequences in-between genes and in specific DNA and histone modifications. DNA methylation was the first epigenetic signal to be recognized. The determination of patterns of DNA methylation has now assumed an important place in molecular biology and medicine. It will not be sufficient to pursue the concept that promoter methylation is associated with long-term gene inactivation and thereby regulates elementary processes in embryonic and disease developments. The mapping of the human epigenome and deciphering the functions, that patterns of methylation assume in different segments of the genome and in the 220 different human cell types, have become major goals.

By serendipity, my interest has been drawn to DNA methylation and to the functional role of the fifth nucleotide in DNA, 5-methyldeoxycytidine (5-mC). As not infrequently happens in science, in pursuing a specific aim in research, one encounters difficulties, and by trying to resolve them, the project is redirected into quite a different line of investigations that had not been anticipated at the outset of the initial study. At the time, we were determining the integrated state of adenovirus type 12 (Ad12) DNA in the genomes of Ad12-transformed hamster cells and of Ad12-induced hamster tumor cells. When we tried to cut the integrated Ad12 DNA with a restriction endonuclease, that frequently cleaved Ad12 DNA and was supposed to generate small fragments also encompassing the site of junction between viral and cellular DNAs, the experiment failed. HpaII from *Haemophilus parainfluenzae* with the recognition sequence 5'-CCGG-3' cleaved the integrate only incompletely. In the ensuing experiments, we demonstrated that the Ad12 genome, while unmethylated in the mature virion (GÜNTHERT et al. 1976) or in the nucleus of productively Ad12-infected human or abortively Ad12-infected hamster cells (VARDIMON et al. 1980, KÄMMER and DOERFLER 1995), had become heavily *de novo* methylated (SUTTER et al. 1978, SUTTER and DOERFLER 1980, HOCHSTEIN et al. 2007). This observation was one of the first to document that foreign DNA integrated into an established mammalian genome became *de novo* methylated. We subsequently succeeded in documenting an inverse correlation between promoter activity and levels of promoter methylation (VARDIMON et al. 1980, SUTTER and DOERFLER 1980, VARDIMON et al. 1982, LANGNER et al. 1984) and came to recognize promoter methylation as a genetic signal that determined long-term promoter inactivation (DOERFLER 1983, 1990).

In later studies, we found patterns of DNA methylation in different parts of the human genome to be highly conserved, cell type-specific, interindividually and interethnically maintained, and different from promoter to promoter (KOCHANNEK et al. 1990, 1991). These results strengthened the motivation to pursue studies on the patterns of DNA methylation in the human genome and their function.

Within the past decade, it has become apparent from the contributions of many different laboratories that DNA methylation is just one of a number of genetic signals that are not part of the conventional coding sequences. It is not mainly, certainly not only, by DNA sequences in or close to the genes that regulatory mechanisms are governed by in most genomes. Nucleotide sequences in-between genes affect genetic activities that, in addition, are modulated by modifications of DNA, histones and by chromatin structure. Studies on the impact of small RNAs (microRNAs, siRNAs) in the regulation of gene expression have assumed center stage in today's research in molecular genetics. With the realization of the importance of these genetic regulatory elements, determinations of DNA methylation patterns in the entire genome assume enhanced actuality beyond the well established concept that 5-mC patterns can be understood as signals for long-term promoter silencing.



## 2. Synopsis of Studies on DNA Methylation

### 2.1 *De novo* Methylation of Foreign DNA

#### 2.1.1 Absence of Methylation in Adenovirion and Intracellular Adenoviral DNA

The genomic DNAs of adenovirus type 2 (Ad2) and adenovirus type 12 (Ad12), as isolated from purified virions, are not methylated. Moreover, the genomic DNA of adenovirus-transformed cells is more highly methylated than that of non-transformed cells (GÜNTHERT et al. 1976). These results were derived from a chemical analysis of acid-hydrolyzed DNA followed by the two dimensional separation of the resulting nucleotides in a system that allowed to quantitate the amount of 5-mC relative to that of non-modified C. This work was done in collaboration with Ursula GÜNTHERT and Manfred SCHWEIGER who, at the time, worked in the Max-Planck Institute of Molecular Genetics in Berlin.

Later on, we demonstrated that free, non-integrated adenovirus DNA in the nuclei of productively or abortively infected cells remained unmethylated (VARDIMON et al. 1980, KÄMMER and DOERFLER 1995). Ad12 is unable to replicate in hamster cells that, therefore, undergo a completely abortive infection by Ad12. The absence of methylation in free Ad12 DNA in non-permissive hamster cells ruled out the possibility that *de novo* methylation of Ad12 DNA in abortively infected hamster cells might be the cause for this non-productive infection cycle (DOERFLER 1991a).

#### 2.1.2 *De novo* Methylation of Foreign DNA Integrated into Established Mammalian Genomes

Foreign (adenoviral, plasmid or bacteriophage lambda) DNA integrated into established mammalian genomes becomes *de novo* methylated (SUTTER et al. 1978, SUTTER and DOERFLER 1980, HOCHSTEIN et al. 2007, OREND et al. 1995, HELLER et al. 1995). The initially disturbing observation that integrated Ad12 DNA was cleavage-resistant to methylation-sensitive restriction endonucleases opened the door for our investigations on DNA methylation. We were led to the correct interpretation of these unexpected findings by the previously documented absence of DNA methylation in virion Ad12 DNA (GÜNTHERT et al. 1976). The comparison of cleavage patterns from integrated and virion Ad12 DNA revealed complete cleavage of virion DNA but incomplete cuts by HpaII in the Ad12 integrates (SUTTER et al. 1978, SUTTER and DOERFLER 1980). We were fortunate in that, at that time, the isoschizomeric enzyme pair HpaII and MspI had become available (WAALWIJK and FLAVELL 1978): HpaII is blocked by the sequence 5'-C(mC)GG-3', whereas MspI is insensitive to the presence of 5-mC in the 3'-located C of its recognition sequence. We have recently presented the results of a very extensive analysis of the methylation profile in an Ad12 integrate in an Ad12-transformed hamster cell line with only one copy of Ad12 DNA and a second truncated one and its epigenetic modifications (HOCHSTEIN et al. 2007).

## 2.2 Promoter Inactivation by DNA Methylation

### 2.2.1 Inverse Correlations between Promoter Methylation and Promoter Activity in Eukaryotic Systems

Viruses have traditionally proven themselves as excellent tools for the elucidation of basic biological mechanisms – true in the past when cellular or organismic systems presented insurmountable technical difficulties and still true today, although the most complex systems have now become amenable to molecular analyses with relative ease. Salvador LURIA and Max DELBRÜCK were among the first ones to recognize the potential of viruses (bacteriophages) in their analytical approach to the genetics of bacteria (LURIA and DELBRÜCK 1943). Along this school of thought, we and others started to employ human adenoviruses in studies of the molecular biology of mammalian cells in the 1960s. We documented that Ad12 replicated productively in human cells with a temporally strictly ordered expression of early and late viral gene functions. In contrast, in hamster cells, Ad12 underwent a completely abortive cycle with the replication block being located prior to DNA replication (DOERFLER 1969). There is only minimal transcription of some of the early, but not of the late, Ad12 genes in hamster cells (ORTIN et al. 1976). The nature of this replication block of Ad12 in hamster cells is complex and could not be overcome by a number of Ad2, Ad12, or cellular functions (E1; pTP = preterminal protein of Ad2 or Ad12; or hCAR = human coxsackie-adenovirus receptor) (HÖSEL et al. 2001, 2003, HOCHSTEIN et al. 2008). Moreover, in Ad12-transformed hamster cells or in Ad12-induced hamster tumor cells, early Ad12 functions are transcribed to a limited extent, late functions, in contrast, are almost completely silenced (HOCHSTEIN et al. 2007, ORTIN et al. 1976). Similar observations have been reported for Ad2-transformed hamster cells (JOHANNSSON et al. 1978).

Inverse correlations between the extent of promoter methylation and promoter activity have first been described in studies on Ad2- or Ad12-transformed hamster cells (VARDIMON et al. 1980, SUTTER and DOERFLER 1980). The early Ad12 genes with low transcriptional activity are un- or hypomethylated, whereas the late Ad12 genes are inactive and hypermethylated (SUTTER and DOERFLER 1980). Specifically, in the Ad2-transformed hamster cell line HE2, the early E2AL promoter is active and not methylated, conversely in another Ad2-transformed cell line, HE1, the same promoter is inactivated and hypermethylated in all HpaII sites (VARDIMON et al. 1980). These cell line-based observations have subsequently been extended to *in vitro* pre-methylation experiments on cloned viral or cellular genes, followed by their transfer into eukaryotic cells and determinations of their transcriptional activities.

### 2.2.2 *In vitro* Pre-Methylation of Viral or Mammalian Promoters Leads to their Inactivation

We have performed experiments in which a promoter-indicator gene construct was pre-methylated with the HpaII (5'-CCGG-3') DNA-methyltransferase and was then microinjected into *Xenopus laevis* oocytes (VARDIMON et al. 1982) or transfected into human or hamster cells in culture (LANGNER et al. 1984). Subsequently, the transcriptional activity of these constructs was measured and compared with that of the same un-methylated construct. Pre-methylation invariably lead to promoter inactivation or a marked decrease in its activity. In some of these experiments, exclusively the promoter was methylated, leaving the coding gene sequence un-methylated, a procedure that inactivated the construct. The converse experiment with a construct carrying an un-methylated promoter but a methylated coding sequence left the promoter

active and suggested that promoter methylation was indeed decisive in the inactivation at least of the Ad2E2AL promoter (LANGNER et al. 1984). When the opposite nucleotide sequence, 5'-GGCC-3', was methylated in the E2AL promoter with the BsuRI DNA methyltransferase, the promoter retained its activity in transfection and transient expression experiments (VARDIMON et al. 1982). Hence, only very specific 5'-CG-3' sequences in a viral promoter proved sensitive to DNA methylation. The inactivation of promoters or promoter-indicator-gene constructs following sequence-specific pre-methylation and subsequent transfection into cells suggests that at least in these transient activity assays, promoter methylation is the primary event leading to promoter inactivity.

We have performed similar studies with corroborating results with a number of additional viral or mammalian promoters: the Ad12 E1 promoter (KRUCZEK and DOERFLER 1982, 1983, KNEBEL and DOERFLER 1986), in which the methylation of CpG residues or of N<sup>6</sup>-methyladenine affects promoter activity; the p10 promoter of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV) (KNEBEL et al. 1985); the promoter of the RET protooncogene (MUNNES et al. 1998); the promoter of the CGG-binding protein 1 (CGGBP1) (NAUMANN et al. 2004); the promoters of the human erythroid membrane protein genes  $\beta$ -spectrin (SPTB), protein 4.2 (ELB4.2), band 3 (EPB3) (REMUS et al. 2005). In cultured erythroblasts and throughout erythroid cell differentiation, the promoter of the SPTB gene was active and unmethylated. In contrast, the EPB3 and ELB42 promoters were found active but highly methylated (REMUS et al. 2005). In that respect, the reaction of the EPB3 and ELB42 promoters to methylation resembled that of frog virus 3 promoters (see below). A survey of the literature on promoter activity and methylation was published by MUNNES and DOERFLER (1997).

### 2.2.3 Adenovirus E1 functions *in trans* or the presence of a strong HCMV enhancer *in cis* cancel the inactivating effect of promoter methylation

Interestingly, when a promoter or an entire promoter-indicator gene construct was premethylated and subsequently transfected into cells that constitutively expressed the transactivating E1 functions of adenovirus, promoter inactivation was reduced or abolished (LANGNER et al. 1986). Similar results were obtained when the methylated promoter-indicator gene construct was co-transfected with the E1 region of Ad2 (WEISSHAAR et al. 1988). Apparently, a strong transactivator was capable of counteracting or cancelling *in trans* the inactivating quality of 5-mC residues in the promoter sequence. Control experiments ascertained the continued stability of the methylated state of these premethylated constructs after transfection. Moreover, the presence of the strong enhancer of an early human cytomegalovirus (HCMV) promoter in the methylated construct *in cis* also obliterated the inactivating effect of promoter methylation (KNEBEL-MÖRSDORF et al. 1988). The mechanism(s) by which these counteracting forces bear on the methylated promoter still remain elusive.

### 2.2.4 Frog Virus 3 Promoters are Active in the Fully Methylated State

Frog virus 3 (FV3), a member of the iridovirus genus *Ranavirus*, was originally isolated from a renal tumor of a leopard frog, *Rana pipiens* (GRANOFF et al. 1966), but did not cause disease in frogs (GRANOFF 1969). In contrast to many other DNA viruses, FV3 virions contain highly methylated DNA. All internal cytosines in the tetranucleotide sequence CCGG are methylated (WILLIS and GRANOFF 1980, SCHETTER et al. 1993). FV3 thus exhibits one of the

highest levels of DNA methylation known. A few FV3 promoters methylated in all 5'-CG-3' dinucleotides have been directly shown to be transcriptionally active (THOMPSON et al. 1988, SPANGLER and ESSANI 1994, MUNNES et al. 1995). Host RNA polymerase II is thought to be utilized for FV3 mRNA synthesis (GOORHA 1981). Since this polymerase and many of the known cellular transcription factors can be inhibited by promoter methylation, the major question arises of what factors might be involved in keeping the fully 5'-CG-3' methylated FV3 promoters transcriptionally active.

We have used the FV3 system to study the effect of promoter methylation on FV3 promoter activity and have demonstrated that a fully CpG-methylated FV3 promoter retains its activity, at least in transient expression experiments upon transfection into fish or mammalian cells in culture. This promoter was more active when methylated by SssI DNA methyltransferase in all 5'-CG-3' residues as compared to an only 5'-CCGG-3' methylated construct (MUNNES et al. 1995). Frog virus presents a challenging tool for further work on the mechanism of promoter activity in the presence or absence of specifically posited 5-mC residues.

### 2.2.5 A Long-Term Signal for Gene Inactivation and an Ancient Defense Mechanism against Foreign DNA

In reviews of our work, I proposed that promoter methylation served as a long-term signal for gene inactivation (DOERFLER 1981, 1983) and possibly constituted an ancient defense against foreign gene activities in mammalian cells (DOERFLER 1991b). This latter concept is also supported by the finding of heavily methylated retrotransposon sequences in mammalian genomes (YODER et al. 1997).

## 2.3 Mechanisms of *de novo* Methylation

### 2.3.1 Site of Initiation of *de novo* Methylation in Transgenic DNA

In several Ad12-induced hamster tumor cell lines, the site of initiation of *de novo* methylation in the Ad12 transgenomes was determined. The first 5'-CCGG-3' and 5'-GCGC-3' methylated sequences in the Ad12 transgenomes were located at two paracentrally located sites in integrated Ad12 DNA. It appears that *de novo* methylation commences regionally in these two genome segments, rather than at a specific nucleotide(s) (HOHLWEG et al. 2003), and spreads from there across the entire or large parts of the Ad12 genome (HOCHSTEIN et al. 2007, OREND et al. 1995).

### 2.3.2 Extension of *de novo* Methylation by Spreading

Our studies on patterns of DNA methylation in the human and other mammalian genomes were greatly facilitated by the availability of the bisulfite protocol of the genomic sequencing technique, developed by Marianne FROMMER and colleagues (FROMMER et al. 1992, CLARK et al. 1994). By following the increasing methylation of un-methylated adenovirus promoter-indicator gene constructs upon their transfection and chromosomal fixation in hamster cells in various cell passages, it became again apparent that the *de novo* methylation of integrated foreign DNA was initiated regionally and proceeded by gradual spreading (MÜLLER and DOERFLER 1987, TOTH et al. 1989, OREND et al. 1991).

### 2.3.3 Factors Affecting *de novo* Methylation of Inserted Foreign DNA

We have approached this problem in three different sets of experiments:

(i) The E1 region of Ad12 was transfected and stably integrated by random recombination into the genome of hamster cells. In each of the thus stably transformed cell lines, the Ad12-E1 transgene resided in a different location. In some cell lines the transgene became *de novo* methylated, in others not methylated or methylated to a limited extent (OREND et al. 1995). Apparently, *de novo* methylation of foreign DNA inserted into an established mammalian genome depended less on the sequence of the transgene, but rather on the location it eventually came to occupy in the recipient genome.

(ii) The murine gene for the tyrosine B lymphocyte kinase (BLK) was propagated as plasmid in a C-methylation minus strain of *Escherichia (E.) coli* and thus had lost its mouse-specific methylation profile. Subsequently, this construct was re-inserted into the authentic position in the mouse genome by homologous targeting in mouse embryonic stem cells. In the embryonic stem cell lines thus generated, the BLK transgene was *de novo* re-methylated in exactly the same pattern as was characteristic for this gene in non-manipulated mouse cells or on the unaffected second allele in the manipulated mouse stem cells. When, however, the transgene had come to reside at random locations in the recipient genome, presumably by heterologous recombination, the patterns of *de novo* methylation were completely different (HERTZ et al. 1999). We also found that in randomly inserted transgenes the extent of *de novo* methylation depended on the strength of the promoter to which the BLK gene had been tethered: In linkage to the strong early SV40 promoter, the extent of *de novo* methylation was lower than in combination with the weaker E2AL promoter of Ad2 DNA. These data (HERTZ et al. 1999) are compatible with the notion that each segment in a mammalian genome might have its specific topical methylation memory. Moreover, the strength of the promoter that governs a transgene seems to influence the extent of its *de novo* methylation upon insertion into a stable genome.

(iii) In transgenic mice, the stability of a preimposed methylation pattern on an Ad2-E2AL-CAT promoter-indicator (CAT = chloramphenicol-acetyl-transferase) gene construct depended on the genetics of the mouse strain. Transmission of the transgene into an inbred DBA/2, 129/sv or FVB/N genetic background led to a significant loss of the preimposed methylation pattern, whereas C57BL/6, CB20, or Balb/c backgrounds favored the *de novo* methylation in specific patterns and their maintenance (SCHUMACHER et al. 2000).

The results of these three lines of investigations support the notion that site of transgene insertion, topical methylation memories, strength of the attached promoter and genetic background of the recipient organism can all affect the process of *de novo* methylation and the stability of a preimposed methylation pattern.

## 2.4 Consequences of Foreign DNA Insertion

### 2.4.1 Consequences of Foreign DNA Integration into an Established Mammalian Genome

Insertion of foreign DNA into an established mammalian genome is frequently associated with the *de novo* methylation of the transgene or transgenome (see above) and with alterations

in cellular DNA methylation patterns at sites adjacent to and remote from the insertion locus (HELLER et al. 1995, REMUS et al. 1999). In retrovirus-induced tumor cells (JÄHNER and JÄENISCH 1985) or in Ad12-induced hamster tumor cells (LICHTENBERG et al. 1988), the methylation pattern of the cellular DNA at the immediate site of foreign (viral) DNA integration is reversed in comparison to the pattern at the same site prior to insertion. Moreover, when DNA methylation patterns were determined in IAP (intracisternal A particle) retrotransposon sequences of Ad12-transformed hamster cells with multiple copies of Ad12 DNA integrated, marked changes were observed in the 900 copies of IAP sequences by restriction or by bisulfite sequencing analyses (HELLER et al. 1995, REMUS et al. 1999). These changes persisted also in revertant cell lines that had lost all of the Ad12 integrates (HELLER et al. 1995). Foreign genome insertions thus permanently affected endogenous cellular methylation patterns and their changes persisted after transgenome excision. In the Ad12-transformed hamster cell lines, the alterations of DNA methylation patterns at sites remote from the locus of Ad12 integrate insertion were not restricted to the IAP sequences but could also be documented in segments of the major histocompatibility complex genes, in genes of the IgC $\mu$  chains, and in the ADPRT, serine proteinase and cytochrome P450 genes (HELLER et al. 1995).

We further investigated whether the insertion of foreign DNA other than that of a transforming DNA virus might also compromise the stability of DNA methylation patterns. To this end, we generated hamster cell lines transgenic for the DNA of bacteriophage lambda. These cell lines, similarly to the Ad12 DNA-transgenic cells, carried multiple copies of the lambda DNA usually at a single chromosomal location. The lambda transgenomes also became *de novo* methylated. Moreover, the patterns of methylation in the IAP retrotransposon sequences of these lambda DNA-transgenic cells showed alterations in their methylation patterns as compared to non-transgenic cells (REMUS et al. 1999). Challenged by these data, we pursue the possibility that the insertion of foreign DNA into an established mammalian genome can alter the stability and the patterns of methylation not only at the immediate site of integration but also at sites remote from the locus of transgene or transgenome insertion. The site of transgene integration may determine extent and location of alterations in cellular DNA methylation patterns *in trans*. It will be interesting to follow to what extent such changes contribute to the generation of the oncogenic phenotype, at least in Ad12-induced tumors (DOERFLER 1995, 2000, DOERFLER et al. 2001, DOERFLER 2006). Could small RNAs be involved in transmitting the genomic information from the site of foreign DNA integration to the loci of changed methylation patterns at far-away sequences and *in trans* on other chromosomes?

#### 2.4.2 Determination of the Methylation Status of an Entire Viral (Ad12) Transgenome

We have determined the epigenetic status of integrated Ad12 DNA in hamster cells that have been propagated in culture for several decades (HOCHSTEIN et al. 2007). Cell line TR12 is a fibroblastic revertant of the Ad12-transformed epitheloid hamster cell line T637, the latter with 15 copies of integrated Ad12 DNA. In the genomes of the TR12 revertant cells only one Ad12 DNA copy persists plus a 3.9 kbp fragment from a truncated second Ad12 DNA molecule. The cellular insertion site of the Ad12 integrate, identical in both cell lines, is a > 5.2 kbp inverted DNA repeat. The Ad12 transgenome is packaged around nucleosomes. The cellular junction sequence is more sensitive to micrococcal nuclease degradation at Ad12 occupied than at unoccupied sites. Bisulfite sequencing reveals complete *de novo* methylation

of most of the 1,634 CpG dinucleotides in the integrated Ad12 DNA in cell line TR12, except for its termini. Isolated unmethylated CpG dinucleotides extend over the entire transgenome. The possible function or structural significance of these unmethylated CpG isles remains unknown. The fully methylated transgenome segments are characterized by promoter silencing as well as histone H3 and H4 hypoacetylation. Nevertheless, there is minimal residual transcription of some of the late viral genes that are controlled by the fully methylated major late promoter (MLP) of the integrated Ad12 genome. We submit that during cell divisions the initially hypermethylated MLP of the inserted Ad12 genome is rendered hemimethylated and thus facilitates transient MLP activation. The termini of the Ad12 DNA, that encode the E4 region of Ad12, are unmethylated and transcribed, both in the parent T637 and the revertant TR12 cell line. This study of the epigenomic state of the Ad12 transgenome in cell line TR12 is likely one of the most detailed accounts on an integrated transgenome (HOCHSTEIN et al. 2007) described in the literature.

## *2.5 Patterns of DNA Methylation*

### **2.5.1 Cell Type-specific DNA Methylation Patterns and their Interindividual and Interethnic Concordance**

The genomic sequencing technique has been applied to the analyses of the promoters of the tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) and TNF $\beta$  genes in human granulocytes, lymphocytes in HL-60 cells, a promyelocytic leukemia cell line, in Jurkat cells, a T cell line, and in RPMI 1788 cells, an IgM-secreting B-cell lymphoblastoid cell line. The results reveal very specific patterns of 5-mC distribution in these segments of the human genome. Thus, e.g., in human granulocytes, that express the TNF $\alpha$  gene, there are three CpG dinucleotides upstream and one CpG dinucleotide downstream in the promoter region, which are methylated, whereas 18 CpG dinucleotides in-between these methylated CpG dinucleotides are unmethylated. These very specific patterns are completely conserved among 15 individuals of different ethnic origins (African, Chinese, and European) and proved different from cell type to cell type (KOCHANÉK et al. 1990, 1991). The CpG dinucleotides in the TNF $\beta$  promoter in 9 different individuals are methylated, and this gene is not expressed in granulocytes. In human lymphocytes, the main source of TNF $\beta$  production, the TNF $\beta$  promoter is free of methylated CpG dinucleotides, and the gene is expressed. In DNA from human sperm, all CpG dinucleotides in the TNF $\beta$  promoter are completely methylated.

These data attest to the high specificity of promoter methylation, even in the TNF $\alpha$  promoter that is active in human granulocytes. The methylation pattern in the TNF $\alpha$  promoter of human granulocytes suggests that the position of methylated CpG dinucleotides in a promoter is essential for their functionality. Presumably, the inactivating effect of methylated 5'-CG-3' dinucleotides depends crucially on their number and position in a promoter. The question of how many 5-mC residues have to be located at what position(s) in a promoter has not yet been sufficiently studied in any biological system and likely varies from promoter to promoter.

### **2.5.2 Patterns of DNA Methylation at the Prader-Willi/Angelman Locus**

We have determined the methylation patterns in the genetically imprinted Prader-Willi (PWS)/Angelman syndrome region of the human genome on chromosome 15q11-q13 (ZESCHNIGK

et al. 1997, SCHUMACHER et al. 1998), in the promoter region of the human fragile X mental retardation (FMR1) gene (GENÇ et al. 2000) and in several other segments of the human genome (survey in DOERFLER 2000). In the SNRPN and D15S63 segments of the genetically imprinted PWS/Angelman locus, > 96 % of the 23 5'-CG-3' dinucleotides around the SNRPN exon 1 are methylated on the maternal, but unmethylated on the paternal chromosome. At the D15S63 locus, only the CfoI/HhaI site is methylated on the maternal chromosome, the remaining five 5'-CG-3' dinucleotides are differentially methylated on both the maternal (45–70 %) and paternal (5–14 %) chromosomes. Hence, this genetically imprinted region of the human genome presents complex methylation profiles on both the maternal and the paternal chromosomes.

### 2.5.3 Methylation Pattern in the Promoter and 5'-upstream Region of the Human FMR1 Gene

We currently extend our earlier studies (GENÇ et al. 2000) of the methylation profiles in the promoter and 5'-upstream region of the human and murine FMR1 (fragile X mental retardation) genes (NAUMANN et al. 2009). The FMR1 promoter also harbors an origin of DNA replication (GRAY et al. 2007) and thus is rich in genetic signals.

### 2.5.4 DNA Methylation in the Alu Sequences of Human Cells

Even when located in CpG-rich regions of the human genome, Alu sequences are highly methylated. This hypermethylation might contribute to the low levels of transcription that are characteristic for Alu elements. There are, however, differences in the levels of methylation in specific Alu sequences. Alu elements in haploid spermatozoa are hypomethylated. In cell-free transcription experiments, we have demonstrated that the *in vitro* pre-methylation of Alu elements leads to their transcriptional silencing (KOCHANEK et al. 1993).

### 2.5.5 DNA Methylation in the Promoter and Exon 1 Regions of the Human Gene for the Interleukin-2 Receptor $\alpha$ Chain (IL-2R $\alpha$ )

The IL-2R $\alpha$  gene is expressed in stimulated but not in resting human T lymphocytes. The IL-2R $\alpha$  gene has an important role in eliciting the T cell-mediated immune response. In most human cell types tested, the IL-2R $\alpha$  gene is not significantly methylated (BEHN-KRAPPA and DOERFLER 1993). Promoters of genes whose activity are essential under certain conditions are frequently not methylated but inactivated by other mechanisms.

## 2.6 The Human CGG-Binding Protein

We have isolated and characterized a nuclear protein from human HeLa cells that binds specifically to 5'-(CGG)<sub>n</sub>-3' repeats and whose binding is compromised by the presence of 5-mC in the repeat sequence (DEISSLER et al. 1996, 1997). The gene is highly conserved among mammals. The CGG-binding protein 1 (CGGBP1) lacks homology to all known proteins; it carries a nuclear localization signal. This 20 kDalton CGGBP1 might participate in the regulation of the activities of CGG-rich promoters (MÜLLER-HARTMANN et al. 2000). However, we still do not know the actual function of this protein.



The CGGBP1 gene is located on the short arm of human chromosome 3p (NAUMANN et al. 2004). The promoter of the CGGBP1 gene is sensitive to DNA methylation. The promoter and exon 1 of the CGGBP1 gene are unmethylated in 101 CpG dinucleotides in DNA from human peripheral white blood cells (PWBCs), from HeLa or KB cells. The CGGBP1 gene is transcribed in most human tissues and cell lines tested (NAUMANN et al. 2004).

### 3. Conclusions

Nucleotide sequences spaced in-between coding segments plus modifications of DNA and histones sequences are increasingly understood to exert important regulatory functions in genetics. The function of 5-mC residues, the first epigenetic signal to be recognized, is most likely not restricted to long-term gene inactivation but seems to influence in a hitherto unknown way additional genetic mechanisms. The determination of these patterns and their function will be of considerable interest. Efforts along these lines in the Human Epigenome Project will provide very useful information. However, future studies will have to deal primarily with the biological role these patterns play. In this synopsis, I have compiled a brief summary of our laboratory's contributions between 1976 and 2009 to the field of DNA methylation.

Foreign DNA integrated into mammalian, and as well into other, genomes becomes effectively *de novo* methylated in specific patterns, possibly as the consequence of an ancient defense system inherent in many species. Among the factors that seem to determine these patterns are the genomic sites of foreign DNA insertion, the strength of promoters in the transgenome, and the genetics of the foreign genome recipient. The sequence of the transgene/transgenome could also play a role. In an otherwise almost completely CpG-methylated Ad12 transgenome, numerous CpG dinucleotide isles, that are spread across the entire transgenome, remain unmethylated even after decades of propagation of the transgenomic cells in culture (HOCHSTEIN et al. 2007). At present, we cannot explain the origin of these unmethylated islands. Their presence might point to specific interactions of transgenomic sequences with RNA or protein sequences of unknown nature and function.

Retroviral genomes have played a major role as gene transfer vectors. Integrated retroviral DNA is subject to epigenetic gene silencing, that leads to loss of expression of viral genes and of reporter or therapeutic genes transduced by these vectors. The silencing of retroviral genomes upon genomic fixation in the target cells or organisms can be effected by a number of mechanisms. Histone deacetylase 1 (HDAC1), the transcriptional repressor Daxx, a binding partner of HDAC1, or heterochromatin protein 1 gamma have been shown to be involved in retroviral silencing, presumably as part of an antiviral response (POLESHKO et al. 2008). The patterns of DNA methylation among the genomic sequences, that flank the preroetroviral integration sites in embryonic stem cells, might affect the reversibility of retroviral silencing (MINOGUCHI and IBA 2008). Transgenes stably integrated into cells can be repressed by changes in chromatin structure marked by histone hypoacetylation, loss of methylation at H3 lysine 4, increase of histone H3 lysine 9 methylation as well as CpG DNA methylation of the promoter (MUTSKOV and FELSENFELD 2004). macroH2A1 histones are important factors in silencing endogenous murine leukemia viruses *in vivo*, and specific internal retroviral sequences might be targeted by a macroH2A1-dependent silencing mechanism (CHANGOLKAR et al. 2008).

Among the unexpected consequences of foreign DNA integration into mammalian genomes are alterations of DNA methylation patterns elicited in these genomes at loci remote from the site of transgenome or transgene insertion. These alterations persist even after the transgenomes have been excised (HELLER et al. 1995). The site of insertion may affect extent and location of these alterations. This finding deserves more extensive studies, since the insertion of foreign DNA has been frequently practiced in molecular biology and medicine and its more far-reaching consequences have been hardly investigated at all.

Our studies on adenovirus promoters were among the first to demonstrate inverse correlations between promoter methylation and activity and were extended to document directly the inactivating effect of sequence-specific promoter methylation, both with respect to promoter site and sequence: e.g., 5'-CCGG-3' methylation inactivated the E2AL promoter of Ad2 DNA, 5'-GGCC-3' methylation failed to do so. In these transient activity tests, sequence-specific methylation appeared to be the primary factor in promoter silencing. The mechanism of long-term promoter inactivation by promoter methylation and the functional link to specific histone modifications have remained elusive. For a number of viral promoters, we have also shown that the inactivating effect of sequence-specific promoter methylation can be overcome, canceled or mitigated by the *trans* activating functions of the E1 region of the adenovirus genome or by the presence *in cis* of a strong enhancer from the human cytomegalovirus genome (HCMV).

Viral systems present a broad panoply of possibilities of how to solve fundamental molecular mechanisms. Another useful example along these lines is the response of promoters in the genome of the iridovirus frog virus 3 (FV3) that retain full activity in the completely methylated state in which they remain in actively replicating viral genomes. This finding is less of an anecdotal speciality than a tool to study in greater detail promoter inactivation by DNA methylation and its reversal.

We have determined methylation patterns in a number of human genes and their promoters. The most intriguing data were obtained with the TNF $\alpha$  and TNF $\beta$  promoters and with the promoter and 5'-upstream region of the FMR1 gene. There are interindividually highly conserved methylation patterns in an active promoter (TNF $\alpha$  and FMR1) or zones of demarcations in DNA methylation (FMR1) that do not appear to be directly related to promoter function but rather are indicative of a different functional flavor. Patterns can be, but do not have to be in all instances, specific for cell type and, for genome segment, they can be interindividually and interethnically conserved, findings that emphasize the functional importance of these patterns.

Since genomes are now known to encode important regulatory functions, in particular in different families of small interfering RNAs (FIRE et al. 1998, MELLO and CONTE 2004, FIRE 2007), in sequences previously not recognized to be coding, patterns of DNA methylation across the genome might also affect the transcription of these regulatory RNAs. This aspect has so far not yet been studied.

When a mouse gene was reinserted by homologous recombination into its autologous site, the methylation pattern authentic for this and the allelic site was reimposed onto it (HERTZ et al. 1999). In contrast, upon heterologous insertion at random sites, different patterns of DNA methylation were observed. These findings are consistent with, but do not prove, the notion that each segment in a mammalian genome possesses a specific topical methylation, perhaps a general DNA-chromatin modification, memory that reinserted DNA becomes subject to.

Recently a compilation of review articles by leading researchers in the field on many aspects of DNA methylation has been published (FIRE 2007, DOERFLER and BÖHM 2006a, b).

## Note Added in Proof

The mechanism of expansion of the CGG repeat on human chromosome Xq27.3, associated with the fragile X syndrome (FRAXA), remains poorly understood. We have now determined the methylation profile of a 5,500 bp 5'-upstream region of the human *FMR1* gene by bisulfite sequencing (NAUMANN et al. 2009). This genome segment is replete with genetic signals: a CGG tri-nucleotide repeat, the promoter of the *FMR1* gene, an origin of DNA replication, numerous CpG dinucleotides, and a distinct methylation boundary between a methylated and an unmethylated genome segment (NAUMANN et al. 2009). This methylation boundary, located 650 to 800 nucleotides and 65 to 70 CpG pairs upstream of the CGG repeat, was identified in several different human cell types and cell lines. The boundary is conserved in the equivalent position in the mouse genome. The boundary is lost in fragile X syndrome patients. Their inactivated promoter is fully methylated but carries a few isles of unmethylated CpG dinucleotides, possibly sites of transcription factor interactions. The 630 bp DNA segment encompassing the methylation boundary binds specifically to nuclear proteins, both when unmethylated and when fully methylated. We interpret this boundary to exhibit a higher order chromatin structure that delineates an active promoter from its upstream region and protects the promoter from becoming *de novo* methylated. This structure, perhaps akin to an insulator, seems to be altered in FRAXA patients, and this alteration might be related to the inactivation of the *FMR1* promoter.

## Acknowledgments

At various stages of this work, my laboratory received financial support from the *Deutsche Forschungsgemeinschaft*, Bonn, Germany (SFB 74 and 274); the Federal Ministry of Research and Technology, Bonn, Germany; the Center for Molecular Medicine Cologne, Köln; the Fritz Thyssen Foundation, Köln; the Alexander von Humboldt Foundation, Bonn (fellowship to Indriķis MUIZNIĒKS from Latvian University, Riga, Latvia); the Wilhelm Sander Foundation, München; and from amaxa GmbH, Köln. Our work was also aided by the University of Cologne and the Institute of Virology, Universitätsklinikum Erlangen. W. D. acknowledges the hospitality extended to his Senior Investigator Group in the Institute for Virology in Erlangen between 2002 and the present.

An article similar to this one has been published in the journal *Epigenetics* (DOERFLER, W.: In pursuit of the first recognized epigenetic signal: DNA methylation. *Epigenetics* 3, 125–133 [2008]). Copyright permission has been granted by LANDES BIOSCIENCE.

## References

- BEHN-KRAPPA, A., and DOERFLER, W.: The state of methylation in the promoter and exon 1 regions of the human gene for the interleukin-2 receptor  $\alpha$  chain (IL-2R $\alpha$ ) in various cell types. *Hum. Mol. Genet.* 2, 993–999 (1993)
- CHANGOLKAR, L. N., SINGH, G., and PEHRSON, J. R.: MacroH2A1-dependent silencing of endogenous murine leukemia viruses. *Mol. Cell Biol.* 28, 2059–2065 (2008)
- CLARK, S. J., HARRISON, J., PAUL, C. L., and FROMMER, M.: High sensitivity mapping of methylated cytosines. *Nucl. Acids Res.* 22, 2990–2997 (1994)
- DESSLER, H., BEHN-KRAPPA, A., and DOERFLER, W.: Purification of nuclear proteins from human HeLa cells that bind specifically to the unstable tandem repeat (CGG) $_n$  in the human *FMR1* gene. *J. Biol. Chem.* 271, 4327–4334 (1996)
- DESSLER, H., WILM, M., GENÇ, B., SCHMITZ, B., TERNES, T., NAUMANN, F., MANN, M., and DOERFLER, W.: Rapid protein sequencing by tandem mass spectrometry and cDNA cloning of p20-CGGBP. *J. Biol. Chem.* 272, 16761–16768 (1997)

- DOERFLER, W.: Nonproductive infection of baby hamster kidney cells (BHK21) with adenovirus type 12. *Virology* 38, 587–606 (1969)
- DOERFLER, W.: DNA methylation – a regulatory signal in eukaryotic gene expression. *J. Gen. Virol.* 57, 1–20 (1981)
- DOERFLER, W.: DNA methylation and gene activity. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 93–124 (1983)
- DOERFLER, W.: The significance of DNA methylation patterns: Promoter inhibition by sequence-specific methylation is one functional consequence. *Phil. Transact. Royal Soc. London B* 26, 253–265 (1990)
- DOERFLER, W.: Abortive infection and malignant transformation by adenoviruses: Integration of viral DNA and control of viral gene expression by specific patterns of DNA methylation. *Adv. Virus Res.* 39, 89–128 (1991a)
- DOERFLER, W.: Patterns of DNA methylation – evolutionary vestiges of foreign DNA inactivation as a host defense mechanism – A proposal. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 372, 557–564 (1991b)
- DOERFLER, W.: The insertion of foreign DNA into mammalian genomes and its consequences: a concept of oncogenesis. *Adv. Cancer Res.* 66, 313–344 (1995)
- DOERFLER, W.: *Foreign DNA in Mammalian Systems*. Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapore, Toronto: Wiley-VCH 2000
- DOERFLER, W.: DNA methylation: *De novo* methylation, long-term promoter silencing, DNA methylation patterns and their changes. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 301, 125–175 (2006)
- DOERFLER, W., and BÖHM, P. (Eds.): *DNA Methylation: Basic Mechanisms*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 301. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer 2006a
- DOERFLER, W., and BÖHM, P. (Eds.): *DNA Methylation: Development, Genetic Disease, Cancer*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 310. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer 2006b
- DOERFLER, W., HOHLWEG, U., MÜLLER, K., REMUS, R., HELLER, H., and HERTZ, J.: Foreign DNA integration – perturbations of the genome – oncogenesis. *Ann. New York Acad. Sci.* 945, 276–288 (2001)
- FIRE, A. Z.: Gene silencing by double-stranded RNA. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 46, 6966–6984 (2007)
- FIRE, A. Z., XU, S. Q., MONTGOMERY, M. K., KOSTAS, S. A., DRIVER, S. E., and MELLO, C. C.: Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391, 806–811 (1998)
- FROMMER, M., McDONALD, L. E., MILLAR, D. S., COLLIS, C. M., WATT, F., GRIGG, G. W., MOLLOY, P. L., and PAUL, C. L.: A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 1827–1831 (1992)
- GENÇ, B., MÜLLER-HARTMANN, H., ZESCHNIGK, M., DESSLER, H., SCHMITZ, B., MAJEWSKI, F., GONTARD, A. VON, and DOERFLER, W.: Methylation mosaicism of 5'-(CGG)<sub>n</sub>-3' repeats in fragile X, premutation and healthy individuals. *Nucl. Acids Res.* 28, 2141–2152 (2000)
- GOORHA, R.: Frog virus 3 requires RNA polymerase II for its replication. *J. Virol.* 37, 496–499 (1981)
- GRANOFF, A.: Viruses of amphibia. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 50, 107–137 (1969)
- GRANOFF, A., CAME, P. E., and BREEZE, D. C.: Viruses and renal carcinoma of *Rana pipiens*. *Virology* 29, 133–148 (1966)
- GRAY, S. J., GERHARDT, J., DOERFLER, W., SMALL, L. E., and FANNING, E.: An origin of DNA replication in the promoter region of the human fragile X mental retardation (FMR1) gene. *Mol. Cell Biol.* 27, 426–437 (2007)
- GÜNTHER, U., SCHWEIGER, M., STUPP, M., and DOERFLER, W.: DNA methylation in adenovirus, adenovirus-transformed cells, and host cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 3923–3927 (1976)
- HELLER, H., KÄMMER, C., WILGENBUS, P., and DOERFLER, W.: Chromosomal insertion of foreign (adenovirus type 12, plasmid, or bacteriophage lambda) DNA is associated with enhanced methylation of cellular DNA segments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 5515–5519 (1995)
- HERTZ, J., SCHELL, G., and DOERFLER, W.: Factors affecting de novo methylation of foreign DNA in mouse embryonic stem cells. *J. Biol. Chem.* 274, 24232–24240 (1999)
- HOCHSTEIN, N., MUIZNIKS, I., MANGEL, L., BRONDKE, B., and DOERFLER, W.: The epigenetic status of an adenovirus transgenome upon long-term cultivation in hamster cells. *J. Virol.* 81, 5349–5361 (2007)
- HOCHSTEIN, N., WEBB, D., HÖSEL, M., SEIDEL, W., AUEROCHS, S., and DOERFLER, W.: Human CAR gene expression in non-permissive hamster cells boosts entry of type 12 adenovirions and nuclear import of viral DNA. *J. Virol.* 82, 4159–4163 (2008)
- HOHLWEG, U., HÖSEL, M., DORN, A., WEBB, D., HILGER-EVERSHEIM, K., REMUS, R., SCHMITZ, B., BUETTNER, R., SCHRAMME, A., CORZILIUS, L., NIEMANN, A., and DOERFLER, W.: Intraperitoneal dissemination of Ad12-induced undifferentiated neuroectodermal hamster tumors: de novo methylation and transcription patterns of integrated viral and of cellular genes. *Virus Res.* 98, 45–56 (2003)
- HÖSEL, M., WEBB, D., SCHRÖER, J., and DOERFLER, W.: The abortive infection of Syrian hamster cells with human adenovirus type 12. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 272, 415–440 (2003)

- HÖSEL, M., WEBB, D., SCHRÖER, J., SCHMITZ, B., and DOERFLER, W.: The overexpression of the adenovirus type 12 pTP or E1A gene facilitates Ad12 DNA replication in non-permissive BHK21 hamster cells. *J. Virol.* 75, 16041–16053 (2001)
- JÄHNER, D., and JAENISCH, R.: Retrovirus-induced de novo methylation of flanking host sequences correlates with gene inactivity. *Nature* 315, 594–597 (1985)
- JOHANSSON, K., PERSSON, H., LEWIS, A. M., PETTERSSON, U., TIBBETTS, C., and PHILIPSON, L.: Viral DNA sequences and gene products in hamster cells transformed by adenovirus type 2. *J. Virol.* 27, 628–639 (1978)
- KÄMMER, C., and DOERFLER, W.: Genomic sequencing reveals absence of DNA methylation in the major late promoter of adenovirus type 2 DNA in the virion and in productively infected cells. *FEBS Letters* 362, 301–305 (1995)
- KNEBEL, D., and DOERFLER, W.: N<sup>6</sup>-Methyldeoxyadenosine residues at specific sites decrease the activity of the E1A promoter of adenovirus type 12 DNA. *J. Mol. Biol.* 189, 371–375 (1986)
- KNEBEL, D., LÜBBERT, H., and DOERFLER, W.: The promoter of the late p10 gene in the insect nuclear polyhedrosis virus *Autographa californica*: activation by viral gene products and sensitivity to DNA methylation. *EMBO J.* 4, 1301–1306 (1985)
- KNEBEL-MÖRSDORF, D., ACHTEN, S., LANGNER, K. D., RÜGER, R., FLECKENSTEIN, B., and DOERFLER, W.: Reactivation of the methylation-inhibited late E2A promoter of adenovirus type 2 by a strong enhancer of human cytomegalovirus. *Virology* 166, 166–174 (1988)
- KOCHANEK, S., RADBRUCH, A., TESCH, H., RENZ, D., and DOERFLER, W.: DNA methylation profiles in the human genes for tumor necrosis factors  $\alpha$  and  $\beta$  in subpopulations of leukocytes and in leukemias. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 5759–5763 (1991)
- KOCHANEK, S., RENZ, D., and DOERFLER, W.: DNA methylation in the Alu sequences of diploid and haploid primary human cells. *EMBO J.* 12, 1141–1151 (1993)
- KOCHANEK, S., TOTH, M., DEHMELE, A., RENZ, D., and DOERFLER, W.: Interindividual concordance of methylation profiles in human genes for tumor necrosis factors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 8830–8834 (1990)
- KRUCZEK, I., and DOERFLER, W.: The unmethylated state of the promoter/leader and 5'-regions of integrated adenovirus genes correlates with gene expression. *EMBO J.* 1, 409–414 (1982)
- KRUCZEK, I., and DOERFLER, W.: Expression of the chloramphenicol acetyltransferase gene in mammalian cells under the control of adenovirus type 12 promoters: effect of promoter methylation on gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 7586–7590 (1983)
- LANGNER, K. D., VARDIMON, L., RENZ, D., and DOERFLER, W.: DNA methylation of three 5' C-C-G-G 3' sites in the promoter and 5' region inactivates the E2a gene of adenovirus type 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 2950–2954 (1984)
- LANGNER, K. D., WEYER, U., and DOERFLER, W.: Trans effect of the E1 region of adenoviruses on the expression of a prokaryotic gene in mammalian cells: resistance to 5'-CCGG-3' methylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1598–1602 (1986)
- LICHTENBERG, U., ZOCK, C., and DOERFLER, W.: Integration of foreign DNA into mammalian genome can be associated with hypomethylation at site of insertion. *Virus Res.* 11, 335–342 (1988)
- LURIA, S. E., and DELBRÜCK, M.: Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* 28, 491–511 (1943)
- MELLO, C. C., and CONTE, D. Jr.: Revealing the world of RNA interference. *Nature* 431, 338–342 (2004)
- MINOGUCHI, S., and IBA, H.: Instability of retroviral DNA methylation in embryonic stem cells. *Stem Cells* 26, 1166–1173 (2008)
- MÜLLER, U., and DOERFLER, W.: Fixation of unmethylated or the 5'-CCGG-3' methylated adenovirus late E2A promoter-cat gene construct in the genome of hamster cells: gene expression and stability of methylation patterns. *J. Virol.* 61, 3710–3720 (1987)
- MÜLLER-HARTMANN, H., DEISSLER, H., NAUMANN, F., SCHMITZ, B., and DOERFLER, W.: The human 20 kDa 5'-(CGG)<sub>n</sub>-3'-binding protein is targeted to the nucleus and affects the activity of the FMR1 promoter. *J. Biol. Chem.* 275, 6447–6452 (2000)
- MUNNES, M., and DOERFLER, W.: DNA methylation in mammalian genomes: promoter activity and genetic imprinting. In: DULBECCO, R. (Ed.): *Encyclopedia of Human Biology*. Vol. 3, pp. 435–446. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press 1997
- MUNNES, M., PATRONE, G., SCHMITZ, B., ROMEO, G., and DOERFLER, W.: A 5'-CG-3'-rich region in the promoter of the transcriptionally frequently silenced RET protooncogene lacks methylated cytidine residues. *Oncogene* 17, 2573–2584 (1998)
- MUNNES, M., SCHETTER, C., HÖLKER, I., and DOERFLER, W.: A fully 5'-CG-3' but not a 5'-CCGG-3' methylated late frog virus 3 promoter retains activity. *J. Virol.* 69, 2240–2247 (1995)

- MUTSKOV, V., and FELSENFELD G.: Silencing of transgene transcription precedes methylation of promoter DNA and histone H3 lysine 9. *EMBO J.* 23, 138–149 (2004)
- NAUMANN, A., HOCHSTEIN, N., WEBER, S., FANNING, E., and DOERFLER, W.: A distinct DNA methylation boundary in the 5'-upstream sequence of the *FMRI* promoter binds nuclear proteins and is lost in fragile X syndrome. *Amer. J. Hum. Genet.* 85, 606–616 (2009)
- NAUMANN, F., REMUS, R., SCHMITZ, B., and DOERFLER, W.: Gene structure and expression of the 5'-(CGG)<sub>n</sub>-3'-binding protein (CGGBP1). *Genomics* 83, 108–120 (2004)
- OREND, G., KNOBLAUCH, M., KÄMMER, C., TJIA, S. T., SCHMITZ, B., LINKWITZ, A., MEYER ZU ALTENSCHILDESCHKE, G., MAAS, J., and DOERFLER, W.: The initiation of de novo methylation of foreign DNA integrated into a mammalian genome is not exclusively targeted by nucleotide sequence. *J. Virol.* 69, 1226–1242 (1995)
- OREND, G., KUHLMANN, I., and DOERFLER, W.: Spreading of DNA methylation across integrated foreign (adenovirus type 12) genomes in mammalian cells. *J. Virol.* 65, 4301–4308 (1991)
- ORTIN, J., SCHEIDTMANN, K. H., GREENBERG, R., WESTPHAL, M., and DOERFLER, W.: Transcription of the genome of adenovirus type 12. III. Maps of stable RNA from productively infected human cells and abortively infected and transformed hamster cells. *J. Virol.* 20, 355–372 (1976)
- POLESHKO, A., PALAGIN, I., ZHANG, R., BOIMEL, P., CASTAGNA, C., ADAMS, P. D., SKALKA, A. M., and KATZ, R. A.: Identification of cellular proteins that maintain retroviral epigenetic silencing: evidence for an antiviral response. *J. Virol.* 82, 2313–2323 (2008)
- REMUS, R., KÄMMER, C., HELLER, H., SCHMITZ, B., SCHELL, G., and DOERFLER, W.: Insertion of foreign DNA into an established mammalian genome can alter the methylation of cellular DNA sequences. *J. Virol.* 73, 1010–1022 (1999)
- REMUS, R., KANZAKI, A., YAWATA, A., NAKANISHI, H., WADA, H., SUGIHARA, T., ZESCHNIGK, M., ZUTHER, I., SCHMITZ, B., NAUMANN, F., YAWATA, Y., and DOERFLER, W.: Relations between DNA methylation and expression in erythrocyte membrane genes (band 2, 4.2, and spectrin) during human erythroid differentiation. *Int. J. Hematol.* 82, 422–429 (2005)
- SCHETTER, C., GRÜNEMANN, B., HÖLKER, I., and DOERFLER, W.: Patterns of frog virus 3 DNA methylation and DNA methyltransferase activity in nuclei of infected cells. *J. Virol.* 67, 6973–6978 (1993)
- SCHUMACHER, A., BUITING, K., ZESCHNIGK, M., DOERFLER, W., and HORSTHEMKE, B.: Methylation analysis of the PWS/AS region does not support an enhancer competition model of genomic imprinting on human chromosome 15. *Nature Genet.* 19, 324–325 (1998)
- SCHUMACHER, A., KOETSIER, P. A., HERTZ, J. M., and DOERFLER, W.: Epigenetic and genotype-specific effects on the stability of *de novo* imposed methylation patterns in transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 275, 37915–37921 (2000)
- SPANGLER, C. M., and ESSANI, K.: Transactivation of methylated HIV-LTR by a frog virus 3 protein. *Virology* 204, 651–655 (1994)
- SUTTER, D., and DOERFLER, W.: Methylation of integrated adenovirus type 12 DNA sequences in transformed cells is inversely correlated with viral gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 253–256 (1980)
- SUTTER, D., WESTPHAL, M., and DOERFLER, W.: Patterns of integration of viral DNA sequences in the genomes of adenovirus type 12-transformed hamster cells. *Cell* 14, 569–585 (1978)
- THOMPSON, J. P., GRANOFF, A., and WILLIS, D. B.: Methylation of the promoter for an immediate-early frog virus 3 gene does not inhibit transcription. *J. Virol.* 62, 4680–4685 (1988)
- TOTH, M., LICHTENBERG, U., and DOERFLER, W.: Genomic sequencing reveals a 5-methylcytosine-free domain in active promoters and the spreading of preimposed methylation patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 3728–3732 (1989)
- VARDIMON, L., GÜNTHER, U., and DOERFLER, W.: In vitro methylation of the BsuRI (5'-GGCC-3') sites in the E2a region of adenovirus type 2 DNA does not affect expression in *Xenopus laevis* oocytes. *Mol. Cell Biol.* 2, 1574–1580 (1982)
- VARDIMON, L., KRESSMANN, A., CEDAR, H., MAEHLER, M., and DOERFLER, W.: Expression of a cloned adenovirus gene is inhibited by in vitro methylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 1073–1077 (1982)
- VARDIMON, L., NEUMANN, R., KUHLMANN, I., SUTTER, D., and DOERFLER, W.: DNA methylation and viral gene expression in adenovirus-transformed and -infected cells. *Nucl. Acids Res.* 8, 2461–2473 (1980)
- WAALWIJK, C., and FLAVELL, R. A.: MspI, an isoschizomer of HpaII which cleaves both unmethylated and methylated HpaII sites. *Nucleic Acids Res.* 5, 3231–3236 (1978)
- WEISSHAAR, B., LANGNER, K. D., JÜTTERMANN, R., MÜLLER, U., ZOCK, C., KLIMKAIT, T., and DOERFLER, W.: Re-activation of the methylation-inactivated late E2A promoter of adenovirus type 2 by E1A (13S) functions. *J. Mol. Biol.* 202, 255–270 (1988)
- WILLIS, D. B., and GRANOFF, A.: Frog virus 3 DNA is heavily methylated at CpG sequences. *Virology* 107, 250–257 (1980)

YODER, J. A., WALSH, C. P., and BESTOR, T. H.: Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends Genet.* 13, 335–440 (1997)

ZESCHNIGK, M., SCHMITZ, B., DITTRICH, B., BUTING, K., HORSTHEMKE, B., and DOERFLER, W.: Imprinted segments in the human genome: different DNA methylation patterns in the Prader-Willi/Angelman syndrome region as determined by the genomic sequencing method. *Hum. Mol. Genet.* 6, 387–395 (1997)

Prof. Dr. Walter DOERFLER  
Institut für Klinische und Molekulare Virologie  
Universitätsklinikum Erlangen  
Schlossgarten 4  
91054 Erlangen  
Germany  
Phone: +49 9131 8526002  
Fax: +49 9131 8522101  
E-Mail: [walter.doerfler@viro.med.uni-erlangen.de](mailto:walter.doerfler@viro.med.uni-erlangen.de)

## **Wüsten – natürlicher und kultureller Wandel in Raum und Zeit**

*Leopoldina-Meeting*

Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft für Erd- und Völkerkunde zu Stuttgart e. V.

am 2. und 3. Mai 2008 in Stuttgart

Nova Acta Leopoldina N. F. Bd. 108, Nr. 373

Herausgegeben von Wolf Dieter BLÜMEL (Stuttgart)

(2009, 259 Seiten, 141 Abbildungen, 7 Tabellen, 24,95 Euro,

ISBN: 978-3-8047-2680-2)

Wüsten üben eine eigenwillige Faszination aus: Sie sind heute einerseits attraktive, mystifizierte, abenteuerträchtige Reiseziele, andererseits aber noch immer extrem lebensfeindliche Naturräume. Die aktuelle Diskussion um den globalen Klimawandel und seine möglichen Folgen wirft ein Schlaglicht auf die lebensarmen Wüsten der Erde. Im vorliegenden Band werden vielfältige Aspekte des Lebens- und Wirtschaftsraumes „Wüste“ anhand von Beispielen aus der Sahara und der Namib-Wüste in Afrika, der Atacama in Südamerika und den Wüstengebieten Zentralasiens thematisiert, z. B. die Rekonstruktion der klimatischen und landschaftlichen Geschichte, die kulturelle und kulturgeschichtliche Bedeutung, der aktuelle Wandel und die zukünftige Entwicklung dieser Regionen. In diesen Kontext ordnen sich auch archäologische Forschungsbefunde ein und liefern erstaunliche Erkenntnisse über frühere Kulturmilieus. Aber auch Fragen des Wüstentourismus in der Gegenwart werden kritisch beleuchtet. Die Beiträge zum sozialen, wirtschaftlichen und politischen Wandel in wüstenartigen Gebieten zeigen, welche – teils unerwartete – Rolle solchen Grenzräumen der Ökumene zukommt. Es wird deutlich, wie verletzlich diese Naturräume sind, welche – teils verderbliche – Rolle der Mensch in vielen dieser Ökosysteme spielt und welches gesellschaftlich-politische Konfliktpotenzial sich darin verbirgt. Klimatologische Modellierungsansätze werfen einen Blick in die mögliche zukünftige Entwicklung der Wüsten vor dem Hintergrund des aktuellen Klimawandels in einer stark anthropogen beanspruchten und veränderten Welt.



## **DNA – A Molecule in Search of Additional Functions: Recipient of *Pool* Wave Emissions? – A Hypothesis**

Walter DOERFLER ML (Erlangen)

### *Abstract*

Almost the entire nucleotide sequence of human DNA is functionally unaccounted for. The genes as defined by current molecular biology comprise less than 2% of the DNA molecule. It is proposed that DNA encodes additional, hitherto unrecognized functions. In this discussion, the total information inside and outside the universe we live in is termed the *pool* or the sum total of all laws and events. In a hypothetical model, it is suggested that the total of all information emits *pool waves* of an unknown physical nature. They could be related to black energy or have completely different qualities. The designation *pool waves* should not imply any similarity to electromagnetism. DNA might have the capability to interact with the *pool waves* and permit humans – to some genetically determined and yet very limited extent – to partake of *pool* information. *Pool emissions*, might be one of the forces driving evolution from simple oligonucleotides to DNA with ever more complex recipient capacities. It will be a major challenge for researchers in the field to unravel these undetected coding principles in DNA. It is uncertain whether the current trend to search the available DNA sequences with ever more refined computer technology on the basis of our present understanding of biology will detect unknown coding systems. For molecular medicine, research into the genetics of the most common human diseases could profit from the elucidation of presently still ephemeral codes in human DNA.

### *Zusammenfassung*

Die Funktion fast der gesamten Sequenz des menschlichen Genoms von 3,2 Milliarden Nukleotiden ist unbekannt. Gene, die durch die klassische Molekularbiologie definiert sind, umfassen nur etwa 2% des menschlichen Genoms. In der hier aufgestellten Hypothese wird vorgeschlagen, dass der größte Teil der Nukleotidsequenz des menschlichen, möglicherweise vieler Genome ganz andere Funktionen erfüllt. Die Gesamtheit aller Materie, Energien, Informationen und Gesetze innerhalb und außerhalb unseres Universums wird in diesem Beitrag als „Pool“ bezeichnet. Die Existenz dieses „Pools“ ist unstrittig, seine Größe unermesslich. In einem Gedankenmodell wird angenommen, dass dieser „Pool“ beständig Informationswellen unbekannter physikalischer Art aussendet, die mit schwarzer Energie vergleichbar, aber auch von völlig anderer Qualität sein könnten. Die Bezeichnung Informationswellen soll keineswegs implizieren, dass diese Ähnlichkeiten mit elektromagnetischer Energie haben könnten. DNA könnte die Fähigkeit besitzen, je nach genetischem Potential des Individuums und in sehr begrenztem Ausmaß, diese vom „Pool“ beständig ausgesandten Emissionen aufzunehmen, gewissermaßen als Antenne zu fungieren, und die erhaltenen Informationen im Gehirn zu verarbeiten. „Pool-Emissionen“ könnten bei der Evolution von einfachen Oligonukleotiden zu immer komplexeren Formen von DNA-Sequenzen eine Rolle gespielt haben und weiterhin spielen. Unabhängig von der Richtigkeit der hier präsentierten Hypothese stellen neue, bisher unentdeckte Codierungsregeln in der DNA eine große Herausforderung für die molekularbiologische Forschung dar. Diese Prinzipien zu entdecken, erfordert wahrscheinlich mehr als eine immer weiter verfeinerte Computer-unterstützte Analyse der vorhandenen Sequenzen, nämlich grundsätzlich neue Ideen. Davon könnte auch die Grundlagenforschung über die genetischen Ursachen der häufigsten menschlichen Krankheiten profitieren, die durch die bisher bekannten molekulargenetischen Prinzipien nur in beschränktem Umfang aufgeklärt werden konnten.

## 1. The Coding Dilemma

There is a major enigma in our present understanding of human biology: 3.2 billion nucleotide pairs in the human genome code for only 20,000 genes encompassing less than 2 % of the total genetic information. This puzzle cannot be glibly resolved by unacceptable proposals like “junk” or “selfish DNA”. The insertion of each nucleotide in a growing DNA or RNA chain requires the energy equivalent of many ATP molecules. Under the premise of a majority of 98 % of “non-functional” DNA sequences, 98 % of the energy invested for genome replication ahead of each cell division would be expended for the maintenance of an “early error” in evolution. When added up on an evolutionary time scale, the energy thus “wasted” in each round of innumerable cell cycles would surpass any imagination. For all we have learned from the biological principles developed by DARWIN 150 years ago, it is at least highly unlikely that huge quantities of redundant or useless genetic information would have stably persisted for millennia. These unidentified sequences likely have served and are still serving important functions in this biological system and its continuing evolution. Of course, this argument is one of likelihood and missing precedence and far from providing proof.

## 2. To Comprehend the Enormous Complexity in Biology We Need New Paradigms

Basic research in molecular biology in hundreds of laboratories over more than half a century has deciphered many of the fundamental principles in biology. Their application to the solution of practical problems in biology, in agriculture or in medicine, has revealed the enormous complexity of life and huge white patches of unexplored territories in biology. When we are challenged, e.g., to describe the interactions of more than a few intracellular proteins to depict the actual patterns of their combined functions, we quickly reach the limits of our computer-aided interpretations. As scientists we often take refuge to the technical perfections of the power point program of the laptop rather than develop new and meaningful insights into the biology of the complex systems we are studying. Of course, new insights require fortitude, analytical work and patient investigations with more than two years of approved funding.

It might still be possible to find a way out of this apparent dilemma by more detailed biochemical analyses and the evaluation of these results with highly sophisticated algorithms. However, computer-assisted analyses will never be stronger than the deeper understanding behind the biological phenomena under study. Bio-computing does generate enormous amounts of data. Their successful resolution will always depend on researchers with novel and incisive concepts. Of course, we learn from physics that the quest for new paradigms, which emanate from the inability to explain clearly observed phenomena, will always be hypothetical, risky, and hard to defend. Moreover, in case new hypotheses should turn out to be justified, they most likely differ dramatically from reality.

The conceptual postulates of “dark matter” and “black energy”, which the physicists have been pursuing since the late 1980’s, emerged from the need to explain the coherence of galaxies and the acceleration of the expansion of the universe, respectively. The notions of dark matter and black energy are still unproven, and the phenomena that necessitated their invention might yet be explained by conventional physics, a possibility apparently considered unlikely by many who publish in this field.

### **3. The Physicists' Quest for a New Elementary Force**

In the 1930's to 1950's, physicists were among the pioneers to develop the molecular approach to biology. Due to their rigorous education and independence of the formalistic body of knowledge that biologists had to be taught, physicists contributed greatly to the foundations of the new biology. Max DELBRÜCK (1906–1982), who is considered one of the founders of quantitative biology, confided to the author in the late 1970's that he and his physicist colleagues in the 1930's and 1940's were initially attracted to the study of biology mainly because they suspected a new elementary force to lurk behind the perplexing phenomena in biology. In the end, they were almost disappointed to find chemistry and physics to be sufficient in explaining many of the elements of life at a molecular level. And yet, the physicists of the 1930's might have been on to something still to be discovered. At least there is no proof to argue against a sense of reality behind their optimistic speculations of decades ago.

### **4. The Sum Total (*pool*) of All Existing Information Inside and Outside Our Universe**

Current estimates date the beginning of our universe to approximately 13.7 billion years ago. All imaginable and actual information about all the elements in this universe has been there and may linger on similar to the background radiation that is considered the last remnant of the “big bang” which gave birth to our universe. For want of a better term, the sum total of all existing information and of all the possible laws, known or yet unknown, will be designated the *pool*. The *pool* idea, of course, is hypothetical and is meant to express the immense dimensions of all available information. Genetic and biochemical mechanisms allow modern humans to comprehend only a miniscule part of the *pool*. Its magnitude must not discourage us from seeking to pervade and decipher it. In that endeavor, our success rate quickly reaches limits; future generations will stand better chances. Such limitations will not detract from the basic necessity to acknowledge the existence of the sum total of the laws governing events inside and outside this universe and life on planet earth as part of it. At present, we have a basic understanding about the fundamental processes that render life possible. Charles DARWIN has outlined how we can imagine the multitude of biological forms and phenomena to have evolved by variation and natural selection. However, we do not understand the forces that have driven evolution over the past four billion years.

### **5. Salomon's Dream and Cogent Choice**

In one of the most exciting chapters in world literature (First Kings 3, 5–15), the Hebrew bible tells us the story of SALOMON's dream (965–926 before our time). There we witness a literary highlight from one of the world's intellectually advanced cultures of the time. In this dream, God offers SALOMON to choose a gift he wishes to be granted. Commensurate with the ideals of the high culture of this period in Jerusalem, SALOMON foregoes power, wealth or long life, and opts for wisdom. What might the concepts of wisdom have been in SALOMON's time, about three millennia ago? These concepts might not have been too different from our ideas about the *pool* of all available information in the universe. Science and technology in the course of three millennia have shaped the details of our imaginations, but not the inten-

sity of human curiosity. The deeper meaning of this tale, of course, reflects the millennia-old search, the quest for an improved understanding of the *pool* and the human condition utterly dependent on the elements in this *pool*.

## 6. Emissions of Information from the *Pool* – DNA an Antenna?

The concept of a *pool* of all existing information cannot be controversial. This information is present whether humans have the capability to perceive some of it or not. But is this *pool* merely there or does it constantly emit information about its existence and limitless contents? For lack of a term based on solid physical evidence, I propose that there are *waves of pool emissions* that constantly transmit information. The term *waves* should not imply similarities to the electromagnetic force. *Pool emissions* are an unknown form of energy. *Pool waves* are as ephemeral as dark energy and the two might be related to each other. We have no concepts in biology to account for the possibility that black energy or *pool waves* might interact with biologically active macromolecules and in turn with neurons in our central nervous system. For the purpose of this discussion, let us hypothesize that *pool waves* did exist and were interacting with DNA as the recipient antenna molecule.

There are plenty of nucleotide sequences and coding space in human DNA without known function that could be operational as an antenna, as it were, for information reception and flow from the *pool*. There is also great variability in DNA sequence among individuals to account for the differences in the capacity and quality of human perception. The fact that 98 % of human DNA sequences are in search of functions calls for the discovery of yet unknown coding principles. These coding rules might well be completely unrelated to the presently known coding system in DNA. There could be weak surface charge patterns that are distributed over the entire range of DNA or hitherto unrecognized regularities in the spacing of repetitive sequences that might be part of these additional codes. Different DNA conformations might also have a role, and there are undoubtedly more cogent speculations.

In the course of evolution, *pool waves* with a constant flow of information exerting functional pressure on DNA might have served as one of the primary evolutionary forces leading to the gradual increase in receptor complexity, starting from simple oligonucleotides and ranging to present-day DNA. Natural selection could subsequently have acted on DNA molecules thus marked for optimal adaptation. In accord with this hypothetical model, physical forces from the pool could have sought a counterpart in living matter which gradually became able to reflect upon this *pool* of information. At present, the capabilities of human DNA to accomplish this task are limited, but there is no reason to assume that evolution should have reached a finite stage. With pool waves continuing to pound biological matter, evolution will continue to proceed and will generate ever new combinations of DNA sequences with enhanced possibilities to evaluate the information received.

## 7. Medical Implications

On the basis of the known repertoire of molecular biology, molecular medicine has taken great strides, and clinical medicine has advanced on this wave of applied genetic science. However, we seem to run up against a solid wall of limitations when it comes to explain the

genetic basis of complex human diseases. As an example with broad societal impact, let us consider the inheritance patterns of the most common diseases that afflict mankind, hypertension, coronary heart disease, diabetes, obesity, the multitude of tumor diseases, the very common psychiatric ailments, and others. There is no doubt that genetic factors are at the core of these diseases. Highly sophisticated tools of bioinformatics have been used in the analysis of the human genome sequence. Millions of single nucleotide polymorphisms (SNP's) have been mapped and interrogated for correlations to a multitude of frequent human ailments. The search for solid molecular genetic data to understand psychiatric diseases has been frustrated, although epidemiological and clinical genetic studies of the past century have clearly shown genetics to play a role, probably in conjunction with other factors. The literature on the study of epigenetic factors in the causation of human diseases, particularly in tumor or in psychiatric diseases, has grown impressively and may still lead to completely new insights. Nevertheless, the suspicion is dawning that we are missing elementary information in molecular genetics to fully understand human genetics and in trying to explain the origin of the most common human diseases.

### **Note Added in Proof**

The ability to compose music, for example, provides an example to render the hypothetical action of *pool waves* a bit more plausible. Music derives from limitless combinations of acoustic wave lengths that evoke deep human emotions as well as mathematical perceptions. From this enormous pool of possible sound arrangements, composers like MOZART, BEETHOVEN or SCHOSTAKOVIČ, to name but a few, have created the most fantastic sonatas, string quartets, operas and symphonies. When BEETHOVEN invented some of his most advanced compositions, he was completely deaf. We have not the slightest idea whence this creativity might originate. Composers seemingly draw from a limitless source or *pool* of possible combinations, subconsciously uniting internal cerebral and external *pool* emissions.

Prof. Dr. Walter DOERFLER  
Institute for Virology  
Erlangen University  
Schlossgarten 4  
91054 Erlangen  
Germany  
Phone: +49 9131 8526002  
Fax: +49 9131 8522101  
E-Mail: walter.doerfler@viro.med.uni-erlangen.de

Institute of Genetics  
University of Cologne  
50674 Cologne  
Germany

## **Elements – Continents**

### **Approaches to Determinants of Environmental History and their Reifications**

*Leopoldina-Workshop*

Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina in Zusammenarbeit mit dem  
DFG-Graduiertenkolleg Interdisziplinäre Umweltgeschichte

vom 14. bis 15. November 2007 in Göttingen

Nova Acta Leopoldina N. F. Bd. 98, Nr. 360

Herausgegeben von Bernd HERRMANN und Christine DAHLKE (Göttingen)

(2009, 306 Seiten, 63 Abbildungen, 6 Tabellen, 24,95 Euro

ISBN: 978-3-8047-2604-8)

Zu den Gebieten, die zurzeit verstärktes Interesse finden, gehört die Umweltgeschichte. Der Band konzentriert sich auf Grundfragen des umwelthistorischen Diskurses durch Rückbesinnung auf elementare Mensch-Umwelt-Beziehungen durch zwei Annäherungen: „Elemente“ und „Kontinente“. Mit Hilfe dieses kleinen wie großen Maßstabes wurde der Bedeutung am Konkreten und im historischen Aufriss nachgegangen. Unter der Überschrift „Elemente“ werden Feuer, Wasser, Luft und Erde als unmittelbare, für das Leben determinierende Qualitäten, die sich im ökologischen Prozessgeschehen abbilden, analysiert. So wird etwa die Rolle der Feuerökologie am Beispiel mitteleuropäischer und nordamerikanischer Wälder behandelt oder dem Element Wasser und seinen Aggregatzuständen in der Bedeutung für die Geschichte der Niederlande nachgegangen. Hinzu kommt als weitere Dimension die Biosphäre. Die „Kontinente“ Afrika, Amerika, Asien, Australien und Europa bilden das thematische Äquivalent. Insbesondere werden hier die Auswirkungen der naturräumlichen Grundausstattung auf die wirtschaftliche und kulturelle Entwicklung thematisiert. Die Palette der Themen reicht dabei vom „europäischen Sonderweg“ bis zur chinesischen Umweltgeschichte. Darüber hinaus liefern Beiträge von Nachwuchswissenschaftlern einen Einblick in die Bandbreite laufender umwelthistorischer Projekte.

# **The Human Subject and its Freedom in the Context of Genetics and Ethics**

## **Reflections from a Christian Bioethical Perspective**

Ulrik B. NISSEN (Aarhus, Denmark)

### *Abstract*

In recent years the debate on genetics and ethics has attracted considerable attention. One of the debated issues is the relation between the notion of freedom of the moral agent in relation to genetic determinism. In this paper the notion of the freedom of the human subject is discussed both from a Christian ethical perspective and with relation to the implications this holds for contemporary science. The paper argues that much of contemporary science is driven by an inner force which holds a determinate influence on its pursuits. From this perspective science is not necessarily as free as is often claimed. In the concluding part of the paper the question is raised, if there is an alternative. In this section the Christian hope of the overcoming of suffering is seen as an alternative to the elimination of suffering here and now.

### *Zusammenfassung*

In den letzten Jahren hat die Debatte über Genetik und Ethik viel Aufmerksamkeit erregt. Eines der viel diskutierten Themen ist die Vorstellung von der Freiheit der moralischen Kraft im Gegensatz zum genetischen Determinismus. In dieser Abhandlung ist der Gedanke der Freiheit des Menschen sowohl aus Sicht der christlich ethischen Perspektive als auch in Relation zu den Implikationen für die heutige Wissenschaft diskutiert. Hier wird argumentiert, dass ein Großteil der gegenwärtigen Forschung von einer inneren Kraft getrieben wird, die einen bestimmten Einfluss auf die verfolgten Ziele hat. Aus dieser Perspektive ist Wissenschaft nicht notwendigerweise so frei, wie oft behauptet wird. Im abschließenden Teil des Manuskripts wird die Frage aufgeworfen, ob es eine Alternative gibt. Hier wird das christliche Prinzip der Hoffnung, das Leiden zu überwinden, als Alternative zur Eliminierung des Leidens im Diesseits gesehen.

## **1. Genetic Determinism and Freedom of the Will**

In recent years the debate on genetics and ethics has attracted considerable attention. This is not without good reason. The research on the human genome and the various fields and approaches within genetics give rise to many ethical questions. In the present paper the focus will be on one of these questions, namely the relation between the human subject and freedom in the light of this genetic research. This question is widely debated, often in the light of a critical examination of behavioristic claims that human agency is genetically determined as argued by e.g. Edward O. WILSON and Richard DAWKINS (WILSON 1977, DAWKINS 1976). In a recent theological discussion on this view, this is called puppet determinism (PETERS 1997). The main idea is that the human person is like a puppet with strings and in its behavior controlled by its genes. As such it makes no sense to speak of the human person as a moral agent, and certainly not a responsible agent. The human being cannot be held responsible for acts

that it has no control of. Not surprisingly, many ethicists are somewhat hesitant of approving such a view of the human being. Surely, there must be space left for ethics.

In the present paper my main purpose will not be to defend the autonomous human moral agent – contrary to what one could be lead to believe by this introduction. In fact I find it problematic in many ethical approaches that they become to preoccupied defending the autonomy of the human moral agent and forget that, also from an ethical viewpoint, one may argue that the human moral agent is not entirely free – or, rather, freedom is always in relation to something else, meaning that true freedom is always bound (or at least relational). An important distinction may, therefore, be made between freedom (as bound) and autonomy (understood as the individual being its own lawgiver). Therefore, I would argue for the notion of the freedom of the moral agent and contrast this with the idea of the autonomous moral agent. The attentive reader may in this contrast detect a theological agenda, and rightly so. The present paper takes an explicit Christian perspective in this debate on freedom and genetics, as this perspective is often missing in the bioethical debate – at least in a Danish context, which is my own. And in a certain sense for good reasons, one could claim. The reason often mentioned to exclude the Christian perspective is that this is a religious voice that should play no role in a public discourse on bioethics. Demonstrating the problematic nature of this kind of argument will lead too far in the present paper. Therefore, I will restrict myself to the claim that I find such a position too limited and instead point to other works of mine, where I further develop the argument that the universal and specific dimension of Christian ethics should not be separated but rather seen as mutually dependent (NISSEN 2006a, b). It would lead too far to go into details regarding this position here. But it holds important implications for the question about the foundations of and the role of Christian bioethics in a public discourse, as the debate on ethical issues related to scientific discoveries *per se* is a public debate. In this debate I would argue that the specific nature of a Christian bioethics should not be regarded as being in contrast with its more universal implications. For our present purpose, however, it should suffice to make the perspective of the paper clear and demonstrate its fundamental implications. This is the aim of the immediately following part of the paper. Here, I outline the understanding of freedom from a Christian perspective and show some of the implications this holds for the question about the freedom of the will. Having taken this perspective, however, several questions also arise – the most urgent one being, if this makes sense in a scientific context. If the will is not entirely free (from a Christian perspective), what does this entail for a scientific notion of freedom? In the third part of the paper I outline some of the key traits in the scientific understanding of freedom. In the light of that discussion I raise the question, if there is an alternative to the scientific worldview. This is the main question in the fourth – and last – part of the paper. In this section I discuss some of the critical implications that one could claim that my position implies.

## 2. Christian Freedom and the Bondage of the Will

In the Lutheran tradition – which is my own – it is a widely held assumption among many theologians that the human being cannot claim to have a completely free will. This view has different sources, but one of the main sources is the understanding of Martin LUTHER found in one of his most famous writings, *On the Bondage of the Will*. In this work LUTHER is engaged in a critical dialogue with his contemporary, the humanist ERASMUS OF ROTTERDAM, who



claimed the opposite. In contrast to ERASMUS, LUTHER argued that the human being can never claim to have a free will before God. LUTHER distinguished between the human being in relation to other human beings (*coram hominibus*) and the human being in relation to God (*coram Deo*). Whereas the human being has a free will *coram hominibus*, this is not the case *coram Deo*. LUTHER uses the metaphor of the draught animal. The human will is placed between God and the Devil and is led in the direction willed by either one or the other (WA 18, 635). The human being does not have a free will to decide on its own in what direction to move.

This understanding of the will that can never be completely free has had a considerable influence until today. Of course the influence of the German philosopher Immanuel KANT, who was brought up in a pious Lutheran family and who formulated his philosophical theory within an academic context influenced by this tradition, also has had an impact on the Lutheran tradition after the Enlightenment. With relation to the present topic this influence from KANT may be seen in the positive view on the autonomy of the human being, which seems to have become an almost unquestionable standpoint, also in a contemporary Lutheran ethical context. So in this sense, there is a tension within the Lutheran tradition between these competing views.

But even if we admit this influence from KANT, it is important to bear in mind that this is not all there is to be said. In the mid twentieth Century, during World War II, the German Lutheran theologian Dietrich BONHOEFFER formulated one of the most influential Lutheran theologies of the twentieth Century. During the last years of World War II, he wrote his manuscript on his *Ethik*, which was published posthumously in 1949. In this work BONHOEFFER expresses – among other things – a critical stance on the Kantian influence on the Lutheran theology of his contemporaries. For BONHOEFFER this also implies a critical stance on autonomy. Neither the individual, nor separate spheres of life, should be considered as autonomous. Rather, they should be conceived of as being part of the one and only Christ reality.

BONHOEFFER is quite radical in this view. From the very beginning of his *Ethik*, BONHOEFFER is critical of any attempt to establish a moral reality independent of the will and reality of God. For BONHOEFFER this is closely linked to his understanding of Christ. He rejects the view that one can separate worldly and Christian, profane and sacred spaces. The world, the natural, the profane, reason – all are included in God. The worldly has its reality in God's reality in Christ (DBW 6, p. 44). The reality of the world rests in a polemic unity with the reality of Christ. The worldly and the Christian cannot be understood rightly neither in terms of identity nor separation (DBW 6, p. 47). Any attempt to pull the two sides apart leads to a destruction of the contradictory nature of this unity. This is what has happened i.a. in the attempt to establish autonomous spheres of life (DBW 6, p. 251)<sup>1</sup> and the attempt to separate "Christian" and "autonomous" ethics (DBW 6, p. 252). These should not be separated but rather seen as resting in a polemic, contradictory unity in Christ (DBW 6, p. 252).<sup>2</sup> Therefore, BONHOEFFER is concerned about autonomy understood as a universal law that is separated from the reality of Christ.

---

1 DBW 6, p. 251: Jeder Versuch, das eine gegen das andere zu verselbständigen, auszuspielen, sich auf das eine gegen das andere zu berufen, zerstört heillos die Einheit des Lebens. Es kommt dann zu den Abstraktionen einer Vitalitätsethik und einer sogenannten Ethik Jesu, zu jenen bekannten Theorien von den autonomen Lebensbereichen, die nichts mit der Bergpredigt zu tun haben [...].

2 DBW 6, p. 252: Nicht aus der bitteren Resignation über den unheilbaren Riß zwischen Vitalität und Selbstverleugnung, zwischen „weltlich[em]“ und „christlichem“, zwischen „autonomer Ethik“ und „Ethik Jesu“, sondern aus der Freude über die vollzogene Versöhnung der Welt mit Gott, aus dem Frieden des vollbrachten Heilswerkes in Jesus Christus, aus dem alles umfassenden Leben, das Jesus Christus ist, kommt das Handeln der Christen.

However, BONHOEFFER still wants to maintain the individual's ethical responsibility. In order to argue for this concept, BONHOEFFER introduces the notion of "Christonomy" as the source of ethics, in an attempt to move beyond both an "autonomous" ethics and a specific "Christian" ethic (see also NISSEN 2006c).<sup>3</sup> The link between his notion of Christonomy and responsibility can e.g. be found in the section "History and Good", where he reflects on the good. Having explained how he understands the necessary relation between responsibility and the view of reality, he turns to the question, how the good is determined by God. Here BONHOEFFER speaks of "a profound mystery of history". It is precisely the one who acts in freedom who can see their action as flowing from God's guidance. Freedom ultimately rests in its accordance with the will of God. Activity is in this view fundamentally regarded as passivity. This leads BONHOEFFER to an assertion of the "rule of Christ" as which is an expression of freedom being in accordance with the will of God: „[...] der Verantwortliche lebt von der Gnade Gottes, in dessen Hände er sein Handeln legt. Damit erschließt sich ihm ein tiefes Geheimnis der Geschichte überhaupt. Gerade als der in der Freiheit eigenster Verantwortung Handelnde sieht er sein Handeln einmünden in und fließen aus Gottes Führung. Freie Tat, wie sie Geschichte bestimmt, erkennt sich zuletzt als Gottes Tat, reinste Aktivität als Passivität [...] Erst wo die Freiheit sich ursprünglich, wesentlich und zielhaft in Gottes Tat begründet versteht, also dort wo Gott selbst handelnd (durch freie verantwortliche Tat eines Menschen) auf den Plan tritt, kann vom Guten in der Geschichte gesprochen werden. Gott macht die menschliche Tat in der Geschichte gut, nichts sonst. Gott fügt sie ein in seinen verborgenen Plan, auf dem er sein in Christus offenbartes Ziel der Geschichte verfolgt. Dieses Ziel, das mit dem Wort Christusherrschaft umschrieben ist, ist das Gute in der Geschichte und was diesem Ziel nach Gottes Willen dient.“<sup>4</sup>

Important to notice in this passage is how BONHOEFFER also here argues for the human being having its source of freedom outside itself. It is important for BONHOEFFER to endorse the idea of freedom for the human being. But it is a freedom, which is defined differently than in autonomy. It is a freedom, which rests in accordance with God's will, as it is revealed in Jesus Christ.

### 3. Freedom in a Scientific Context

Having looked at a Christian understanding of freedom, the question arises, if this makes sense in a scientific context. Does it make sense in a scientific context to argue for a notion of freedom as bound?

First of all, it is important to bear in mind that we seem to be dealing with completely different concepts of freedom. In the second section of this paper we focused on the Christian notion of freedom from both an ethical and spiritual perspective. When we are dealing with a scientific notion of freedom, we are moving more towards a rational concept, i.e. the freedom of scientific enquiry. So in the shift from the Christian notion of freedom to the scientific concept, we are moving to a discussion of a concept of freedom quite different from the former. Therefore, it is most appropriate to ask the question, if the discussion on the former notion of freedom makes any sense for this scientific concept of freedom, not to say if the former no-

---

3 DBW 6, p. 406: Der Gegensatz von Heteronomie und Autonomie wird hier überwunden zu einer höheren Einheit, die wir als Christonomie bezeichnen können.

4 DBW 6, p. 225.

tion has any relevance at all for the scientific freedom. This is the question that we will now be addressing.

In the discussion of the Christian notion of freedom the point was made that freedom is always bound. This raises the question, if this is also the case for scientific freedom. One starting point for answering this question could be taken in the preface of Hans JONAS' *The Imperative of Responsibility* (JONAS 1984). Here JONAS opens his book by the following diagnostic observation: "Modern technology, informed by an ever-deeper penetration of nature and propelled by the forces of market and politics, has enhanced human power beyond anything known or even dreamed of before. It is a power over matter, over life on earth, and over man himself; and it keeps growing at an accelerating pace. Its unfettered exercise for about two centuries now has raised the material estate of its wielders and main beneficiaries, the industrial 'West,' to heights equally unknown in the history of mankind."<sup>5</sup>

Taking JONAS' observation as a starting point, it appears that we could be inclined to answer affirmatively – indeed, the scientific and technological development seems to be bound by some inherent force, continuously driving it towards its own self-development.

Now, if we accept this view that science and technology is driven by such an implicit force, we of course want to ask, what kind of force we are talking about. Here, I would like to turn to one of the classical sources on a reflection on science and technology, Francis BACON's utopian essay *The New Atlantis* from 1627. In this essay BACON describes a voyage set for China and Japan. However, due to circumstances of the weather, the ship reaches the island of Bensalem. Here they are met with an extraordinary generosity and kindness. For our present purpose the most interesting is the second part of this essay, where BACON describes an encounter with Salomon's House on this island. In Salomon's House the voyagers are met with an almost unlimited account of the wonderful and magnificent things they are able to do scientifically. Here BACON gives a moving account of the magnificence of his visions as a scientist. This vision takes as its premises the so-called end of their foundation, which they say is "[...] the knowledge of causes, and secret motions of things; and the enlarging of the bounds of human empire, to the effecting of all things possible."<sup>6</sup> In this very broad and encompassing formulation of their end, we see BACON's fundamental scientific vision, i.e. the vision of a science that aims at an "[...] enlarging of the bounds of human empire, to the effecting of all things possible." In the following part of the essay, BACON vividly describes all the different ways in which the people of Salomon's House have managed to achieve this.

In Gerald MCKENNY's *To Relieve the Human Condition* (MCKENNY 1997) the reference to BACON is also made to argue that contemporary science is tied to a vision very similar to the one found in BACON. MCKENNY argues that this project as a whole aimed at an instrumental control of nature with the purpose of eliminating the necessity of suffering. MCKENNY further argues that this pursuit and rationale may be seen as a central motivation in contemporary science.<sup>7</sup> In the light of MCKENNY's position, therefore, it could be argued that contemporary science is, indeed, driven by an implicit force which in a certain sense makes it less plausible to speak of the freedom of scientific enquiry. There seems to an implicit notion of the wish continuously – as BACON would say – to enlarge the bounds of human empire. From a Christian point of view, this continuous driving force of contemporary science is a very

---

5 JONAS 1984, p. ix.

6 BACON 1627, p. 19.

7 See also SONG 2002, p. 173ff., for a further discussion of MCKENNY and the Baconian experiment.

specific worldview. It is a worldview which from a Christian viewpoint could be said to imply a challenge to the Christian understanding of freedom. The English theologian and ethicist Robert SONG even speaks of the alternative soteriology imbedded in the Baconian project (SONG 2003, p. 184). Whereas the Christian understanding of freedom could be characterized as a given freedom (where the mere notion of the givenness of this freedom also entails its boundaries), the scientific freedom is rather an appropriated freedom where the freedom lies in its own exercise and in itself carries no inherent boundaries or limits. The only limits that could be implied to the scientific freedom would be of an external nature, i.e. of another kind, typically ideological, cultural, ethical and moral notions. Understood in this sense, it is no wonder, that scientists repeatedly find their work disturbed and troubled by concepts and notions that may very well be seen as a stumbling-block for their work. This very understandable reaction from scientists may then be seen as a very sensible – but maybe not reasonable – opposition to the attempt of imposing conflicting worldviews upon their own.

#### **4. Is There an Alternative?**

Having looked at both a Christian and scientific understanding of freedom, we can now turn to the question what this implies in the context of genetics and ethics. In order to answer this question, I would like to return to the earlier mentioned book by Ted PETERS (1997). In this book the main attempt is to develop what he calls a “promethean determinism”. By promethean determinism PETERS is describing a concept which is contrasted to puppet determinism. Instead of a determinism where the human being is completely controlled by its genes, PETERS argues that through scientific research we can have – and should have – an influence on our genes. Like Prometheus in the ancient myth we can think ahead and influence our future. For PETERS this is closely linked to a theological understanding of the human being as the “created co-creator”, borrowing a concept from Philip HEFNER (1993, pp. 255–275). The human being is not just a determined created being. Rather, the human being is to be active and responsible in the creative process of the continuous evolvement of creation. In this sense the human being is also the “co-creator”. For PETERS this means that he can argue for a Christian notion of freedom and scientific freedom at the same time. The two are not seen in any kind of tension to each other. Consequently, for the various concrete questions within genetic research PETERS is often lead to a position where he finds no significant ethical reasons for being cautious. Rather, from his Christian standpoint he is lead to a positive affirmation of scientific progress, arguing that this is part of the human being’s role as “created co-creator”.

In the present paper it is contemplated if it wouldn’t be appropriate to have a slightly more hesitant and cautious approval of scientific research and progress. The more cautious approach to the ethical approval of scientific research and progress is not to be understood as a critique of science and genetic research. Rather, it is to be seen as a “precautionary principle” similar to the position developed by Hans JONAS. In the previously mentioned book by JONAS, he also develops such a precautionary position, speaking of a “heuristic of fear”. Instead of just seeing hopes and possibilities in new technological and scientific advancements, JONAS argues that we should employ a heuristic of fear. This alternative heuristic would give a more balanced view on new advancements in science and would make us more aware of potential dangers in these new possibilities as well. For JONAS this approach is needed for us to see what it is with the human being that we want to preserve. This follows from our ability better

to perceive the *malum* than the *bonum*. It is in the light of our fears that we learn to understand what we cherish (JONAS 1984, pp. 26–27).

If we take this more precautionary position it could imply that the scientific progress will not be developed quite as rapidly as it could have done otherwise. This of course is not without ethical implications. From a so-called “pro-healing” perspective, it could be argued that this position is highly questionable. The precautionary approach will most likely imply that there are diagnostic possibilities and treatments that will be delayed. Consequently, the precautionary position is challenged by the reality of suffering. The challenging question here will be, how does this position respond to this reality? If it does not respond with the scientific reply and endorses the advancement of scientific progress as quickly as possible, what may then be the answer?

This is where we see a possible return to the Christian notion of freedom as outlined above. From this perspective there is an alternative route to be taken. This is the route not of attempting to eliminate suffering here and now, but rather to interpret suffering differently and set it in another context of meaning. This approach to a Christian interpretation of suffering within the context of bioethics is found in several recent books.<sup>8</sup> I will not go into detail with all these interpretations here, but only draw the attention to SONG’s position. SONG comments on the mainstream assumption that suffering is something which *per se* should be eliminated. He argues that this is too superficial, as there are some kinds of pain which are necessary means to our goals – such as the ambitious athlete’s constant pressing the physical pain barrier or sufferings as a consequence of moral commitments. Rather than just eliminating pain and suffering, we should see these as connected to the reality of human condition: “The idea that suffering is unnecessary prevents us from facing up to the reality of our human condition, which is that suffering for some people for much of the time, and for alle people for some of the time, cannot in practice be removed. The more we hide that truth from ourselves, the more terrifying become those times when we are reminded of it. And so in our desperate effort to escape it, we summon up the powers of medicine and medical science, asking them to be our saviour and rescue us from our bodiliness and finitude.”<sup>9</sup>

In addition to these reflections on the limits and the finitude of the human condition, the temporal dimension of human existence is also central for the reflection on the notion of freedom and the aspirations imbedded in some forms of contemporary science.

For a Christian approach to suffering it is an important notion that human life as we know it is only provisional. There is a dimension to human life beyond life here and now. This also sets suffering in a more relative perspective. In the earlier mentioned Lutheran theologian and ethicist, Dietrich BONHOEFFER, this is apparent in his understanding of the relation between the ultimate and penultimate. BONHOEFFER uses these terms to describe justification by grace as the ultimate reality and the implications this holds for human life in its present, historical context (i.e. the penultimate). For BONHOEFFER this implies that there is a qualitative and temporal dimension to the relation between the ultimate and the penultimate. The qualitative implies that the justification by grace is the all encompassing, ultimate reality that excludes all other ways and methods of approaching God. The temporal dimension implies that the penultimate is always related to the ultimate. The penultimate reality can never be understood separately from the ultimate. In BONHOEFFER it is very important that the relation between

---

<sup>8</sup> HAUERWAS 1990, SONG 2002, MEILAENDER 2005.

<sup>9</sup> SONG 2002, p. 70.

the ultimate and the penultimate is always maintained and that the two are neither identified nor separated.<sup>10</sup>

This distinction in BONHOEFFER can be useful for our understanding of suffering. It may cast a light on suffering setting it in a more relative perspective. Not dismissing the gravity of suffering, this perspective may, however, make it possible to say that the present suffering is not the last there is to be said. There is a hope for a reality where there will be no more suffering. There is a hope for an ultimate, eschatological reality where suffering will no more be a part of the *conditio humana*. The awareness and the reminder of the temporal dimension of the human condition lead to a proclamation of the good news of the salvation in Jesus Christ. This is the good news that one day all suffering will finally be overcome (Rev. 21, 4).

### References

- BACON, F.: *The New Atlantis*. [1627] Hoboken, NJ: Bibliobytes 1997
- BONHOEFFER, D.: Ethik. In: Dietrich Bonhoeffer Werke. [1940–1943]. Herausgegeben von I. TÖDT et al. Zweite, überarbeitete Auflage. Bd. 6 (DBW 6). Gütersloh: Chr. Kaiser Verlag/Gütersloher Verlagshaus 1998
- DAWKINS, R.: *The Selfish Gene*. Oxford: Oxford University Press 1976
- HAUERWAS, S.: *Naming the Silences: God, Medicine, and the Problem of Suffering*. Grand Rapids, MI: Wm. B. Eerdmans 1990
- HEFNER, P.: *The Human Factor: Evolution, Culture, and Religion*. Minneapolis: Fortress Press 1993
- JONAS, H.: *The Imperative of Responsibility: In Search of an Ethics for the Technological Age*. Chicago: University of Chicago Press 1984
- LUTHER, M.: De servo arbitrio. [1525]. In: D. Martin Luthers Werke. Kritische Gesamtausgabe. Bd. 18 (WA 18), 551–787. Weimar: Hermann Böhlaus Nachfolger 1908
- MCKENNY, G. P.: *To Relieve the Human Condition: Bioethics, Technology, and the Body*. Albany: State University of New York Press 1997
- MEILAENDER, G. C.: *Bioethics: A Primer for Christians*. 2. ed. Grand Rapids: Eerdmans 2005
- NISSEN, U. B.: The Christological ontology of reason. *Neue Zeitschrift für Systematische Theologie und Religionsphilosophie* 48, 460–478 (2006a)
- NISSEN, U. B.: Dietrich Bonhoeffer and the ethics of plenitude. *Journal of the Society of Christian Ethics* 26/1, 97–114 (2006b)
- NISSEN, U. B.: Disbelief and christonomy of the world. *Studia Theologica* 60/1, 91–110 (2006c)
- PETERS, T.: *Playing God? Genetic Determinism and Human Freedom*. New York: Routledge 1997
- SONG, R.: *Human Genetics: Fabricating the Future*. London: Darton, Longman & Todd 2002
- SONG, R.: The Human Genome Project as soteriological project. In: DEANE-DRUMMOND, C. (Ed.): *Brave New World? Theology, Ethics and the Human Genome*; pp. 164–184. London, New York: T & T Clark International 2003
- WILSON, E. O.: *Sociobiology: The New Synthesis*. 1. Ed. Cambridge, MA: Belknap/Harvard 1977

Associate Professor Ulrik Becker NISSEN  
Department of Systematic Theology  
Bygning 1443  
Tåsingevej 3  
DK – 8000 Århus C  
Denmark  
Phone: +45 89422279  
Fax: +45 86130490  
E-Mail: ubn@teo.au.dk

---

<sup>10</sup> DBW 6, 137ff.

## **Die Grenzen der ethischen Reflexion bei den neueren Entwicklungen der Molekularbiologie**

Alberto BONDOLFI (Genève)

### *Zusammenfassung*

Der Beitrag verwendet die Diskussion um die Mehrschichtigkeit der Anwendungen der Gentechnologie für eine Untersuchung der Grenzen der Ethik. Er thematisiert zugleich die inneren Grenzen der ethischen Reflexion als eines der klassischen Themen jeglicher Ethik. Am Beispiel der Präimplantationsdiagnostik werden jene Faktoren analysiert, die der Ethik ihre Grenzen aufzuzeigen. In einem weiteren Schwerpunkt wird dem Prozess der Überleitung ethischer Überlegungen in Recht nachgegangen. Schließlich wird die Frage behandelt, ob die Ethik auch die Aufgabe haben könnte, andere Disziplinen an ihre Grenzen zu erinnern.

### *Abstract*

The paper uses the discussion about the multilayered nature of the applications of genetic engineering for an examination of the boundaries of ethics. It also discusses the internal limits of ethical reflection as one of the traditional topics of any ethics. With reference to the example of preimplantation diagnostics, the factors defining the limits of ethics are analyzed. The paper also focuses on the process of translating ethical considerations in legislative acts. Finally, the question of whether ethics could also have tasks of reminding other disciplines of their limits is also addressed.

Gerne habe ich die Einladung des Kollegen und Freundes Hans ULRICH angenommen, da sie mir erlaubt, eine Art Bilanz der vielschichtigen Diskussion um die Molekularbiologie im Bereich der Humanmedizin und um ihre Anwendungen zu unternehmen. Die Ethik hat diese Diskussion von Anfang an begleitet, und dabei haben die Vertreterinnen und Vertreter dieses philosophischen und theologischen Fachs ohne weiteres die Erfahrung der Grenzen ihrer Disziplin machen können.

Ethikerinnen und Ethiker sind sowohl auf eigene persönliche Grenzen als auch auf die Grenzen des Fachs gestoßen, und an dieser Stelle soll von beiden Dimensionen dieser Erfahrung die Rede sein. Ich werde meine Überlegungen folgendermaßen strukturieren: In einem ersten Moment werde ich versuchen, die Mehrschichtigkeit der Anwendungen der Gentechnologie als eine Herausforderung für die Ethik und als einen Hinweis auf ihre Grenzen darzustellen. Da die Diskussion um die Gentechnologie bereits einige Jahre alt ist, eignet sich diese Thematik für eine erste Exploration der Grenzen der Ethik aufgrund der Vielschichtigkeit einer Technologie. In einer zweiten Etappe geht es darum, die inneren Grenzen der ethischen Reflexion als solche zu thematisieren. Eine solche Betrachtung scheint mir notwendig, da sie auch ein klassisches Thema jeglicher Ethik darstellt, obwohl es heute nicht sehr bekannt

erscheint. Anhand des Beispiels der Präimplantationsdiagnostik wird darüber nachgedacht, welche Faktoren einer neuen Errungenschaft geeignet sind und aus welchen Gründen, der Ethik ihre Grenzen aufzuzeigen. Schließlich werde ich einige Grenzen bei der Überleitung von der Ethik zum Recht erwähnen, da an dieser Stelle viele Missverständnisse in den heutigen Auseinandersetzungen sich anmelden. Die Komplexität der Verrechtlichungsprozesse ist auch ein geeignetes Instrument, um die Ethik an ihre eigenen Grenzen zu erinnern. Am Schluss meiner Überlegungen werde ich mir auch die Frage stellen müssen, ob die Ethik, vor allem, aber nicht ausschließlich die theologisch gefärbte Ethik, auch die Aufgabe haben könnte, andere Disziplinen an ihre eigenen Grenzen zu erinnern.

## **1. Vielschichtige Technologien verlangen ebenso vielschichtige ethische Überlegungen: das Beispiel der Gentechnologie**

Gentechnologie ist keine Episode in der Geschichte der Naturwissenschaften, sondern eine qualitative Revolution oder eine paradigmatische Wende im Verständnis und im Umgang mit dem Lebendigen überhaupt. Deswegen ist eine Gesamtbewertung der Gentechnologie, auch und gerade in unseren Tagen, d. h. nachdem lange darüber diskutiert und polemisiert worden ist, psychologisch schwierig und ethisch weiterhin komplex. Was impliziert die Tatsache, dass wir Gentechnologie als paradigmatische Wende betrachten, und zwar in ethischer Hinsicht?

Das Phänomen „Leben“ wird, wenn man es in der Perspektive der gentechnologischen Errungenschaften betrachtet, in einen neuen Kontext eingebettet und neu ausgelegt. Es entsteht eine neue *Weltanschauung*. Man soll aber diese neue Lebenswahrnehmung nicht vorschnell mit einer umfassenden philosophischen Weltanschauung verwechseln. Die gentechnologische Revolution stellt weder eine theistische noch eine atheistische Weltdeutung in Frage, da sie eine Phänomenerklärung und keine letzte Deutung sein will. Diejenigen, welche die beiden Ebenen des Diskurses über das Phänomen „Leben“ hier vermischen, begehen den gleichen naturalistischen Fehler, der von dogmatischen Kreationisten vor einem Jahrhundert gegenüber der Evolutionslehre DARWINS gemacht worden ist.

Diese Grundeinschätzung der Gentechnologie als naturwissenschaftliche Revolution impliziert auch nicht, dass wir für die Aneignung dieser neuen „Weltanschauung“ ganz neue moralische Werte und Normen brauchen. Die bisher geltenden Prinzipien, Werte und Normen müssen freilich in diesem neuen Kontext der Gentechnologie neu verstanden und angewandt werden. Sie werden aber durch diese technologische Errungenschaft kaum radikal außer Spiel gesetzt.

Bei der Formulierung konkreter Normen in diesem Bereich muss man auch der Tatsache Rechnung tragen, dass Gentechnologie eine sogenannte *transversale Technologie* ist. Sie beruht in der Tat auf gleichen Grundintuitionen, welche aber in recht verschiedenen Kontexten ihre Anwendung, und zwar mit recht verschiedenen Konsequenzen, finden. So verschieden die Anwendungen der Gentechnologie sind, so verschieden sind auch die Bedenken, die Entscheidungskriterien und die rechtlichen Regulierungen.

An dieser Stelle hat sich eine erste methodologische Grenze der ethischen Reflexion, sowohl philosophischer als auch theologischer Provenienz, manifestiert. Vor allem während der 1990er Jahre hat viele ethische Literatur Gentechnologie als solche in ihrer Allgemeinheit thematisiert, in der Annahme, dass eine solche prinzipielle Erörterung einer neuen Technologie an sich allein genügen würde, um den Herausforderungen derselben gewachsen zu sein.



Nach einigen Jahren, charakterisiert durch Positionskriege gegenseitiger Fronten, hat man anerkennen müssen, dass ein prinzipieller Appell an die Ethik allein zur konkreten Bewältigung einiger konkreter Schwierigkeiten nicht ausreicht. Noch schlimmer: Der Appell an die Ethik, für eigene Positionen beansprucht, vertieft sogar noch die bestehenden Fronten und hindert sogar die Suche nach praktikablen Lösungen.

Betrachten wir nur summarisch einige Praktiken, welche heute bereits gentechnologische Mittel anwenden, und wir werden diese Grenzen einer allgemeinen und rein emotionalen Berufung auf die Ethik feststellen müssen:

- *Gentechnologie im Bereich der Pflanzenwelt*: Neue Pflanzensorten, genmutierte Samen, neue genmutierte Früchte sind seit einigen Jahren im Prinzip herstellbar. Hier meldet sich, in normativer Hinsicht, die Notwendigkeit, die Problematik der Freisetzung solcher genmutierter Produkte einzuschätzen und entsprechend zu regulieren. Beim Konsum solcher Produkte meldet sich zu Recht die Notwendigkeit der Publikumsinformation (Deklarationspflicht) und der Konsumfreiheit. Im ersten Fall hilft die Heranziehung allgemeiner ethischer Kriterien allein, die Risiken einzuschätzen. Für die Einschätzung dieser Risiken liefert die Ethik keine eigenen Patentrezepte. Es bleibt für uns alle nur der Weg des *Trial and Error*, um dann nachträglich eine gewisse Erfahrung sammeln zu können.
- *Gentechnologie im Bereich der Tierwelt*: Das transgene Tier hat einerseits in der biomedizinischen und in der klinischen Forschung und andererseits in der Nahrungsindustrie Eingang gefunden. Die ethische Literatur hat relativ schnell gelernt, beide Bereiche zu unterscheiden, ihre Dringlichkeit einzuschätzen und spezifische Argumente für beide Anwendungen einzuführen. Anhand eines konkreten Beispiels kann man aber beobachten, wie Technologien ihre nicht immer voraussagbaren Entwicklungen erfahren. So zeigt etwa die Praxis der Xenotransplantation, dass die Problematik der Transgenizität nicht das Haupthindernis dargestellt hat, sondern eher die Gefahr von Zoonosen. Noch bevor die ethische Auseinandersetzung zu diesem Thema ihr vorläufiges Ende gefunden hat, ist diese Errungenschaft in eine Sackgasse geraten, und zwar an einem ungeahnten Ort, nämlich bei der Problematik der Zoonosen, welche kaum mit Gentechnologie zu tun haben. Ethische Reflexion hatte ihre Aufmerksamkeit an einem falschen Ort konzentriert, und heute haben wir auch rechtliche Verbote in diesem Bereich, welche nicht durch ethische Grundbedenken entstanden sind, sondern durch eine relativ einfache Überlegung zur Risikobewältigung.
- *Gentechnologie beim Menschen*: Hier werden verschiedene neue Praktiken eingehend und spezifisch ethisch reflektiert. Man denke an die umfangreiche ethische Literatur zur Pränatal- und zur Präimplantationsdiagnostik, zur prädiktiven Medizin überhaupt. Möglichkeiten der somatischen und Kern-Gentherapie werden sowohl in experimenteller als auch in ethischer Sicht weiterhin reflektiert. Ich werde im zweiten Teil diese Errungenschaften analysieren, um andere Grenzen ethischer Reflexion zu thematisieren.

An dieser Stelle sollte es ausreichen, wenn man einige Schwächen der bisherigen Argumentationsstrategien im ethischen Diskurs erwähnen würde und einige positive Auswege skizziert würden.

### *1.1 Welche Argumentationsstrategien müssen vermieden werden?*

Die Auseinandersetzung um die Gentechnologie ist bis heute insofern unklar geblieben, weil so verschiedene Argumentationsstrategien hier am Werke gewesen sind. Ein bisschen mehr

Klarheit könnte gewonnen werden, indem man sich zumindest über einige prozedurale Fragen einig werden kann.

Zuerst sind hier zwei Extreme zu meiden: Gentechnologie lässt sich kaum mit einem einzigem Kriterium, welches bei jeder Errungenschaft zur Anwendung käme, ethisch bewältigen. Die Anwendungen der Gentechnologie sind in der Tat so verschieden, dass ein einziges Kriterium der Sache kaum gerecht würde. Man soll also miteinander lernen, die verschiedenen Gründe für Bedenken gemeinsam zu erörtern und entsprechend zu hierarchisieren. Andererseits, „da alles mit allem zu tun hat“, ist es dennoch notwendig, eine einigermaßen kontinuierliche Grundeinstellung zu pflegen, welche verschiedene kohärente Konkretionen in diesem Bereich erlaubt. Eine gewisse, wenn auch nicht restlos vollkommene argumentative Kohärenz in den verschiedenen Anwendungsbereichen ist sowohl für die Ethik als auch für das Recht unerlässlich. Dabei muss man auch lernen, zwischen den wenigen Besonderheiten und den gängigen Gemeinsamkeiten mit anderen ethischen Konflikten zu unterscheiden. Es sei an dieser Stelle die Erwähnung einiger Allgemeinplätze erlaubt:

- *Gentechnologie und Profit*: Selbstverständlich wird versucht, mit dieser Technologie auch Profit zu erzielen. Wenn aber im Prinzip eine solche Technologie als nicht unmoralisch zu taxieren ist, dann gelten für kommerzielle Anwendungen die gleichen moralischen Kriterien, welche auch für alle anderen legitimen Wirtschaftstätigkeiten gelten.
- *Gentechnologie und Eugenik*: Mit gentechnologischen Verfahren ist es möglich, eugenische Maßnahmen zu initiieren. Letztere müssen aber als solche moralisch beurteilt werden. Durch die Möglichkeiten der Gentechnologie allein werden eugenische Maßnahmen weder moralisch besser noch schlechter. Darüber hinaus ist *eo ipso* nicht jegliche eugenische Betrachtung an sich unmoralisch. Weitere Unterscheidungen sind hier notwendig, und die bisherige ethische Reflexion hat an dieser Stelle klare Grenzen auch gezeigt.
- *Gentechnologie und Diskriminierungen von Behinderten*: Seit Menschengedenken wurde die Behinderung, sei sie physisch oder psychisch bedingt, von den verschiedensten Gesellschaften als ein schweres Schicksal wahrgenommen. Die Reaktionen waren und sind mannigfaltig, drücken aber gemeinsam ein negatives Urteil aus. Die Palette dieser Reaktionen geht von der brutalsten Ablehnung des Behinderten bis zu seiner liebevollen Annahme, sogar bis zu seiner Sakralisierung. Es ist hier von der Voraussetzung auszugehen, dass, ethisch gesehen, nur diejenigen Reaktionen auf Behinderung als akzeptabel gelten können, welche die Gleichwertigkeit und die gleiche Würde aller Menschen, unabhängig von ihrem biologischen oder sonstigem Status anerkennen. Ist aber die Gentechnologie als Ursache einer neuen Einstellung gegenüber Behinderten einzustufen? Werden hier nicht Ursachen und Wirkungen vorschnell vermischt? Es gilt also, im Diskurs um die ethische Einschätzung der Gentechnologie zwischen *Spreu* und *Weizen* angemessen unterscheiden zu lernen, damit solche Kurzschlüsse im Voraus vermieden werden können.

Wenn die Extremmöglichkeiten ausgeschlossen worden sind, gilt es *dann*, die argumentativen Sackgassen in den verschiedenen Gentechnologiediskursen zu identifizieren und entsprechend zu „demonstrieren“:

- So gelten als methodisch inakzeptabel die sogenannten Autoritätsargumente, wie etwa die biblizistischen oder jene, die sich darauf beschränken, das positive Recht an der Stelle von prinzipiellen Argumenten heranzuziehen. Wenn der Biblizismus kaum mehr krass vertreten wird, muss man zugeben, dass die einfache Heranziehung des positiven Rechts an der

Stelle einer ethischen Argumentation immer noch oft zu finden ist, und dies sowohl beim „liberalen“ als auch beim „rigoristischen“ Flügel der bioethischen Auseinandersetzung.

- Es sind in der ethischen Auseinandersetzung aber auch manchmal Formeln zu finden, die meiner Meinung nach als genügend gelten. Sie ersetzen Argumente durch bestimmte Formeln wie etwa die „Würde der Kreatur“<sup>1</sup>, die nicht geeignet sind, Klarheit an dieser Stelle zu schaffen. Wenn mit solchen Formeln allein operiert wird, dann entstehen oft Sackgassen in der Diskussion und noch mehr in der Umsetzung neuer Errungenschaften.
- Die zirkulären Argumente, welche auf vorausgehende Bewertungen rekurren, statt solche zu suchen und zu begründen, sind auch eine bekannte Gestalt einer Grenze der ethischen Reflexion. Sie sind zum Glück nicht ein spezifisches Privileg der Ethik, sondern eine „gemeinsame Sünde“ oder methodische Schwäche verschiedener Disziplinen.
- Die Argumente, welche mit der Gleichsetzung zwischen dem, was „natürlich“, und dem, was „gut“ ist, operieren oder welche eine Gleichsetzung zwischen der genetischen und der persönlichen Identität eines Organismus postulieren. Beide Verwechslungen sind in der neueren Debatte um die Gentechnologie entweder explizit oder schleichend präsent, und vor allem diesen gilt es eine differenzierte und zugleich argumentative Absage zu erteilen.
- Bei der Vermeidung solcher Argumentationsstrategien entdeckt man bereits, dass prinzipiell Gentechnologie als solche weder gut noch böse ist, und dass man sie kontextuell bewerten soll. Selbstverständlich ist die Sensibilität für verschiedene Kontexte selber *plural* und *kontrovers* in unserer Gesellschaft, und somit erweist sich der Weg zu einer ethischen Bewertung der Gentechnologie als noch sehr lang und steinig.

## *1.2 Welche Argumentationsstrategien muss man hier anwenden?*

Das Heranziehen verschiedener Kontexte, in denen Gentechnologie zur Anwendung kommt, ergibt noch keine Patentlösungen, vermittelt uns aber einige Anwendungskriterien und hilft uns, sie in ethischer Sicht zu bewerten. Unter diesen Kontexten seien folgende Punkte als ethisch signifikant genannt:

- Man kann eine Kritik der Gentechnologie als Kritik eines Lebens mit der Technik überhaupt thematisieren.
- Das Gleiche ist in einem feministischen Kontexte geschehen, und zwar in der Form einer Kritik der Gentechnologie als Kritik an der „Männergewalt“.
- Kritik der Gentechnologie kann auch aus ökologischer Sicht geschehen. Diese Kritik ist grundsätzlich ambivalent: Gentechnologie kann in der Tat als Gefahr oder als Chance für die natürliche Umwelt wahrgenommen werden. Die ethische Literatur hat vielleicht diese Ambivalenz ungenügend thematisiert, und diese ist eine Schwäche oder Grenze, welche hier zu erwähnen ist.
- Kritik der Gentechnologie geschieht auch aus der Sicht der „Dritten Welt“. Auch hier sind Gefährdungen und Chancen für eine größere Gerechtigkeit in der Güterverteilung ganz nahe beieinander, und ethische Reflexion sollte beide Gesichtspunkte in der eigenen Reflexion einbeziehen.

---

<sup>1</sup> Die Formel kann unter Umständen auch nicht dogmatisch verstanden und ausgelegt werden. Zu dieser Diskussion vgl. in chronologischer Reihenfolge TEUTSCH 1995, PRAETORIUS und SALADIN 1996, HOLENSTEIN 1996, BONDOLFI et al. 1997, BALZER et al. 1997.

Alle diese Teilkritiken haben ihre partielle Berechtigung. Sie gehören zu einem ethischen Vorzugsurteil oder zu einer ethischen Konvergenzargumentation. Verabsolutierungen oder überspitzte Sektoralisierungen dieser Kritiken erreichen aber ihr Ziel kaum. Es gilt also alle diese Teilkritiken in einem Gesamtkontext zu bündeln. Hauptkriterium, um alle diese Bewertungen zu verbinden, ist das formale Kriterium der *Berücksichtigung der Folgen*.

Dieses Kriterium ist praktikabel und ethisch akzeptabel, soll aber nicht bis ins Unendliche weiter getrieben werden. In der Tat sind uns, sowohl als Individuen als auch als Kollektiv nicht unbedingt alle Folgen unserer technologischen Interventionen im Voraus bekannt. Deswegen soll eine *Normenethik*, welche an den Folgen orientiert ist, auch durch eine *Tugendethik*, welche Grundeinstellungen pflegt und nicht nur äußere Normen definiert, ergänzt werden.<sup>2</sup> Deswegen müssen nicht nur die *tatsächlichen*, sondern auch die *ideellen* Folgen der Gentechnologie bedacht werden. Und dies gilt in sachlicher Hinsicht:

- die Folgen für das Individuum und seine Biographie;
- die kurz- und langfristigen Folgen für die Familie in ihrer Geschichte;
- die Folgen für das natürliche Habitat;
- die Folgen für die Dritte Welt

sind gebührend zu berücksichtigen und entsprechend zu gestalten. Darüber hinaus gilt es, auch diese Folgen in idealer Hinsicht einzuschätzen, und zwar im Hinblick:

- auf die Konsequenzen einer Bewertung der Gentechnologie für die ethischen Grundeinstellungen überhaupt und
- auf die positiven und negativen Erwartungen der Gentechnologie gegenüber.

Es ist selbstverständlich schwierig, alle diese verschiedenen Dimensionen des Problems auf einmal zu berücksichtigen. Ethische Reflexion, welche alle diese Schichten der Folgen der Einführung einer neuen Technologie berücksichtigen will, stößt relativ rasch an Grenzen, welche zum Teil permanent bleiben werden. Die Bereitschaft, sie zu berücksichtigen und zu integrieren, soll aber zumindest als intellektuelle Grundeinstellung in unserer Psyche präsent bleiben, damit wir differenziert an die Gesamtproblematik herangehen können.

## **2. Grenzen der Ethik in der Beurteilung von medizinischen Anwendungen, die auf molekularbiologische Grundkenntnisse zurückgehen**

Alle diese Hinweise auf mögliche und auf reale Grenzen der ethischen Reflexion in der Beurteilung der Gentechnologie bezogen sich auf die Technologien, welche die Kenntnis der genetischen Struktur auf molekularer Ebene jeglichen Lebewesens berücksichtigen. Nun ist auch der menschliche Körper Gegenstand solcher technischen Interventionen geworden, und somit ist in der Humanmedizin ebenfalls eine epochale Wende eingetreten, welche, so scheint es zumindest beim ersten Blick, die klassischen Vorstellungen der Krankheit und der Genesung problematisiert.

Die Stichworte, welche die Revolution der Molekularbiologie und der Gentechnologie im Bereich der Humanmedizin kennzeichnen, sind die der *prädiktiven* bzw. der *regenerativen Medizin*. Auf welche spezifischen Grenzen stößt hier Medizinethik?

---

<sup>2</sup> Vgl. dazu RIPPE und SCHABER 1998.

Die klassischen Prinzipien der Bioethik – Autonomie, Nichtschädigung bzw. Wohlwollen und Gerechtigkeit –, die bis vor einigen Jahrzehnten die Beziehung Arzt–Patient charakterisiert haben, können bei der prinzipiellen ethischen Beurteilung dieser neuen Wende in der Medizin nicht, zumindest nicht mechanisch, herangezogen werden.

Diese Prinzipien müssen – in diesem spezifischen Kontext – neu ausgelegt werden. Das Fortpflanzungsverhalten des Menschen wurde in langen Zivilisierungsprozessen „humanisiert“ und diese Entwicklung in den Rahmen einer Sexualethik eingebettet. Nun sind wir nicht mehr, dank der vielen Möglichkeiten der Antikonzeptiva, durch die Angst geplagt, ungewollt schwanger zu werden, dafür aber sind wir von einer neuen Pflicht besetzt, nämlich vom Druck, keine genetischen Krankheiten weiterzugeben. Die diagnostischen Möglichkeiten werden immer intensiver, und die Grenzen zwischen Sterilitätsbekämpfung und genetischer Prävention verschmelzen zunehmend.

Die ethische Reflexion, welche diese neuen Möglichkeiten der genetischen Medizin und der Reproduktionsmedizin begleitet hat, hat zugleich eine gewisse Mühe gehabt, diese Errungenschaften prinzipiell und ausnahmslos zu verneinen. Aus diesem Grund hat die Figur des potentiellen Missbrauches, in der Form einer staatlich geordneten Eugenik, die Diskussion dominiert und ist zum allgemeinen Topos geworden. Auch hier erfährt aber Ethik Grenzen, welche wir alle dann teuer bezahlen. In der Tat ist es schwierig, wenn man die *Slippery-Slope*-Argumentation überall und undifferenziert heranzieht, dann zwischen Gebrauch und Missbrauch zu unterscheiden. Alles kann missbraucht werden, und somit ist die einzige Möglichkeit einer ethisch verantworteten Praxis die des absoluten Proibizionismus.

Das kann man am besten am Fall der Präimplantationsdiagnostik in den deutschsprachigen Ländern illustrieren. Es ist an dieser Stelle schwierig, *spezifische* Argumente für ein absolutes Verbot dieses Verfahrens zu finden, außer man verbietet zugleich jegliche Form der vorgeburtlichen Diagnostik. In der Regel wird ein Verbot durch den Hinweis auf mögliche Missbräuche begründet, und somit wird nicht nur die Grenze der Argumentation sichtbar, sondern darüber hinaus auch die Leichtigkeit der Verbotsüberwindung durch den sogenannten „Tourismus“ der medizinischen Praktiken.

An dieser Stelle möchte ich aber auch auf eine andere Schwäche der Missbrauchsargumentation hinweisen. Es geht um eine gewisse Form intellektueller und gesetzgeberischer „Faulheit“, welche bei absolutistischen Positionen sich manifestiert. Wenn man alles ethisch delegitimiert und infolgedessen verbietet, dann wird man sich kaum die Mühe geben, zwischen Gebrauch und Missbrauch zu unterscheiden.

Graduelle Positionen weisen diese Grenzen nicht auf, sind aber in ihrer Artikulation wesentlich mühsamer zu formulieren und zu begründen. Sie sind auch nicht definitiv, sondern prozesshaft, und dies ist auch eine Grenze, der man sich bewusst sein soll.

In letzter Zeit ist im Bereich der Anwendungen der Molekularbiologie in der Humanmedizin eine neue Problematik entstanden, welche ethische Reflexion auf eine sehr radikale Art herausfordert. Es geht hier um die Möglichkeiten der sogenannten *regenerativen Medizin*. Die „natürliche“ Degeneration von Zellen, Geweben und Organen soll durch „biologisches Material“, wenn möglich mit den gleichen genetischen Eigenschaften der Patientin/des Patienten, ersetzt werden. Die Gewinnung dieses biologischen Materials kann auf dem Weg einer Klonierung (*à la* Dolly) eigener Zellen und durch die Schaffung von „embryoiden Lebewesen“ erreicht werden. Der Mensch ist in der Lage, Mikroorganismen herzustellen, welche so in der Natur nicht vorkommen, und noch bevor er sich die Frage stellt, ob er es darf, stellt sich die Frage, wie er solche Organismen definieren soll.

Eine solche vornormative Frage erhält heute zwei verschiedene und gegensätzliche Antworten: Die einen behaupten, dass die therapeutische Absicht und der Kontext, in dem solche Lebewesen entstehen, verbieten, sie als „menschliche Embryonen“ zu definieren, da sie nicht für die menschliche Reproduktion vorgesehen worden sind. Andere hingegen behaupten, dass die Tatsache, dass solche Organismen, wenn auch sehr selten, totipotent sein können, ausreicht, um sie dann als echte menschliche Embryonen zu definieren und sie somit jeglicher Instrumentalisierung zu entziehen.

Wir stehen vor sehr komplexen Fragen, welche in diesem Rahmen nicht weiter vertieft werden können. Ich habe sie erwähnt, nur um auf neue Grenzen der ethischen Reflexion aufmerksam zu machen. Ethik stößt nicht nur auf normative Probleme, sondern auch auf definitorische Dilemmata, welche sie nur in Kooperation mit allen involvierten Disziplinen beantworten kann.

### 3. Zur Rolle der Ethik bei Verrechtlichungsprozessen im Bereich der Molekularbiologie

Das Recht soll bei der Regulierung aller dieser Errungenschaften besonders behutsam eingeführt werden. Dies gilt sowohl für die Gentechnologie im Allgemeinen als auch für die neuen Verfahren der prädiktiven und der regenerativen Medizin. Die konkreten Bedingungen gentechnologischer Forschung verändern sich so rasch, dass ein relativ flexibles Regulierungsinstrument geeigneter ist, als eines, welches „für die Ewigkeit“ gedacht wird.

Zuerst muss man differenziert die Möglichkeiten der Alternative *Selbstregulierung–Fremdgesetzgebung* reflektieren. Diese zwei Regulierungsstrategien enthalten jeweils ambivalente Züge. Der negative Zug der Selbstregulierung ist seit langem bekannt: Niemand ist Richter in eigener Sache, und infolgedessen sind Selbstregulierungen durch Sachverständige der Gentechnologie nicht eine definitive Bewältigung der Konflikte dieses Lebensbereiches.

Selbstregulierungsversuche enthalten aber auch positive Momente. Vor allem ist hier die Präzision der Definitionen und der Bewertung einzelner Sachverhalte zu erwähnen. Man muss also versuchen, Betroffenheit und Kompetenz sowie Beurteilungsneutralität miteinander zu verbinden. Die Möglichkeiten des *Soft-Laws* und der konsultativen Organe (Nationalethikkommission[en]) sind in diesem Bewertungskontext einzubeziehen und einzuschätzen.

Was die eigentlichen staatlichen Gesetze angeht, steht man hier auch vor verschiedenen Alternativen, welche rechtsethisch zu bewerten sind:

- Eine Verrechtlichung „von oben“, durch Verfassungsprinzipien, welche ausgelegt werden und durch Deduktionen zur Anwendung kommen, scheint dem Gegenstand der Gentechnologie und den Regulierungsbedürfnissen nicht besonders angemessen zu sein. Die bisherigen Bemühungen um die Interpretation der Formel „Würde der Kreatur“ und die damit verbundenen Schwierigkeiten zeigen, dass eine solche „Strategie von oben“ sehr zeitraubend ist und nicht unbedingt zu konvergierenden Konsensen führt.
- Eine *Ad-hoc*-Gesetzgebung, wie das etwa in Deutschland mit dem Gentechnologiestrahlenschutzgesetz geschehen ist, scheint ebenso wenig ein gangbarer Weg für eine angemessene Verrechtlichung dieser Materie zu sein. Ein solches Vorgehen würde der Transversalität der Gentechnologie kaum Rechnung tragen und in eine Sackgasse führen. Die deutsche Erfahrung, die nicht per Zufall zu einer raschen Novellierung des besagten Gesetzes geführt hat, bestätigt diese Diagnose.

- Eine Verrechtlichung „von unten“, mit punktuellen Revisionen und Einfügungen bestehender Gesetze scheint, zumindest im Moment, der beste Weg zu sein. Dies ist auch der Weg, welchen der Bundesrat als Alternative zur Genschutzinitiative unterbreitet. Diese Strategie ist also korrekt, sie erfährt aber eine schwierige Popularisierung, weil sie für große Würfe eher ungeeignet ist.
- Eine angemessene Verrechtlichung muss auch der Vielfalt der Rechtsinstrumente und der -sanktionen voll Rechnung tragen. Letztere können von der Bewilligung bis zur strafrechtlichen Verfolgung reichen.
- In allen diesen Belangen ist die Mühe des Details, der Interdisziplinarität und der rationalen politischen Debatte und Durchsetzung unbedingt notwendig. Leider zeigen die verschiedenen Technologien, von denen hier die Rede ist, dass sie auch für machtpolitische Strategien zu missbrauchen sind. Traditionelle politische Kräfte und Parteien erfahren dabei eine neue transversale Zerrissenheit in ihren Reihen, welche sehr schmerzhaft sein kann. Es gilt zu versuchen, auch diese Zerrissenheit mit den Waffen der diskursiven Vernunft zu überwinden, und neue argumentative Konvergenzen zu erproben.

#### **4. Eine kleine theologische Schlussbetrachtung**

Die Aufgabe der theologischen Reflexion an dieser Stelle ist weder naturwissenschaftlicher noch rechtlich-politischer Natur. Die Kräfte, welche versucht haben, die christliche Botschaft so direkt in den Dienst einer naturwissenschaftlichen Hypothese oder einer politischen Strategie zu stellen, sind bereits in den Schoß des Fundamentalismus gefallen.

Aufgabe der theologischen Reflexion ist es auch nicht, eine spezifisch christliche, materiale Ethik der Gentechnologie oder der neueren Medizin vorzulegen. Diese Mühe ist unerlässlich, sie wird aber von der Theologie in Zusammenarbeit sowohl mit der philosophischen Reflexion als auch mit anderen relevanten Reflexionsformen unternommen. Spezifische Aufgabe der Theologie ist vielmehr die Eröffnung eines Sinnhorizontes und die Pflege von Grundeinstellungen gegenüber der Natur, der Technik und des menschlichen Körpers. Dabei muss Theologie einen naiven Optimismus, im Namen einer falsch verstandenen *creatio continua*, meiden. Gentechnologie und molekulare Medizin sind nicht als „Vervollkommnung der Schöpfung“ auszulegen, sondern nur als eine neue Modalität anzusehen, welche nach neuer Verantwortung ruft. Somit ist es auch notwendig, mit der Metapher vom *Gott spielen* selbstkritisch umzugehen.

Theologische Reflexion soll den Pessimismus einer *Tränentalsideologie*, nach der die Verbesserungsmöglichkeiten der Welt so oder so hinfällig sind, meiden. Theologie muss eher eine kritische Distanz zu den einzelnen Errungenschaften der verschiedenen Technologien pflegen, wohlwissend, dass wir auch bei ihrer Pflege *Gerechte und Sünder zugleich* bleiben.

Positiv gewendet, wie soll eine theologisch adäquate Grundeinstellung zur Natur, als Schöpfung verstanden, aussehen? Wenn man die jüdisch-christliche Tradition nach Orientierung zur Bewältigung der ethischen Konflikte, welche die Molekularbiologie und ihre Anwendungen verursacht haben, fragt, bleibt eine eindeutige Antwort aus. Die Bibel und die verschiedenen kirchlichen Traditionen scheinen stumm zu bleiben und dies, weil sie das Problem gar nicht hatten und kannten.

Die Orientierungslosigkeit bedeutet aber nicht, dass die Bücher des Alten und Neuen Testaments das Verhältnis des Menschen zur Welt und des darin enthaltenen Lebens als

ethisch indifferent betrachten. Der allzu bekannte, aber sehr oft missverstandene Satz „Seid fruchtbar und mehret euch, und füllet die Erde und machet sie euch untertan“<sup>3</sup> bildet den Rahmen eines berechtigten Umgangs des Menschen mit der Natur und besonders mit dem Phänomen „Leben“. Ohne hier die zitierte Passage im Detail auslegen zu wollen, seien hier die Resultate der bisherigen Exegese in einer Kurzformel zusammengefasst: Der Mensch sollte mit den komplexen Mechanismen des Lebens, die in der Gentechnologie tangiert werden, wie ein Gärtner mit dem eigenen Garten umgehen. Es handelt sich um ein Verhältnis der Behütung und der Pflege, das in die vorhandene Wirklichkeit interveniert, ohne dabei zu meinen, dass es eine Art Vollmacht ausüben darf.

Die biblische Botschaft gibt uns dabei keine fixfertigen Rezepte, vermittelt uns aber die nötige Grundeinstellung. Wir sind aufgerufen, den Tugenden des Gärtners neue und aktuelle Gesichter zu geben. Je mehr wir die Welt als Gabe erfahren lernen, desto mehr werden wir darin *Aufgaben* sehen, und den Mut haben, sie zu erfüllen.

### Literatur

- BALZER, P., RIPPE, K.-P., und SCHABER, P.: Was heisst Würde der Kreatur? Bern: BUWAL 1997  
BONDOLFI, A., LESCH, W., und PEZZOLI-OLGIATI, D. (Eds.): „Würde der Kreatur“. Essays zu einem kontroversen Thema. Zürich: Pano Verlag 1997  
HOLENSTEIN, E.: Gott und die Würde der Kreatur in der schweizerischen Bundesverfassung. Zürich: Forschungstexte der Professur für Philosophie 1996  
KROLZIK, U.: Die Wirkungsgeschichte von Genesis 1, 28. In: ALTNER, G. (Ed.): Ökologische Theologie. S. 149–163. Stuttgart: Kreuz Verlag 1989  
PRAETORIUS, I., und SALADIN, P.: Die Würde der Kreatur. Hrsg. vom Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL). Bern 1996  
RIPPE, K.-P., und SCHABER, P. (Eds.): Tugendethik. Stuttgart: Reclam Verlag 1998  
TEUTSCH, G. M.: Die „Würde der Kreatur“. Erläuterungen zu einem neuen Verfassungsbegriff am Beispiel des Tieres. Bern: Haupt Verlag 1995

Prof. Dr. Alberto BONDOLFI  
Université de Genève  
Faculté autonome de Théologie Protestante  
Uni Bastions  
5rue De-Candolle  
CH-1211 Genève 4  
Schweiz  
Tel.: +41 22 3797923  
E-Mail: Alberto.Bondolfi@unige.ch

---

3 Gen. 1, 28. Zur Auslegungsgeschichte dieses Passus vgl. KROLZIK 1989.



## The Vaccine Therapy of Cancer with Genetically Modified Tumor Cells: Approaches and Ethical Problems

Georgii P. GEORGIEV (Moscow, Russia)

### *Abstract*

A novel technology for vaccine therapy of tumors is being described in this paper. It is based on the injection of inactivated tumor cells genetically modified to produce the tag7/PGRP protein discovered in our laboratory. Tag7 possesses multiple anti-tumor activities. Clinical trials using autologous vaccines gave promising results. However, further studies of more convenient allogenic vaccines as well as of vaccine combinations more efficient in experiments on animals are delayed because of permission problems. This creates a complicated ethical problem of choosing between help to patients and the risk of using not yet approved methods.

### *Zusammenfassung*

Beschrieben wird eine neuartige Technologie der Impftherapie gegen Tumoren. Sie beruht auf der Injektion deaktivierter Tumorzellen, die genetisch so verändert wurden, dass sie das im Labor des Autors entdeckte Tag7/PGRP-Protein herstellen. Tag7 besitzt multiple Antitumoraktivitäten. Klinische Untersuchungen mit autologen Impfstoffen haben ermutigende Ergebnisse gezeigt. Jedoch verzögern sich weitere Studien mit verbesserten allogenen Impfstoffen sowie mit Impfstoffkombinationen, die sich im Tierversuch als noch wirksamer erwiesen, aus Genehmigungsgründen. Das schafft ein kompliziertes ethisches Problem, sich zwischen der Hilfe für Patienten und der Gefahr der Anwendung von noch nicht genehmigten Methoden entscheiden zu müssen.

During the last decades, the molecular mechanisms of tumor cell transformation and progression became clear in major aspects. This led to the proposal of a number of novel approaches to the fight against cancer and to the creation of new accepted medical preparations used in clinics. However, progress in effectively treating tumors is far behind our understanding of tumor biology.

Among the most successful strategies in tumor therapy is the usage of antibodies and low molecular weight chemicals against certain oncogenes and factors stimulating tumor vascularization. A number of other strategies also exist. Progress is still very slow, and this depends in particular on important ethical problems.

The development of new approaches in cancer therapy leads to a number of ethical questions that I would like to discuss using as an example our recent studies on the application of the *tag7/pgprs* gene for cancer gene therapy.

The *tag7/pgprs* gene was first found in mammals (KUSTIKOVA et al. 1997, KISELEV et al. 1998) and then in insects (KANG et al 1998). The *tag7* gene encodes a protein of 180–190 amino-acids in mammals. The Tag7 protein has homology with the phage lysozyme, but not

with the mammalian lysozyme. It belongs to a small family of proteins. Another member of the family, the TagL/PGRPL protein, is about three times longer and possesses a strong homology with the whole Tag7 protein at its carboxyl-terminal part (KIBARDIN et al 2000). Due to alternative splicing, a number of TagL variants exists in mammalian cells. Apart from them, two other poorly characterized members of the family have been detected in mammals.

Tag7/PGRPS and TAGL/PGRPL are involved in innate immunity against microbial cells and in anti-tumor protection. Antimicrobial activity of PGRPS is realized through its interaction with peptidoglycans of Gram-positive bacterial membranes. This leads to the activation of the Toll signal pathway. PGRPL serves as a cell membrane receptor for another signal pathway. It interacts with peptidoglycans of Gram-negative bacteria (MICHEL et al. 2001, GOTTAR et al. 2002, CHOE et al. 2002).

Antitumor function of Tag7 was discovered in experiments where mouse tumor cells were stably transfected with constructs expressing the *tag7* gene at a relatively low level, as high levels of Tag7 protein were cytotoxic for transfected cells. These cells were transplanted to isogenic mice. While the control cells grew rapidly killing mice in 4 weeks, the modified cells grew much slower, and after about 6 months tumors disappeared. The inhibition of tumor growth followed by dissolution of tumors was also observed if genetically modified cells were mixed with control ones (GEORGIEV et al. 1998, LARIN et al. 2004). Similar results were obtained in nude mice where the T cell response was strongly suppressed. These and similar data obtained on mouse tumor models suggested that Tag7 induces a complex immune response against tumors producing the protein. Interestingly, the infiltration of tumors with NK cells was observed after the transplantation of *tag7*-transfected cells but not of the control cells.

Such an effect may depend on several factors. Apart from possessing a chemokine activity attracting monocytes and other cells, Tag7 induces maturation of dendritic cells (MIRKINA, unpublished). These properties may be responsible for CTL cells attacking primary tumors and metastases. The infiltration of a transfected tumor with Nk cells may reflect an activation of an innate immune response. Finally, the direct cytotoxicity of Tag7 was demonstrated. The complex of Tg7 with heat-shock protein Hsp70 was cytotoxic in several tumor cell lines, while each component taken alone was not. Such a complex was secreted by lymphokine-activated killer (LAK) cells taken on the 6<sup>th</sup> day of lymphocyte incubation with interleukin 2 and is responsible for their cytotoxic effect. The CD8<sup>+</sup> CTL were the cells producing the complex in response to contact with tumor cells. The secreted complex contains one molecule of Tag7 and one molecule of Hsp70, but later the complex is converted into smaller non-dissociable cytotoxic components containing only certain peptides from Tag7 and Hsp70. The maximal cytotoxicity of the complex is reached at a concentration as low as  $10^{-10}$  M. It was also shown that the formation of a cytotoxic complex required the hydrolysis of ATP to ADP (SASHCHENKO et al. 2004).

Another mechanism of tumor cell killing involving *tag7* was described as well. This is a contact killing of HLA-deficient tumor cells by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T lymphocytes. It depends on the interaction of Tag7 and FasL on the surface of lymphocyte and Hsp70 and Fas on the surface of tumor cells, respectively. This was shown both with 6<sup>th</sup> day LAK cells and with the lymphocytes from healthy donors.

Thus, the effect of Tag7 protein on tumor and metastases seems to be a complex one involving activation of innate and acquired immune responses as well as direct cytotoxicity.

Considering the results of experiments with mice, it was decided to start clinical trials of vaccines consisting of inactivated tumor cells transfected with constructs expressing the *tag7* gene. Several strategies have been used. First autologous vaccines were tested. Therefore the

cell lines of tumor cells taken from the patient were obtained, transfected with the *tag7* gene construct, inactivated by X-ray irradiation, frozen and used for vaccination by subcutaneous injections. Such vaccines have a great advantage. The cells used for vaccination are identical to those growing in the patient. It was shown that injection of up to  $10^7$  cells per injection is completely safe, even after many repetitive injections. No complications have been observed. The patients selected for these trials were at the 4<sup>th</sup> stage of tumor progression. They had numerous metastases. Chemotherapy and irradiation could not stop tumor progression. A chance for a complete regression did not exist.

Most of the treatments were performed in cases of melanoma and kidney cancer. In different series about 20 to 30% of the patients did respond. Either partial regress or stabilization took place, and dissolving of metastatic foci was observed.

Two questions arise. The first is, whether it is possible to predict which particular tumors would be sensitive to the treatment. If this goal can be achieved, the number of treated patients can be reduced and the rate of responders will drastically increase.

The second question is how to reduce the complexity of the experimental protocol. The time from the protocol start to the beginning of vaccination has to be reduced. Establishing a cell line from tumor cells obtained under surgery is the most time consuming procedure in the autologous tumor protocol. In order to avoid this step, allogenic tumor cells could be used. In such protocols, a number of melanoma cells were obtained from different patients (MOISEENKO et al. 2005). The cell lines were maintained, the material was transfected with *tag7* constructs, inactivated with X-ray irradiation and then frozen. This material could be used for vaccination. However, particular cell lines may not contain necessary antigens which are present in the tumors of patients to be cured. For this reason, all cell lines were tested for the presence of the known melanoma antigens, and two cell lines containing almost all melanomic antigens and lacking HLA were selected for further work.

The second possible protocol uses allogenic melanoma cells carrying the maximal number of melanoma antigens. The advantage should be that the treatment could start immediately as the cell lines are always ready for use. It is not even necessary to wait for surgery, although it is always useful to remove a major part of the tumor mass. A disadvantage could be the failure of an exact coincidence in the antigenic repertoires of tumor and vaccine.

Up to now, not stably transfected melanoma cell lines are the major problem of the second approach. If the cells produce even a low amount of the Tag7 protein, they will die. Even a low leakage of Tag7 in constructs containing a tetracycline promoter can be cytotoxic. Among the tumor cell lines tested, only K562 cells which do not possess the HLA antigen are able to survive if they are stably transfected.

Therefore a third possible protocol of vaccination could be used. This procedure consists of mixing the surgically removed tumor cells of a patient with a stably transfected HLA-deficient cell line, for example K562. The cell mix is inactivated and used for vaccination.

There have also been several other protocols based on combinations of several vaccine types which gave very promising results in experiments with mice.

Several ethical problems have appeared now. The first problem is that patients in the terminal disease phase could hardly be cured by vaccine therapy. On the other hand, at an earlier disease stage the use of vaccine therapy is risky, as several other established treatment protocols exist, e.g. chemotherapy and X-ray therapy. The solution of this controversy may only be achieved after finding a technique for the prediction of vaccine therapy efficiency. In this case, vaccine therapy can be applied immediately after surgery by which the major part of

the tumor cell mass was removed. The successive immune therapy may be extremely useful in the prophylaxis of metastasis.

The second problem is to obtain permission for clinical trials. The introduction of each new step and modification potentially improving the protocol requires a lot of additional control experiments or paperwork and is very time-consuming. It is also very costly. The controversy between safety and the need to help a patient is obvious. It seems that for trials on such a fatal disease as malignant tumor, in particular melanoma with metastasis, it should be allowed to take some risk, so that after obtaining permission for trials of the main protocol, the potentially useful modifications could be introduced without additional paperwork.

## References

- CHOE, K.-M., WERNER, T., STÖVEN, S., HULTMARK, D., and ANDERSON, K. V.: Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila*. *Science* 296/5566, 359–362 (2002)
- GEORGIEV, G. P., KISELEV, S. L., and LUKANIDIN, E. M.: Genes involved in the control of tumor progression and their possible use for gene therapy. In: *Gene Therapy and Molecular Biology*; pp. 381–398. Gene Therapy Press 1998
- GOTTAR, M., GOBERT, V., MICHEL, T., BELVIN, M., DUYK, G., HOFFMANN, J. A., FERRANDON, D., and ROYET, J.: The *Drosophila* immune response against Gram-negative bacteria is mediated by a peptidoglycan recognition protein. *Nature* 416/6881, 640–644 (2002)
- KANG, D., LIU, G., LUNDSTRÖM, A., GELIUS, E., and STEINER, H.: A peptidoglycan recognition protein in innate immunity conserved from insects to humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95/17, 10078–10082 (1998)
- KIBARDIN, A. V., MIRKINA, I. I., KORNEEVA, E. A., GNUCHEV, N. V., GEORGIEV, G. P., and KISELEV, S. L.: Molecular cloning of a new mouse gene tagL containing a lysozyme-like domain. *Dokl. Biochem.* 372/1–6, 103–105 (2000)
- KISELEV, S. L., KUSTIKOVA, O. S., KOROBKO, E. V., PROKHORTCHOUK, E. B., KABISHEV, A. A., LUKANIDIN, E. M., and GEORGIEV, G. P.: Molecular cloning and characterization of the mouse tag7 gene encoding a novel cytokine. *J. Biol. Chem.* 273/29, 18633–18639 (1998)
- KUSTIKOVA, O. S., KISELEV, S. L., BORODULINA, O. R., SENIN, V. M., AFANAS'eva, A. V., and KABISHEV, A. A.: Cloning of the tag7 gene expressed in metastatic mouse tumors. *Genetika* 32/5, 621–628 (1996)
- LARIN, S. S., KOROBKO, E. V., KUSTIKOVA, O. S., BORODULINA, O. R., RAIKHLIN, N. T., BRISGALOV, I. P., GEORGIEV, G. P., and KISELEV, S. L.: Immunotherapy with autologous tumor cells engineered to secrete Tag7/PGRP, an innate immunity recognition molecule. *J. Gene Med.* 6/7, 798–808 (2004)
- MICHEL, T., REICHHART, J.-M., HOFFMANN, J. A., and ROYET, J.: *Drosophila* Toll is activated by Gram-positive bacteria through a circulating peptidoglycan recognition protein. *Nature* 414/6865, 756–759 (2001)
- MOISEYENKO, V. M., DANILOV, A. O., BALDUEVA, I. A., DANILOVA, A. B., TYUKAVINA, N. V., LARIN, S. S., KISELEV, S. L., ORLOVA, R. V., ANISIMOV, V. V., SEMENOVA, A. I., SHCHEKINA, L. A., GAFTON, G. I., KOCHNEV, V. A., BAR-CHUK, A. S., KANAEV, S. V., HANSON, K. P., and GEORGIEV, G. P.: Phase I/II trial of gene therapy with autologous tumor cells modified with tag7/PGRP-S gene in patients with disseminated solid tumors: miscellaneous tumors. *Ann. Oncol.* 16/1, 162–168 (2005)
- SASHCHENKO, L. P., DUKHANINA, E. A., YASHIN, D. V., SHATALOV, Y. V., ROMANOVA, E. A., KOROBKO, E. V., DEMIN, A. V., LUKYANOVA, T. I., KABANOVA, O. D., KHAIDUKOV, S. V., KISELEV, S. L., GABIBOV, A. G., GNUCHEV, N. V., and GEORGIEV, G. P.: Peptidoglycan recognition protein tag7 forms a cytotoxic complex with heat shock protein 70 in solution and in lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 279/3, 2117–2124 (2004)

Prof. Dr. Georgii P. GEORGIEV  
Institute of Gene Biology  
Russian Academy of Sciences  
34/5 Vavilov Street  
117334 Moscow  
Russia

Phone:  
Fax: +7 095 1354105  
E-Mail: georgiev@igb.ac.ru



**ISSN: 0369-5034**  
**ISBN: 978-3-8047-2605-5**