

## Verlangsamten. Kälteumgebungen biologischen Experimentierens

Biologische Materialien sind von delikater Natur. Den Organen und Zellen von Laborieren wie Mäusen, Ratten, Kaninchen, der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* oder dem Bakterium *Escherichia coli* entnommen, sind sie besonders empfindlich gegen höhere Temperaturen. Zwar arbeiten Enzyme und andere Wirkstoffe in der Regel optimal in einem schmalen Korridor um die Körpertemperatur herum, aber auch bei diesen Temperaturen degradieren sie rasch im Reagenzglas – innerhalb von Stunden oder sogar von Minuten – und gehen ihrer Aktivität irreversibel verlustig. Der einzige Weg, sie für längere Zeiträume in einem funktionsfähigen Zustand zu erhalten, besteht darin, sie in geeigneter Form kühl zu stellen. Noch bis in die 1950er-Jahre hinein war es üblich, biochemische Versuche im Reagenzglas ausschließlich mit jeweils *ad hoc* frisch präparierten Materialien durchzuführen. Die Wissenschaft der Biochemie brauchte die ganze erste Hälfte des 20. Jahrhunderts, um einerseits stabilisierende Medien zu entwickeln, in denen biologische Makromoleküle längere Präparationszeiten überstanden, und um andererseits Formen der Kühlung zu finden, die es erlaubten, solche Präparate über längere Zeiträume in einem funktionsfähigen Zustand aufzubewahren. Um die dazu gehörige und das ermöglichende, eher unspektakuläre Infrastruktur soll es im Folgenden gehen. Joanna Radin bemerkt dazu in *Life on Ice*: „Eine Infrastruktur aus Kühlschränken, Gefriertruhen und ihren biologischen Inhalten scheint dazu bestimmt zu sein, übersehen zu werden. Jedoch ist es die Fähigkeit, biologische Substanzen bei verschiedenen Graden tiefer Temperatur zu halten, die es ermöglicht hat, diese Substanzen unglaublich vielseitig und beweglich werden zu lassen, sie zu manipulieren, zu verlagern und zu rekombinieren, um damit Fragen zu beantworten, die bei ihrer anfänglichen Extraktion aus dem Körper noch gar nicht gestellt werden konnten.“<sup>1</sup>

### Ein kurzer Blick in die Geschichte

Natürlich hat die Temperatur immer schon eine erhebliche Rolle in biologischen sowie medizinischen und dort vor allem in pathologischen Experimenten gespielt, sodass bestimmte Arbeiten oft nur saisonabhängig durchgeführt werden konnten. Auch temperaturabhängige biologische Rhythmen spielten dabei eine nicht zu unterschätzende Rolle. Ein Temperaturregime und die Notwendigkeit einer Temperaturkontrolle wurden aber immer dringender und geradezu unabweisbar, als sich die Mikrobiologie und das biochemische Experimentieren *in vitro* im letzten Drittel des 19. Jahrhunderts etablierten.<sup>2</sup> Letzteres beruhte, dem Biochemiker Herbert Friedmann zufolge, auf der

1 Joanna Radin: *Life on Ice. A History of New Uses for Cold Blood*, Chicago/London 2017, S. 3. Übersetzung des Autors, wie auch bei den weiteren Zitaten aus englischsprachigen Texten.

2 Vgl. Hans-Jörg Rheinberger: *Cultures of experimentation*. In: Karine Chemla, Evelyn Fox Keller (Hg.): *Cultures without Culturalism. The Making of Scientific Knowledge*, Durham/London 2017, S. 278–295.

Überzeugung, dass „Gewebeextrakte nicht nur Naturprodukte darzustellen in der Lage waren, das heißt im Gewebe synthetisierte Verbindungen, sondern *Naturprozesse*“.<sup>3</sup> Um das zu erreichen, bedurfte es eines umfassenden Apparates an Kühlverfahren und Kühlsystemen mit den dazugehörigen Laborausrüstungen. Es muss verwundern, dass dieser Aspekt biochemischen Experimentierens bislang so wenig historische und epistemologische Aufmerksamkeit erfahren hat, obwohl in den letzten zehn Jahren *Cryopolitics* ins Zentrum des Interesses von Wissenschafts- und Technikforschung im Zusammenhang mit dem biomedizinischen Komplex gerückt ist.<sup>4</sup>

Nicht darum soll es hier aber gehen, sondern um das Rhizom der Kühlungsketten im Labor. In Deutschland gehen die ersten effizienten Kühlaggregate im letzten Drittel des 19. Jahrhunderts auf die Konstruktionstätigkeit des Ingenieurs Carl von Linde (1842–1934) zurück.<sup>5</sup> Linde hatte am Eidgenössischen Polytechnikum in Zürich studiert und arbeitete dann im Kontext der Bayerischen Brauerei-Industrie. Die von ihm gegründete Firma wurde führend bei der Verflüssigung und Verfestigung von Gasen bei niedrigen Temperaturen und weitete ihre Aktivitäten zu Beginn des 20. Jahrhunderts auch auf Amerika aus. Flüssiger Stickstoff und Trockeneis – festes CO<sub>2</sub> – sollten im weiteren Verlauf des Jahrhunderts eine immer wichtigere Rolle bei der Kühlungsversorgung biologischer Laboratorien spielen. Mit ihnen konnte die Serie der Standardtemperaturen im Kältebereich wesentlich erweitert werden. Sie erstreckten sich nun von Eis am Schmelzpunkt von 0° C zu Trockeneis mit einem Sublimationspunkt von -78,48° C bis zu flüssigem Stickstoff mit einem Kochpunkt bei -196° C, die entsprechenden Behälter vorausgesetzt.

### Ein Experiment

Im Folgenden geht es jedoch weder um eine detaillierte Geschichte der historischen Entwicklung von Kühltechnologien noch um eine Geschichte der Einführung von Kühlverfahren in biologische Laboratorien, angefangen von der Errichtung der ersten Physiologie-Paläste im ausgehenden 19. Jahrhundert<sup>6</sup> bis zu gegenwärtigen Super-Tech-

3 Herbert C. Friedmann: From Friedrich Wöhler's urine to Eduard Buchner's alcohol. In: Athel Cornish-Bowden (Hg.): *New Beer in an Old Bottle: Eduard Buchner and the Growth of Biochemical Knowledge*, Valencia 1997, S. 67–122, hier S. 108.

4 Joanna Radin, Emma Kowal (Hg.): *Cryopolitics. Frozen Life in a Melting World*, Cambridge/Mass./London 2017 sowie Lucy van de Wiel: *Freezing Fertility. Oocyte Cryopreservation and the Gender Politics of Aging*, New York 2020.

5 Vgl. dazu Hans-Liudger Dienel: *Linde: History of a Technology Corporation, 1879–2004*, New York 2004 und für den weiteren Kontext Mikael Hård: *Machines Are Frozen Spirit: The Scientification of Refrigeration and Brewing in the 19th Century. A Weberian Interpretation*, Boulder/Colorado 1994.

6 Vgl. dazu Sven Dierig et al.: *The Virtual Laboratory. Essays and Resources on the Experimentalization of Life, 1830–1930*, online unter: <https://www.mpiwg-berlin.mpg.de/research/projects/Dierig02> (Stand 5/2021).

nologien wie der Kryo-Elektronenmikroskopie mit ihren atomaren Strukturbildern von bisher ungekannter Auflösung.<sup>7</sup> Vielmehr soll ein Blick in die molekularbiologische Laboratoriumsumgebung geworfen werden, wie sie sich in den späten siebziger und den achtziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts darbot. Um diese Zeit war das neu errichtete Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin-Dahlem das wohl am besten ausgerüstete molekularbiologische Labor, das man in Berlin finden konnte. Es ist daher gut geeignet, eine Vorstellung von den Kühlerfordernissen und -regimes – wie auch ihren Gegenstücken, den Wärmeverrichtungen – für die experimentelle Manipulation biologischen Materials zu vermitteln, die den ganzen Laborraum einschließlich seiner Architektur und der Distribution von Laborgerät durchzog und durchwirkte.

Die Betrachtung wird sich dabei von innen nach außen vorarbeiten, beginnend mit einem typischen In-vitro-Experiment auf dem Labortisch, gefolgt von der Ausrüstung und ihren Komponenten, die für die Präparierung und die Lagerung der einschlägigen, für das Experiment erforderlichen Materialien benötigt werden. Eingetragen in einem Log-Blatt für ein typisches Labortisch-Experiment sind die Mikroliter-Angaben für das Pipettieren der Ingredienzien des Experiments: Pufferlösungen, Energie-Mixe, Biomoleküle wie Poly-Uridylsäure, Transfer-RNAs, Ribosomen und der für die untersuchten molekularen Bewegungen erforderliche Elongationsfaktor EF-G (G steht für eine Kopplung mit dem Energiespender Guanosintriphosphat). **Abb. 1** In diesen ist auch der Elongationsfaktor EF-Tu involviert, dessen Temperatur-Sensitivität schon in seinen Namen eingeschrieben ist (Tu steht für „temperature-unstable“). Darüber hinaus spielt die Temperaturdifferenz zwischen 0°C und 37°C eine entscheidende Rolle für den Rhythmus des Versuchs.

Das ganze Experiment – die Bindung von Transfer-RNA an Ribosomen-Partikel, mit einer darauffolgenden Translokation der Moleküle auf dem Ribosom – beruht auf einer strikten Alternierung zwischen zwei Schritten, die bei 0°C auf Eis und bei 37°C in einem thermostatierten Wasserbad durchgeführt werden. Die Ingredienzien für die einzelnen Schritte werden jeweils bei 0°C zusammengeführt. Das erfordert eine mit Eis gefüllte Wanne auf dem Labortisch, an dem der Experimentator die Materialien mit einer Pipette aus ebenfalls eisgekühlten kleinen Eppendorf-Küvetten aufnimmt und dem Reaktionsmix zufügt. Alles hat strikt bei 0°C zu erfolgen, wobei die Chargen des biologischen Materials aus einer Gefriertruhe kommen, wo sie bei -20°C gelagert und am Tag des Experiments langsam und vorsichtig bei 0°C flüssig gemacht werden,

7 Für die Entwicklung dieser Technik erhielten Jacques Dubochet, Joachim Frank und Richard Henderson 2017 den Nobelpreis für Chemie. Vgl. dazu Peter Brzezinski: Scientific Background on the Nobel Prize in Chemistry 2017. The Development of Cryo-Electron Microscopy, 4.10.2017, The Nobelprize, <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/advanced-chemistryprize2017-1.pdf> (Stand 5/2021).

I und Mix II bestimmen die jeweilige Mg<sup>++</sup> f.c. 101AS 444 Datum: 22.10.87

Vorinkubation: 1. step					Hauptinkubation: 2. step				Translokation				PM-Reaktion	Bemerkungen
Mix I	p(U)	tRNA type:	H <sub>2</sub> O	ELICOS	Mix II	H <sub>2</sub> O	tRNA type:	GTP/PEP	All-quot	PM	EF-G	PM in Bdg-Puffer		
	3.75 mg/ml	Ala <sup>+</sup> T		100 μl				1 Teil PK	aufteilen			(5)		
per quot	5		5	E 10	20		E 5	10	60 μl	(5)		(5)		
per mal-atz	45		45	E 90	180		E 45	70	60	5	-	-	-	-
									60	5	-	-	-	-
									60	5	-	-	-	-
									60	5	-	-	-	-
									60	-	5	5	5	5
									60	-	5	5	5	5
1	80	52	80	42	180	40	140	20		10				
2														
3	65	45	65	35	240	60	180	140		50	10			
4	65	45	65	35	240	60	180							
5	65	45	65	35	240	60	180							
6	65	45	65	35	240	60	180							
7	65	45	65	35	240	60	180							
8	65	45	65	35	240	60	180							

+ 2 x 50 μl  
 + 2 ml Bdg-Puffer: mM Mg<sup>++</sup>  
 + Nitrocellulosefilter 11306  
 + 2 x 2 ml Bdg-Puffer  
 + Infrarot  
 30° / 37°C  
 10° / 37°C  
 30° / 0°C  
 \* 65 μl 0.3 M NaAc  
 pH 5.5 / MgSO<sub>4</sub> sat  
 + 1 ml K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
 + 1' vortex  
 + 15' / 0°C

1: Experimentalblatt, Experiment 444 vom 22. Oktober 1987.

so dass sie pipettiert werden können. Die Puffer hingegen kommen aus dem Kühlschrank, wo sie bei 4°C verwahrt und vor Beginn des Experiments auf den Gefrierpunkt heruntergekühlt werden.

Schon damit ein solches Experiment in die Wege geleitet werden kann, müssen bereits drei Kälte-Laborgeräte im Einsatz sein: Zunächst ein Kühlschrank mit einer kontrollierten Standardtemperatur von 4°C als Grundausrüstung eines jeden biologischen Labors. Sodann eine große Gefriertruhe mit einer ebenfalls kontrollierten Temperatur von -20°C, in der Regel in einem separaten Raum zusammen mit weiteren größeren Apparaturen der Laborausstattung wie zum Beispiel – ebenfalls gekühlten – Ultrazentrifugen. Drittens schließlich eine Eismaschine, die sich meist in einem Flur möglichst äquidistant zu einer ganzen Anzahl von Laborräumen befindet: Hier werden am Morgen die Eiswanne für die Ständer mit den Reagenzgläsern sowie die Styropor-Behälter für die Ingredienzien des Experiments mit zerstoßenem Eis gefüllt. Soraya de Chadarevian hat in ihrer kleinen *Ode an den Eisbehälter* darauf hingewiesen, dass ein so unauffälliges Gerät wie die Eismaschine keineswegs so simpel ist, wie es auf den ersten Blick den Anschein hat.<sup>8</sup>

8 Soraya de Chadarevian: Ode to the ice bucket. In: Joanna Radin, Emma Kowal (Hg.): Cryopolitics. Frozen Life in a Melting World, Cambridge/Mass./London 2017, S. 83–88.



2: Laborraum im Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin, Abteilung Wittmann, um 1971.

Ohne diese Kälteausrüstung wäre kein kontrolliertes In-vitro-Experiment möglich. Zusätzlich aber ist natürlich ein thermoreguliertes Wasserbad nötig, das für die verschieden langen Inkubationsschritte auf  $37^{\circ}\text{C}$  gehalten wird. Obwohl der Transfer der Reagenzgläser von kalt nach warm und von warm nach kalt keinen instantanen Temperaturwechsel garantiert, wird diese kurze Übergangszeit in der Regel vernachlässigt, denn die Flüssigkeits-Volumina in den Reagenzgläsern sind minimal und übersteigen meist nicht eine Größenordnung von 50 bis 100  $\mu\text{l}$ . Am Ende des Tages werden die nicht mehr benötigten, übriggebliebenen biologischen Materialien, die meist in kleinen Eppendorf-Plastikröhrchen verwahrt werden, in ein Dewar-Gefäß mit flüssigem Stickstoff getaucht. Dieser Vorgang des Schockfrierens verläuft so rasch, dass das Material vitrifiziert und eine Eiskristallbildung und damit eine dadurch bedingte Inaktivierung der Proben vermieden wird. Dann werden sie in die Tiefkühltruhe zurückgelegt. Die prozessierten radioaktiven Proben, die das Experiment geliefert hat, werden in kleinen Glas- oder Plastikgefäßen in die Endlosschleife eines Szintillationszählers gestellt, dessen Probenraum ebenfalls gekühlt ist, und über Nacht gemessen. **➤ Abb. 2** vermittelt einen Eindruck von einem typischen Laborraum, in dem solche Experimente durchgeführt werden. Zu sehen sind eine Reihe kleiner Evaporationsgeräte, ein Tisch für die Durchführung von Experimenten sowie ein Abzug, in den giftige Arbeitsmaterialien gestellt und unter dem sie umgefüllt werden können.

### Hinter den Experimenten: Vernetzte Kälte

Woher kommen diese biologischen Komponenten eines typischen In-vitro-Experiments? Um diese Frage zu beantworten, sind wiederum Kreisläufe von Kühlung und

Erwärmung mit den entsprechenden technischen und architektonischen Einrichtungen zu durchmessen, denen sich diese Proben verdanken. Es beginnt mit einem Raum, in dem die Bakterien, mit denen das ganze Labor arbeitet, gepflegt und aufbewahrt werden. Im vorliegenden Fall sind das ausschließlich verschiedene Stämme und Mutanten von *Escherichia-coli*-Bakterien. Die Bakterien werden auf Agarplatten in Petrischalen von etwa 10 cm Durchmesser gehalten und, auf dem Deckel beschriftet, übereinander geschichtet in einem Kühlschrank bei 4° C gehalten. Bei dieser Temperatur überleben die Bakterien problemlos, doch ihr Metabolismus ist minimal und sie vermehren sich nicht. Aber unbegrenzt können sie auf diese Weise nicht aufbewahrt werden. Von Zeit zu Zeit, in mehr oder weniger zweiwöchigen Intervallen, müssen sie eine neue Runde der Vermehrung und damit Auffrischung durchlaufen. Ein Abstrich wird von der entsprechenden Platte genommen und in ein Fläschchen mit einem vollen Komplement einer Nährlösung gegeben und in einen Inkubator bei 37° C gestellt, wo sich die Bakterien im Halbstundenrhythmus vermehren können. Dann wird eine Probe auf eine neue Petrischale gestrichen. Nachdem sich die Bakterien dort festgesetzt haben, werden sie für eine weitere Runde in den Kühlschrank gestellt.

Ebenfalls von Zeit zu Zeit wird ein anderer, separater Raum betreten, in dem ein 100-Liter-Fermenter installiert ist. Hier kann man die Bakterien im Großmaßstab in einem geeigneten Medium und unter entsprechendem Rühren und guter Durchlüftung bei 37° C wachsen lassen. Dabei muss die optische Dichte verfolgt werden, die ein Maß für die angesammelte Bakterienmasse darstellt, denn die Bakterien müssen geerntet werden, wenn sie sich noch in ihrer logarithmischen Wachstumsphase befinden, einer Phase, in der ihr Proteinsynthese-Apparat in voller Aktion ist. Dann werden die Bakterien aus dem Medium herauszentrifugiert, und die Paste wird in Portionen verpackt, schockgefroren und bei -20° C in einer großen Tiefkühltruhe aufbewahrt.

Um die Protein synthetisierenden Organellen zu isolieren und für Experimente bereitzustellen, müssen die Bakterienzellen aufgebrochen werden. Dazu wird die Bakterienpaste in einem großen Mörser zusammen mit Aluminiumoxid zerrieben. Auch das ist ein Prozess, bei dem Erwärmung unter allen Umständen vermieden werden muss. Er wird deshalb in einem abgetrennten Raum, Kältelabor genannt, ausgeführt. Kältelabore sind Laborräume von normaler Größe, die mit Tischen und Wandgestellen ausgerüstet sind, auf denen wärmeunbeständige Materialien aller Art gelagert werden können und deren Temperatur durch die Zirkulation kalter Luft etwa auf dem Gefrierpunkt gehalten wird. Wenn die Bakterien zerrieben sind, wird die resultierende zähflüssige Paste niedertourig und gekühlt zentrifugiert, um das Aluminiumoxid zusammen mit den Zellwandfragmenten zu sedimentieren. Der Überstand,

der das gesamte Zellplasma enthält, wird dann über Nacht durch eine Lösung mit kontinuierlich steigendem Zuckergehalt zentrifugiert, was in einem anderen gekühlten Raum vonstattengeht, der mit den entsprechenden Hochgeschwindigkeitszentrifugen ausgestattet ist. Der Zucker fungiert hier nicht nur als Gradientenmaterial, sondern hat auch Stabilisierungsfunktion. **Abb. 3** vermittelt einen Eindruck von einem solchen Zentrifugen-Arsenal samt den dazugehörigen massiven Kühlvorrichtungen.

Der resultierende Gradient im Rotor wird dann am Tag darauf – wiederum im Kältelabor – fraktioniert und auf eine Serie von Reagenzgläsern verteilt. Diese werden in den ersten Kälteraum zusammen mit den Protokollen der Gradientenprofile zurückgebracht, wo die Ribosomen enthaltenden Peak-Fractionen vereinigt und noch einmal in großen Zentrifugenröhrchen 20 Stunden lang bei hohen Umdrehungszahlen aus der Sucrose sedimentiert werden. Die resultierenden Niederschläge werden dann am nächsten Tag wiederum im Kältelabor bei 0° C resuspendiert. Nach der Bestimmung der Konzentration der Ribosomen-Partikel werden diese in kleine Eppendorf-Gefäße abgefüllt und in flüssigem Stickstoff für die spätere experimentelle Verwendung schockgefroren.

Die Proteinfaktoren für die Bindung von Transfer-RNA an die Ribosomen und für deren Translokation auf denselben, wie auch für die Beladung von Transfer-RNAs mit den für sie spezifischen Aminosäuren, werden alle nach jeweils speziellen Protokollen präpariert. Dabei geht man vom gleichen Rohmaterial aus und hat die gleichen Kühlungsvorschriften zu beachten. Alle diese Komponenten würden bei Raumtemperatur rasch degradieren und den Nukleasen und Proteasen des Zellsaftes zum Opfer fallen, solange sie nicht vollständig von diesen unerwünschten Zutaten befreit sind. Und nach der Trennung und Reinigung lauern andere Gefahren: Bei Raumtemperatur koagulieren und denaturieren sie rasch in den Konzentrationen, in denen sie aufbewahrt werden müssen, um Experimente der genannten Art in Mikrolitervolumina durchführen zu können. Jeder dieser experimentellen und präparativen Parameter steht nicht für sich allein, sondern ist mit einer Reihe von anderen verknüpft. Sie müssen alle in Balance zueinander gehalten und so gut es geht aufeinander abgestimmt werden. Für die Erhaltung der Aktivität während der langen Präparierungszeiten ist neben stabilisierenden Pufferlösungen die strikte Einhaltung der Temperaturvorschriften entscheidend.

So wie Kälteumgebungen beim Experimentieren mit biologischen Materialien eine entscheidende Rolle spielen, müssen die Kältereimes selbst noch einmal je nach Material und Verfahren differenziert und nuanciert werden. Die Kältestufen reichen von extrem kalt (flüssiger Stickstoff), sehr kalt (Trockeneis), kalt (Kühltruhe) bis zum Schmelzpunkt von Eis und normaler Kühlschrankschranktemperatur. Die verschiedenen Kältestufen sind vorwiegend durch Naturkonstanten – Kochpunkt von flüssigem Stickstoff, Sublimationspunkt von Trockeneis, Schmelzpunkt von Eis –

und von Materialien bestimmt, die im Labor vorrätig gehalten werden können. Dadurch wird auch Vergleichbarkeit über Labor- und Ländergrenzen hinweg gewährleistet. Die Kältestufen selbst werden durch die Erfordernisse der experimentellen Verfahren sowie der Präparation und Lagerung biologischer Makromoleküle definiert und sind das Ergebnis jahrzehntelanger Erfahrung im Umgang mit ihnen. Sie sind

untereinander durch ein engmaschiges Netz von Verrichtungen und Materialtransfers verbunden, das zu einem komplexen Regime der Temperaturmodulation zusammengefügt ist. Dabei spielen die Übergänge jeweils eine entscheidende Rolle.

Darüber hinaus haben die analytischen und präparativen Instrumente, die bei der Isolierung und Reinigung biologischer Materialien zum Einsatz kommen, heute alle eingebaute Kühlvorrichtungen und können deshalb in der Regel auch bei Raumtemperatur aufgestellt und bedient werden. Labore sind aber verzweigte Netze von Räumen, die den jeweiligen Erfordernissen ihrer Nutzung angepasst und von einem ständigen Verkehr durchzogen sind, den die biologischen Komponenten von Experimenten zwischen ihnen zurücklegen müssen. Dieser Verkehr wird in der Regel durch dickwandige Isolierbehälter aus Styropor bewerkstelligt, die mit zerstoßenem Eis gefüllt sind und so etwas wie eine ununterbrochene „Kühlungskette“ bilden.<sup>9</sup> So entsteht – bei Raumtemperatur – ein materielles, distribuiertes, flexibles und leicht modifizierbares Gewirr von Kühlpfaden, das alle Punkte eines voll ausgerüsteten biologischen Labors miteinander verbindet.

### Jenseits des Labors

Nicht selten muss dieses lokale System von Kältekanälen über die Mauern des Labors hinweg ausgeweitet werden. Das Labor, in dem der Verfasser tätig war, unterhielt beispielsweise eine Kollaboration mit der Neutronen-Spallationsquelle am Institut Laue-Langevin in Grenoble. Das Ziel der Zusammenarbeit bestand darin, die mittleren Abstände zwischen den Proteinkomponenten des Bakterienribosoms zu ermitteln und ihre Position relativ zueinander im Partikel zu bestimmen. Um das zu erreichen, muss-



3: Zonal-Zentrifugenparade im Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin, Abteilung Wittmann, um 1980.

<sup>9</sup> De Chadarevian (s. Anm. 8), S. 83.



ten die ribosomalen Proteinkomponenten voneinander getrennt und mit jeweils zwei mit schwerem Wasserstoff markierten Komponenten in einer ansonsten protonierten Matrix rekonstituiert werden. Die mikrobiologische und biochemische Vorarbeit hierzu, einschließlich der nötigen Aktivitätstests der rekonstituierten Partikel, wurde im Berliner Labor mit dem dort vorhandenen Know-how bewerkstelligt. Dann wurden die Partikel mit den je zwei deuterierten Komponenten in flüssigem Stickstoff schockgefroren, in dicke, mit Trockeneis gefüllte Container verpackt und mit dem Auto ins 1.200 Kilometer entfernte Grenoble transportiert. Dort angelangt, taute das Transportteam die Partikel vorsichtig und langsam auf und resuspendierte sie gemäß einem standardisierten Protokoll, bevor sie in einer dafür präparierten Kammer in den Neutronenstrahl eingebracht und die Streudaten der deuterierten Komponenten ermittelt wurden. Aus diesen Daten wurden schließlich, wieder in Berlin, die Abstände mittels eines eigens dafür konstruierten Algorithmus bestimmt. Auch hier musste dafür gesorgt werden, dass die Kältespur bis zu dem Endpunkt nicht verlassen wurde, an dem der Messprozess stattfand.

Angesichts dieses unentwirrbaren Ineinandergreifens von Bakterienkultur und -pflege, Präparation biologischer Makromoleküle aus ihrem Zellsaft, analytischen Qualitätstests der isolierten und gereinigten Chargen und ihrem Einsatz in Reagenzglas-Experimenten bedarf es keiner großen Fantasie, um sich vorzustellen, dass an jedem Punkt dieser Verkettung mit ihren Verzweigungen etwas schief laufen kann. Wenn ein Experiment unerwartete Ergebnisse liefert, heißt das aber auch, dass eine Plethora von Faktoren dafür in Frage kommt und zurückverfolgt werden muss, um Lücken in der Kette auszuschließen und sicherzustellen, dass das erhaltene Signal weiter untersucht werden sollte. Fehlersuche ist somit tägliche Routine. Das ist nicht zuletzt deshalb relevant, weil es in größeren Labors gewöhnlich eine gewisse Arbeitsteilung gibt, was die materiellen Produktionslinien angeht, die für eine Arbeitsgruppe relevant sind. Im hier beschriebenen Fall beispielsweise waren die Pflege der Bakterienstämme, die Fermentation von Bakterien *en masse* und die Zuckergradienten-Zentrifugation der Ribosomen an technische Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter delegiert, auf deren Präzisionsarbeit sich die Experimentierenden verlassen mussten.

Ein Labor wie das beschriebene bildet also ein eher fragiles Ganzes, das aufrechtzuerhalten nicht nur technische Kontrollen erfordert, sondern auch verlässliche Beziehungen innerhalb der ganzen Laborgruppe. Man arbeitet im Vertrauen auf die Dienste, die nicht nur permanent delegiert sind, sondern auch von einzelnen Mitgliedern der Gemeinschaft abwechselnd übernommen werden, wie etwa das Herstellen von Pufferlösungen im großen Maßstab oder die Spezialkenntnisse erfordernde Reinigung einer bestimmten experimentellen Komponente.

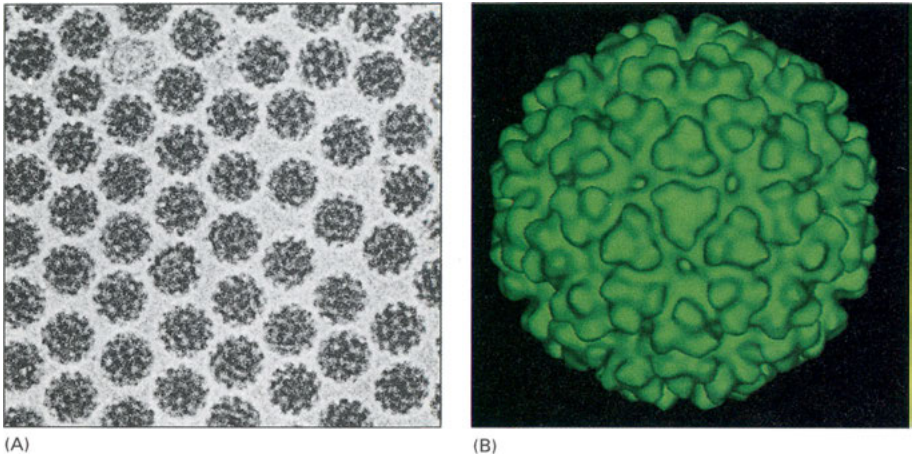
Die Arbeit mit biologischen Materialien wie den hier beschriebenen ist unweigerlich verbunden mit materialbedingten Variationen der jeweiligen biologischen Aktivität – seien es Bindungsvorgänge oder enzymatische Prozesse. Das führt zu variierenden quantitativen Bestimmungen. Dennoch ist Quantifizierung der einzige Weg, um zu robusten Differenzen zu gelangen, die am Ende das Entscheidende sind. Denn einen externen, absoluten Standard, mit dem die quantitativen Messungen eines Experimentalvorgangs verglichen werden könnten, gibt es nicht. Jedes einzelne Experiment muss so angelegt werden, dass die entsprechenden Kontrollen in das betreffende Experiment selbst integriert sind, so dass jede Messung differenziell gegen eine Hintergrundmessung, jede Hinzufügung gegen deren Weglassung bestimmt werden kann. Solche Kontrollen müssen das ganze Experiment durchziehen; sie sind entscheidend für die Aussagekraft einer Messung, wie auch das oben behandelte Experimentalblatt belegt, wo der mit „Translokation“ bezeichnete Schritt in der dritten Kolonne den dritten Inkubationsschritt darstellt. Es ist unschwer zu erkennen, dass das Probenvolumen groß genug ist, um jeweils eine Doppel- oder eine Dreifachbestimmung vornehmen zu können.

Das Beispiel zeigt eindrücklich, wie die Spuren eines bestimmten prozeduralen Erfordernisses – hier die schonende Kühllhaltung biologischer Materialien – einen ganzen Laborraum durchdringen können, einschließlich seiner architektonischen Gestaltung. Zugleich konstituiert es aber auch eine intrinsische Achse des Experimentierens. In Experimentaltermen bedeutet „Kühlen“ Verlangsamem. Verlangsamem kann einerseits ein Mittel darstellen, um unerwünschten Reaktionen zuvorzukommen, andererseits kann es dazu dienen, laufende Reaktionen zu einem bestimmten Zeitpunkt ganz zu stoppen.

Kühlung kann außerdem weitere Funktionen im Forschungsprozess erfüllen, insbesondere bei der Probenvor- und -zubereitung im Rahmen von Technologien der Sichtbarmachung. Ein gutes Beispiel dafür ist die Technik des Gefrierbruchs bei der Probenvorbereitung zur Transmissions-Elektronenmikroskopie von Zellstrukturen. Dabei wird schockgefrorenes Gewebe aufgebrochen, an den Bruchflächen lässt man im Vakuum eine Sublimierung des Wassers eintreten, so dass sich dreidimensionale Zellstrukturen an den Bruchflächen bilden. Diese werden mit Schwermetall (Platin,



4: Gefriergeätzte Chloroplastenmembran, elektronenoptische Aufnahme.



5: Semliki-Forest-Virus, Kryo-Elektronenmikroskopie (A); Rekonstruktion (B).

Wolfram) beschattet; die so entstandenen metallenen Replikas können dann im Elektronenmikroskop vergrößert dargestellt werden. Die in den 1950er-Jahren entwickelte Gefrierbruch-Technik hat wesentlich zur Aufklärung von im Lichtmikroskop nicht darstellbaren Zellstrukturen wie etwa Membranen beigetragen.<sup>10</sup> **Abb. 4** zeigt gefrier-geätzte Membranen eines Chloroplasten, in denen die Photosynthese abläuft. Unter den neuesten Entwicklungen sei die eingangs erwähnte Kryo-Elektronenmikroskopie genannt, bei der die Proben vitrifiziert und unter Tiefsttemperaturen in ihren atomaren Bewegungen so weit eingeschränkt werden, dass sich unter optimalen Bedingungen eine atomare Auflösung von einzelnen biologischen Makromolekülen erreichen lässt.<sup>11</sup> **Abb. 5** zeigt das kryo-elektronenoptische Bild einer Ansammlung von Semliki-Forest-Viren mit der dazugehörigen gemittelten Bildrekonstruktion. Um jedoch diese kältebedingten Darstellungsverfahren wirklich verstehen zu können, ist es grundlegend, auch den mundanen Laboralltag biologischen In-vitro-Experimentierens mit seinen Kühlungsketten im Auge zu behalten.

10 Vgl. z. B. John E. Heuser: The origins and evolution of freeze-etch electron microscopy. In: *Journal of Electron Microscopy*, 2011, Nr. 60 (1), S. 3–29.

11 Vgl. Joachim Frank: Generalized single-particle cryo-EM – a historical perspective. In: *Microscopy*, Februar 2016, Nr. 65, S. 3–8, online unter: <https://doi.org/10.1093/jmicro/dfv358> (Stand 5/2021); zu neuesten Entwicklungen vgl. Bing-Rui Zhou et al.: Atomic resolution cryo-EM structure of a native-like CENP-A nucleosome aided by an antibody fragment. In: *Nature Communications*, 2019, Nr. 10 (2301), online unter: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10247-4> (Stand 5/2021).