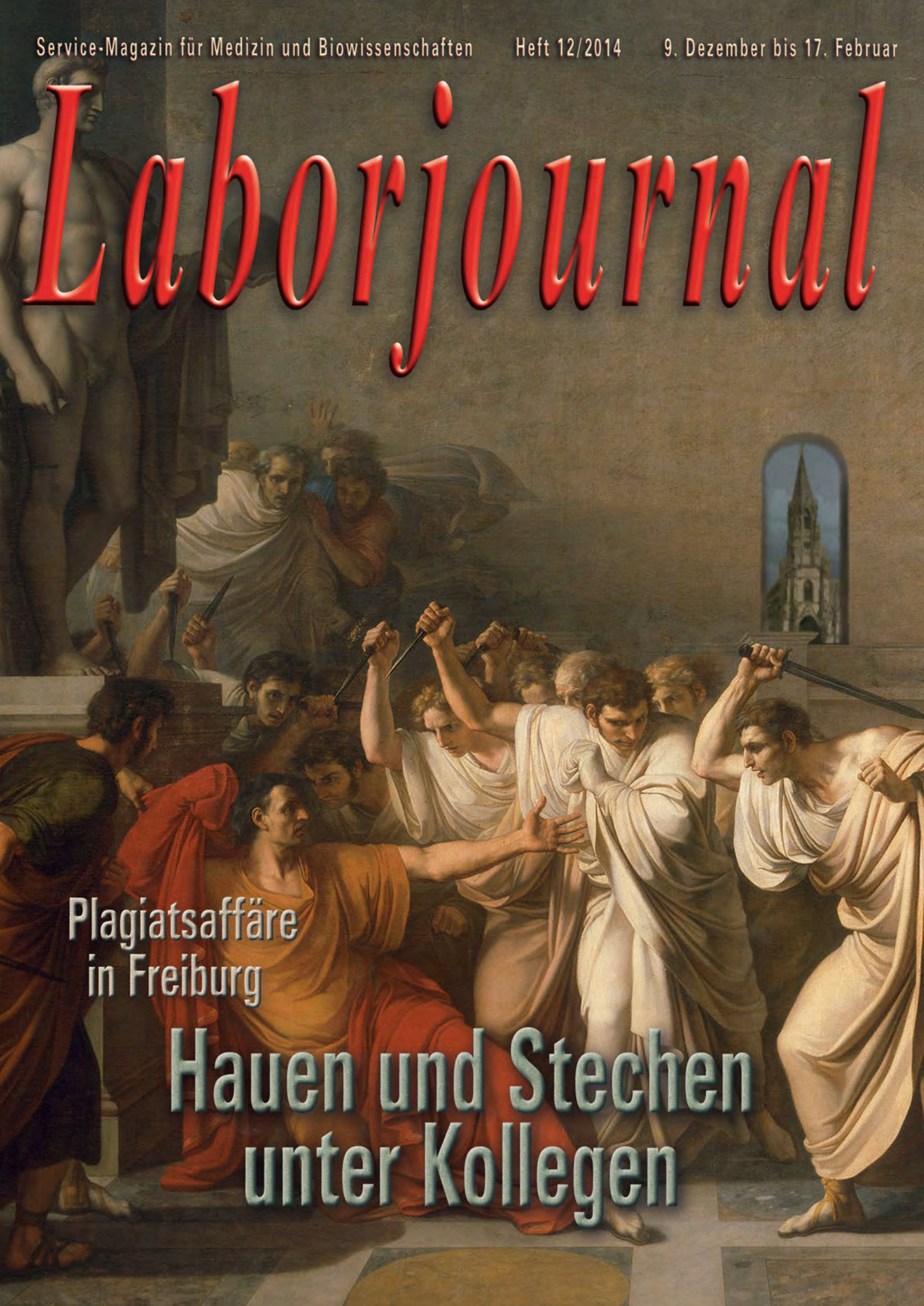


Laborjournal



Plagiatsaffäre
in Freiburg

Hauen und Stechen
unter Kollegen

Laborklassiker (Teil 2): Don Comb und die Restriktionsenzyme – Die NEBiolabs-Story

Schmetterling auf Recyclingpapier

■ Bei New England Biolabs, wo man in diesem Herbst das 40-jährige Bestehen feiert, ist alles ein bisschen anders als bei anderen Biotechfirmen. Ein Rückblick auf den Beginn der Molekularbiologie im Amerika der 1970er Jahre.

Vielleicht wäre alles ganz anders gekommen, hätte James Watson damals weniger abweisend reagiert. Doch der knorrige Doppelhelix-Entschlüssler hielt rein gar nichts von dem Vorschlag, den ihm sein neuer britischer Mitarbeiter Richard Roberts im Sommer 1974 machte: Das Cold Spring Harbor Laboratory, geleitet von Watson, möge doch eine Tochterfirma gründen, um die kurz zuvor entdeckten Restriktionsenzyme ökonomisch zu verwerten. Der als rechthaberisch geltende Nobelpreisträger wischte diesen Einfall unwirsch beiseite: Enzyme verkaufen – was für eine absurde Idee! Damit sei kein Geld zu verdienen. Der 31-jährige Roberts sollte sich die Flausen aus dem Kopf schlagen und stattdessen endlich mit seinem Adenovirus-Projekt zu Potte kommen. Das sei weit interessanter als kommerzielle Hirngespinnste, beschied ihm Watson.

1974: Jim Watson zweifelt

In der Tat sollte das Adenovirus unserem Jungforscher Roberts zwei Dutzend Veröffentlichungen in hochkarätigen Journalen wie *Nature*, *PNAS*, *Cell* und *Nucleic Acids Research* bescheren. Und nicht nur das: Die DNA des Kapsomer-umhüllten Partikels diente ihm fortan als Modell, um in den 1970er Jahren ein bis dahin unbekanntes, aufregendes Prinzip der Biologie zu entschlüsseln: Eukaryotische (und auch manche virale) Gene sind immer wieder von Sequenzen unterbrochen, die nicht in Aminosäuren des späteren Proteins übersetzt werden: den Introns. Roberts sollte derje-

nige sein, der zusammen mit dem US-Amerikaner Phillip Sharp diese Lückenfüller erstmals aufspürte und in der Folge den Mechanismus des Gen-Spleißens aufklärte. Als schließlich die Nobelversammlung des Karolinska-Instituts den Coup der beiden für preiswürdig erachtete – man schrieb inzwischen das Jahr 1993 – hatte das Spleißen der sogenannten „Mosaikgene“ längst Eingang in die Biologiebücher gefunden.

Molekulare Scheren

Doch auch bei den Restriktionsenzymen war eine Menge passiert. Erstmals auf sie gestoßen war Mitte der 1960er Jahre der Schweizer Werner Arber in *E. coli*. Im Mai 1968 gelang es dem Amerikaner Hamilton Smith und seinem Doktoranden Kent Wilcox dann, eines dieser neuartigen Enzyme näher zu charakterisieren: In *Haemophilus influenzae* entdeckten die beiden eine 30 kDa große Endonuklease, die sie „R“ taufte. Die Besonderheit dieses später in „Hind II“ umbenannten Reaktionsbeschleunigers: Er zerschneidet DNA einzig und allein an der spezifischen, palindromischen Erkennungsstelle „GT^Y^^ACAC“. Smith und Wilcox hatten das erste „Typ-II“-Restriktionsenzym

beschrieben. Diese Enzyme benötigen kein ATP und schneiden die DNA in oder sehr nahe an der Erkennungssequenz.

An die fünftausend „molekulare Scheren“ hat man inzwischen entdeckt und als Typ I bis IV katalogisiert. In der Natur fungieren Restriktionsendonukleasen seit Millionen von Jahren als eine Art „Immunsystem“ für Bakterien und Archaeen: Sie erkennen fremde DNA, etwa von eingedrungenen Phagen, und zerstören diese; ihre eigene DNA hingegen schützen sie durch das Anhängen von Methylgruppen.

Der Bioforschung dienen die praktischen Helferlein seit ihrer Entdeckung als Universalwerkzeug zum experimentiergerechten Portionieren von DNA. Jene vom Typ II sind wegen ihrer Spezifität besonders gefragt. Die stürmische Entwicklung der Molekularbiologie und Gentechnik seit den späten 1970er Jahren wäre ohne sie nicht möglich gewesen: Ob Plasmidklonierung, Gentherapie oder genetischer Fingerabdruck – ohne Restriktionsenzyme wären all diese Technologien nie möglich geworden.

Ein gewisser Donald Comb muss den Siegeszug der Restriktionsenzyme vorhergesehen haben. Oder er hatte einfach Glück. Denn während der junge Richards in Cold



Spring Harbor erfolglos versucht, Watson von seiner Geschäftsidee zu überzeugen, ist Comb, 300 Meilen weiter nordöstlich, längst aktiv geworden: Der nicht mehr ganz junge Harvard-Wissenschaftler mit nackten langen Barry-Gibb-Frisur mietet kurzerhand einen Kellerraum an. Direkt unter einer Ballett-Tanzschule in Beverly nahe Boston richtet er sich mit Pipetten, Zentrifugen und



Foto: NE Biolabs

Zentrifugen unter der
Ballett-Tanzschule

Kühlschränken ein. Seine Mission: Die kommerzielle Verwertung von Restriktionsenzymen. Seine erste Produktpalette: Sieben Restriktionsenzyme, eine Ligase, ein paar Nukleinsäuren. Seine Konkurrenz: keine – dank James Watsons ablehnender Haltung.

Wer ist dieser Don Comb?

Geboren 1927, forschte er als Doktorand und Postdoc an der Universität von Michigan in Ann Arbor und übernahm danach eine Juniorprofessur an der Harvard Medical School in Boston. Dort untersuchte er die Nukleinsäuresynthese während der Embryonalentwicklung und wäre heute wohl längst ein ehrwürdiger ergrauter Biologieprofessor im wohlverdienten Ruhestand – wenn alles wie gewohnt gelaufen wäre. Doch damals, Anfang der 1970er Jahre, lief nur wenig nach den üblichen Regeln inmitten von Ölkrise, Watergate-Skandal und „Saturday Night Fever“.

Comb ist Mitte Vierzig, sein Arbeitsvertrag läuft aus, und er brennt für drei Dinge: Er möchte etwas gegen die zunehmende Umweltzerstörung der Erde unternehmen; er ist begeisterter Bioforscher und will es bleiben; und drittens: Er will unabhängig sein – unabhängiger, als es ihm eine staatliche Einrichtung jemals garantieren könnte.

Der Firmengründer gelobt, einen Teil seiner künftigen Einnahmen in Umweltprojekte zu stecken. Was man sich eben so vornimmt – und dann meist doch nicht einhält.

In Deutschland flimmert gerade die erste Folge von Star Trek über die Röhrenbildschirme, in Frankreich gewinnt ein gewisser Eddy Merckx seine vierte Tour de France, und in den USA bringt Hewlett-Packard den ersten Taschenrechner auf den Markt, als in der Ostküsten-Kleinstadt Beverly die Geburtsstunde

von Combs Firma schlägt. Zwei Jahre lang pipettiert und zentrifugiert der Biologe im Keller der Cabot Street 283, ehe 1974 die ersten Präparationen verkaufsfertig sind. Auf dem ersten Katalog, gedruckt auf Recyclingpapier, prangt groß der neue Firmenname: New England Biolabs. Auf dem „B“ von „Biolabs“ sitzt ein stilisierter Schmetterling, der fortan als Logo fungiert.

Labor im Keller unter der Tanzschule

Damit ist Comb der Erste weltweit, der Restriktionsendonukleasen kommerziell verfügbar macht. Unter der Bestellnummer #101 kann der Kunde beispielsweise 500 Units EcoRI ordern, Kostenpunkt 40 Dollar. Heute berechnet NE Biolabs für die gleiche Menge, inzwischen aus rekombinanter Quelle stammend, weniger als 3 Dollar.

Doch nicht nur die erwähnten sieben Restriktionsenzyme bietet er an. Auf den zwanzig Katalogseiten stehen auch *Escherichia*- und *Haemophilus*-Zellen für jene, die Geld sparen und sich ihre Endonuklease selbst isolieren möchten.

Combs erste Angestellte ist Ehefrau Marilyn. Mitarbeiter Nummer drei ist ein hagerer Mikrobiologe, der als junger Postdoc vom Massachusetts Institute of Technology (MIT) kommt und die nächsten 34 Jahre bei NE Biolabs bleiben wird: Ira Schildkraut entwickelt 1979 den ersten kommerziellen Sequenzierungs-Kit, bekommt ein halbes dutzend Endonuklease-Patente erteilt und publiziert mit seinen späteren NEB-Kollegen fast 50 Fachartikel, unter anderem in *PNAS* und *Nature*. Selbst als Ruheständler kann der langjährige Forschungsdirektor Schildkraut nicht von der Forschung lassen und werkelt bis heute, mit weit über 70 Jahren, als „Emeritus Scientist“ bei NE Biolabs. Auch sein Sohn ist längst an Bord.

Wachstum, Umzug, Expansion

Über all die Jahre wächst die Firma laut eigenen Angaben organisch, sprich: aus eigener Kraft. Auch die Produktpalette wächst beständig – und im Keller wird es zu eng: 1980 zieht man an den Stadtrand von Beverly in einen ökologisch angehauchten Neubau, der so überhaupt nicht den energieverwundersamen Gepflogenheiten Amerikas entspricht. Im gleichen Jahr bietet NE Biolabs – und nicht Genentech, wie oftmals dargestellt – das weltweit erste rekombinante Enzym an: die DNA Polymerase I aus *E. coli*. Zehn Jahre später folgt das erste hitzestabile Enzym mit Proofreading-Aktivität. Die Wissenschaftler in Beverly erarbeiten „Designer“-Produkte, etwa die High-Fidelity-Restriktionsenzyme mit ▶

Dann läuft's!



Regelmäßige Wartung durch unsere qualifizierten und zertifizierten Servicetechniker sorgt für einen störungsfreien Betrieb und genaue Messergebnisse – damit es läuft. Von Anfang an.

BioTek®

BioTek Instruments GmbH
Infoline +49 7136 968-0
info@biotek.de · www.biotek.de

WIRTSCHAFT

verringerten Star-Aktivität; und sie entwickeln „Nicking-Enzyme“, die nur einen der beiden DNA-Stränge schneiden.

Von 1995 an helfen NEB-Wissenschaftler mit, das Humangenomprojekt zu beschleunigen. Die Amerikaner vermögen nämlich die sogenannten „8-Base-Cutters“ zu liefern: Restriktionsenzyme wie NotI, deren Erkennungssequenz acht Basen lang ist und die bei der Genomkartierung unschätzbare Dienste leisten. Heute mischt Combs Firma auch im Next-Generation-Sequencing mit. Doch auch immer neue Restriktionsendonukleasen gelangen zur Produktreife – 276 sind mittlerweile im Katalog aufgelistet. 250 davon werden in rekombinanten Produktionsstämmen hergestellt.

1999: Antikörper ausgelagert

1999 beschließt Comb, das rapide zunehmende Geschäft mit Antikörpern in eine eigenständig operierende Tochterfirma auszulagern: Die neu gegründete „Cell Signaling Technology“ (CST) bezieht ihren Stammsitz im vier Meilen entfernten Danvers. Geleitet wird sie von Combs Sohn Michael, einem Neurobiologen, der zuvor bei NEBioloabs für die Signaltransduktions-Forschung zuständig war. Inzwischen hat CST mehr als 400 Mitarbeiter und ist damit sogar etwas größer als NEBioloabs.

2005 wird dem Mutterunternehmen trotz des Weggangs der Antikörper-Sparte schon wieder der Platz zu eng. Der nach eigenen Angaben „führende Anbieter mit der weltweit umfangreichsten Palette an Enzymen für die Modifikation von DNA/RNA“ übersiedelt nach Ipswich, Massachusetts und bezieht dort einen glasumhüllten Neubaukomplex auf der grünen Wiese: 13.000 Quadratmeter Labore und Lagerräume auf mehreren Stockwerken.

Erneut achtet Comb, der das Umweltbewusstsein der 1970er Hippiekultur auch als Firmenchef weiterlebt, auf hohe ökologische Standards: Eine biologische Wasseraufbereitungsanlage wird in den ener-

getisch optimierten Neubau integriert, in den Laboren werden die Mitarbeiter zum Recycling angehalten. Um drei mächtige Laubbäume zu erhalten, die dem Bauvorhaben anfangs im Wege stehen, lässt Comb den Plan mehrmals ändern.

Beim Umzug dabei ist auch ein gewisser Richard Roberts: Jener Roberts, der einst damit scheiterte, James Watson zu einer Firmengründung zu überreden. Der hagere Enzymexperte aus Cold Spring Harbor ist inzwischen Forschungschef bei NEBioloabs. Wie das?

Nobelpreisträger als Forschungsleiter

Erstmals hatten sich die Wege von Roberts und Don Comb im Jahr 1975 gekreuzt. Der NEB-Gründer erfährt, dass in Cold Spring Harbor (CSH) eine rasch wachsende Enzymsammlung entsteht: Mehr als drei Viertel aller damaligen Restriktionsenzyme werden in Roberts' Labor entdeckt und charakterisiert. Kurzerhand ernennt Comb den damals noch unbekannten CSH-Forscher zum Chefberater seiner Firma. Der Kontakt bleibt über die Jahre bestehen, die Palette lieferbarer Restriktionsenzyme im NEB-Katalog wächst rasant, und als Richards in Cold Spring Harbor zunehmend in Zwistigkeiten mit seinem Chef Watson gerät und sich in einer Karriere-Sackgasse wähnt, entschließt er sich zum Wechsel in die Industrie: 1992 macht ihm Comb ein Angebot – laut Roberts „zu gut, um es abzulehnen“. Fortan kümmert er sich zusammen mit Ira Schildkraut als Forschungsvorstand um die wissenschaftlichen Belange von NEBioloabs – und

lässt sich vertraglich zusichern, zwei Drittel der Arbeitszeit frei experimentieren zu dürfen.

Schon ein Jahr nach Roberts' Einstellung darf sich Comb auf die Schulter klopfen: Sein neuer Mitarbeiter erhält den Nobelpreis – für die in Cold Spring Harbor gemachte Entdeckung der Mosaikgene. Der umtriebige NEB-Chef hat schlagartig einen weltbekannten Wissenschaftler an Bord.

Loyalität großgeschrieben

In Ipswich, direkt an der nordamerikanischen Atlantikküste gelegen, ist NEBioloabs heute der bedeutendste Arbeitgeber. Das Städtchen hat eine weltberühmte kulinarische Delikatesse zu bieten: Clam Chowder, eine Muschelsuppe dickflüssiger Konsistenz, die beim alljährlich stattfindenden „Ipswich Chowderfest“ in großen Mengen verzehrt wird. Ansonsten können die NEB-Mitarbeiter in ihrer Freizeit aufs Meer hinausschippern, das 1677 erbaute John Whipple House besichtigen oder sich im 30 Meilen entfernten Boston vergnügen.

Die noch immer in Privatbesitz befindliche Firma gilt als familiäres Unternehmen mit niedriger Fluktuation und überdurchschnittlicher Bezahlung. Loyalität werde groß geschrieben, sagt Carsten Lanwert von der deutschen NEB-Niederlassung in Frankfurt/Main. Der aktuelle Vorstandsvorsitzende etwa, Jim Ellard, sei bereits 1984 als Student ins Unternehmen gekommen und löste zwei Jahrzehnte später den zu der Zeit 78-jährigen Gründer Comb an der Spitze ab. Einmal pro Monat müsse sich jeder Wissenschaftler, auch Roberts, ans Servicetelefon setzen und Kundenanfragen beantworten. Mit etwas Glück wird ein Anrufer also von einem leibhaftigen Nobelpreisträger beraten.

Hierzulande ist Marketing- und Salesmanager Lanwert, wie auch sein Chef Thomas Möllenkamp, seit nunmehr fast 15 Jahren bei NEB Germany beschäftigt. Im Frankfurter Industriepark Hoechst arbeiten rund 30 Mitarbeiter für die US-Firma. Geforscht wird dort allerdings nicht; es handelt sich um eine reine Vertriebsfiliale.



Sechs Nobelpreisträger in Ipswich –
und Firmengründer Don Comb mittendrin.

Man kann darüber streiten, ob NEBio-labs eine Biotechfirma mit ungewöhnlich großer Forschungsabteilung oder ein Forschungsinstitut mit ungewöhnlich starkem Kommerzstreben ist. Natürlich diene die Erforschung von DNA- und RNA-modifizierenden Enzymen erst einmal kommerziellen Zwecken; Fakt sei jedoch auch, dass mehr als die Hälfte der Mitarbeiter in Ipswich Wissenschaftler „mit Leib und Seele“ seien, erklärt Lanwert. Streng voneinander getrennt sind die profitorientierten und „Non-profit“-Arbeitsgruppen da natürlich nicht: Wenn irgendwo ein nicht benötigtes Ergebnis anfällt, so interessiert sich anderswo bestimmt ein Kollege brennend dafür.

Firma oder Forschungsinstitut?

Das Selbstverständnis als unabhängiges Forschungsinstitut wird durch die hohe, aus den NEB-Laboren kommende Zahl an Veröffentlichungen bestätigt. Mehr als 700 Publikationen in teils hochrangigen Peer-Review-Journalen sind in den vergangenen vier Jahrzehnten dort entstanden. Die Firmenleitung begrüße es ausdrücklich, so Lanwert, dass die Mitarbeiter regelmäßig Fachartikel publizierten. Etwa zu den molekularen Ursachen parasitischer Fadenwurm-Erkrankungen, die für Pharmakonzerne mangels Profitaussichten uninteressant sind, und deren Erforschung Comb seit 30 Jahren fördert.

Ende der 1980er Jahre sei NEBio-labs ganz vorne mit dabei gewesen, als man herausfand, dass bei manchen Organismen auch Proteine gespleißt werden, erzählt Lanwert weiter. Auch die berühmte, hitzestabile Taq-Polymerase, das spätere Schlüsselenzym der PCR, habe NEBio-labs bereits zu Zeiten angeboten (erstmalig im 1986/87er-Katalog), als das Patent auf deren Nutzung noch gar nicht erteilt gewesen sei. Als dann aber der Roche-Konzern die Rechte an der PCR-Methode mitsamt dem Taq-Patent für 300 Millionen Dollar erwarb und in der Folge rabiat gegen konkurrierende Firmen vorging, nahm Comb das Enzym zeitweise aus dem Sortiment: Kräftezehrenden Rechtsstreitigkeiten wollte er aus dem Weg gehen. Heute stehen den NEBio-labs-Kunden in Form von Proofreading-Polymerasen wie der Vent- oder der Q5-Polymerase ohnehin effektivere Alternativen zur Verfügung.

Bis heute seien im NEB-Katalog einige Enzyme gelistet, für die der Markt und damit die Gewinnaussichten nicht wirklich groß seien, die man aber der Wissenschaftsgemeinde zu Forschungszwecken einfach anbieten wolle. „Das lohnt sich natürlich nicht die Bohne“, so Lanwert, aber seine

Firma sei eben „vom Herzblut gesteuert und nicht von kaufmännischen Gedanken“. Mehrheitlich gehöre NEBio-labs noch immer der Familie Comb, auch wenn es gelegentliche Übernahmeangebote gebe.

Den Status als bloßer Lieferant von Restriktionsenzymen hat man längst hinter sich gelassen, auch wenn die Amerikaner hier noch immer Marktführer sind – vor Thermo Scientific Fermentas (Kanada), Sibenzyme (Russland) und Vivantis Technologies (Malaysia). Der aktuelle NEBio-labs-Katalog zählt 384 Seiten und enthält mehr als 1.600 Produkte – DNA- und RNA-modifizierende Enzyme, Reaktionsmischungen und Reagenzien, DNA-Marker, Proteinexpressions-Kits, kompetente Zellen, Reportersysteme und vieles mehr.



Das Team der deutschen NEBio-labs-Filiale in Frankfurt

Speziell die Methylasen – in der Natur quasi die bakteriellen Gegenstücke der Restriktionsendonukleasen – könnten ein vielversprechendes neues Standbein für die Firma werden. Denn gleichsam als „Beifang“ haben die NEB-Forscher in den vergangenen Jahrzehnten eine ganze Reihe dieser Methylasen charakterisiert – die man künftig in der Epigenetik und bei Genexpressions-Studien nutzen könnte.

Und ganz hinten im NEBio-labs-Katalog stehen die bei Experimentatoren so beliebten Zusatzinformationen, die ihn längst zu einem unentbehrlichen Nachschlagewerk haben werden lassen. Auf rund 80 Seiten erfährt man alles, was man über enzymatische Sternaktivität wissen muss; man findet Vergleichstabellen zum raschen Identifizieren des benötigten Enzyms sowie die Restriktionsschnittstellen in gängigen Vektoren, von Lambda über M13 bis hin zu pBR322. Selbst das Durchschnittsgewicht eines DNA-Basenpaares und die Halbwertszeit von ^{32}P kann man dort nachschlagen.

Zusätzlich stellt NEBio-labs auf seiner Website eine Reihe frei zugänglicher Software-Tools bereit, die beispielsweise „Double Digest Finder“, „NEBcutter“ oder „PCR Selection Tool“ heißen. Und unter <http://rebase.neb.com> betreibt Chefwissenschaftler Roberts zusammen mit seiner Kollegin

Dana Macelis eine umfangreiche Datenbank zu Restriktionsenzymen, Schnittstellen und Methylierungssensitivitäten – schmucklos, aber zweckmäßig.

Mit 87 noch an der Bench

Das Paradebeispiel für die ganz spezielle Firmenphilosophie ist Gründer Comb selbst. Mittlerweile 87 Jahre alt, trifft man den Patriarchen noch immer regelmäßig an der Bench an, wo er wie einst im Keller an der Cabot Street mit Inbrunst seine Experimente plant und ansetzt, unterstützt von ihm zugeordneten technischen Assistenten. Seit einigen Jahren beschäftigen den aktiven Senior besonders die vielen unbekannten, teils noch nicht kultivier-

baren Meeresspezies, die sich in den Ozeanen verbergen. Gerade die zunehmende Schleppnetzfisherei am Meeresgrund stelle eine enorme Gefährdung dar: Viele Arten würden ausgerottet, ehe man sie überhaupt näher kennenlernen könnte.



Im Privatlabor auf der Karibikinsel

Foto: St. Bart's

Um all das, was in den Weltmeeren noch verborgen ist, besser erforschen zu können, hat Comb daher 2001 die Stiftung „Ocean Genome Legacy“ (OGL) gegründet. Diese betreibt an der Northeastern University in Boston eine öffentliche Biobank, „um die genomische Diversität mariner Organismen auch für künftige Generationen zu bewahren“. Zehntausende Proben und DNA-Extrakte lagern dort, darunter die von über 200 international geschützten Arten. Eine weitere allgemeinnützige Stiftung, die NEB Foundation, kümmert sich schon seit 1982 um den Erhalt schützenswerter Landschaften in Südamerika und Westafrika.

Nicht mal im Urlaub kann sich der rüstige Comb von seiner Leidenschaft lösen. Seit 35 Jahren verbringt er seine Ferien im Norden der Karibikinsel Saint Barthélemy. Andere Erholungssuchende brutzeln dort am Pool in der Sonne, shoppen im zollfreien Hafen oder plauschen mit Cocktails in der Hand im mondänen Yacht Club. Nicht so Comb. Der hat sich in seinem Privatappartement, man glaubt es nicht, ein Labor eingerichtet.

WINFRIED KÖPPELLE