

Transfer-Ribonukleinsäuren*

Von MATTHYS STAEHELIN

Biologische Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, Pharmazeutische Abteilung

Transfer-Ribonukleinsäuren kommen in jeder lebenden Zelle vor. Es sind die Moleküle, die den genetischen Code ablesen und die Information über die zu bildenden Proteine, welche zunächst in der Sprache der Nukleinsäure vorliegt, in die Sprache der Aminosäuren übersetzen.

Überlegen wir uns zunächst einmal kurz das Prinzip dieser Informationsübertragung. So lange die Nukleinsäuren die Träger der genetischen Information sind, liegt diese immer, d.h. bei Desoxyribonukleinsäuren und Ribonukleinsäuren, in der spezifischen Sequenz der vier Basen vor. Diese stellen das einzige variable Element in der Struktur der Nukleinsäuren dar. Das Kernproblem dieser genetischen Informationsübertragung besteht nun darin, diese Information so zu verwenden, daß daraus die spezifische Aminosäuresequenz eines Proteins resultiert.

Versuchen wir uns den Vorgang bildlich vorzustellen, so können wir uns eine lineare Struktur (als Symbol für eine Ribonukleinsäure) denken, die vier verschiedene Zeichen in einer ganz bestimmten Reihenfolge enthält. Das Problem besteht nun darin, diese Information in die

richtige Reihenfolge von 20 vollkommen verschieden aufgebauten Strukturen (den Aminosäuren) umzusetzen (Abb.1). Zu diesem Zwecke bedient sich die Zelle einer Anzahl von Adaptermolekülen, den Transfer-Ribonukleinsäuren. Diese müssen so gestaltet sein, daß sie einerseits genau in die Zeichen unserer linearen Struktur passen, andererseits aber auch die richtigen Aminosäuren binden können. Die bildliche Darstellung zeigt bereits, daß dieser einfache Ablesemechanismus einen Haken hat, indem zwar die Zeichen der Information spezifisch abgelesen werden können (was durch spezifische Basenpaarungen vermittelt Wasserstoffbrücken geschieht), aber andererseits kein Grund besteht, daß die richtige Aminosäure an die entsprechenden Adaptermoleküle angelagert werden. Denn sowohl die Adaptermoleküle als auch die Aminosäuren sehen an den Stellen, an denen sie gepaart werden, genau gleich aus. Dieses Problem hat die Natur so gelöst, daß sie die Adaptermoleküle zwar nicht an der Bindungsstelle für die Aminosäuren, aber an anderen Stellen des Moleküls mit spezifischen Strukturen versieht, die von einem weiteren Erkennungsmechanismus, spezifischen Enzymen, verwendet werden können. Diese können sowohl die einzelnen Aminosäuren als auch die einzelnen Adaptermoleküle erkennen und so zuerst einmal die richtigen Adaptermoleküle mit den richtigen Aminosäuren paaren. Chemisch geschieht diese Paarung durch eine Veresterung der Aminosäuren mit den endständigen Ribosen der Transfer-Ribonukleinsäuren (Abb.2).

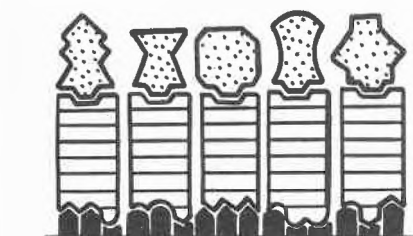
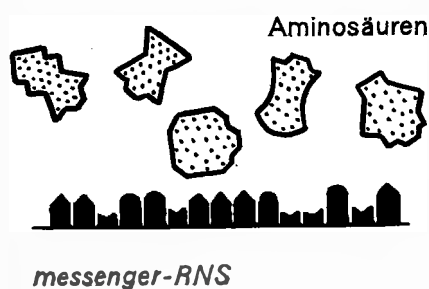


Abb.1. Entsprechend der linearen Information, die aus vier Zeichen besteht (Spitzen nach oben, spitze Aussparungen, Rundungen nach oben und runde Aussparungen) sollen 20 verschiedene Aminosäuren in einer bestimmten Folge angeordnet werden. Dazu werden Adaptermoleküle (Transfer-Ribonukleinsäuren) verwendet

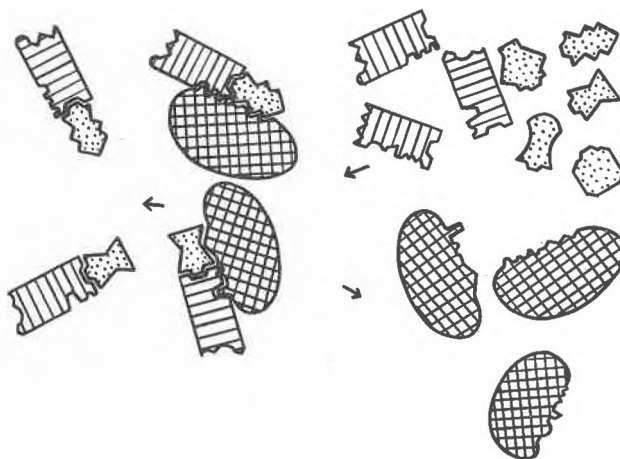


Abb.2. Zur richtigen Paarung der Aminosäuren mit den entsprechenden Adaptermolekülen dienen spezifische Enzyme, die jeweils nur eine Aminosäure und eine Transfer-RNS erkennen und die Aminosäure mit der tRNS verestern. Nach erfolgter Veresterung stehen die Enzyme für einen neuen Vorgang wieder zur Verfügung

* Vorgetragen am Symposium über Biopolymere, veranstaltet vom Schweizerischen Chemiker-Verband, 26. bis 28. August 1970 in Bern.

Nachdem die Adaptermoleküle nun zu Trägern der richtigen Aminosäuren geworden sind, müssen sie auch noch die Polymerisierung der Aminosäuren bewerkstelligen. Dies geschieht an den Ribosomen (komplex gebauten Nukleoproteiden, die aus zwei sehr großen Molekülen Ribonukleinsäuren und etwa 60 Proteinen bestehen). Diese können sowohl Transfer-Ribonukleinsäuren, eben die Adaptermoleküle, als auch «messenger-Ribonukleinsäuren», unsere linearen Strukturen, binden. Für die Transfer-Ribonukleinsäuren besitzen sie zwei Bindungsstellen, eine für eine amino-acylierte Transfer-Ribonukleinsäure und eine für eine Transfer-Ribonukleinsäure, die eine Aminosäure und eine blockierte Aminogruppe trägt. Meistens ist dies eine wachsende Peptidkette.

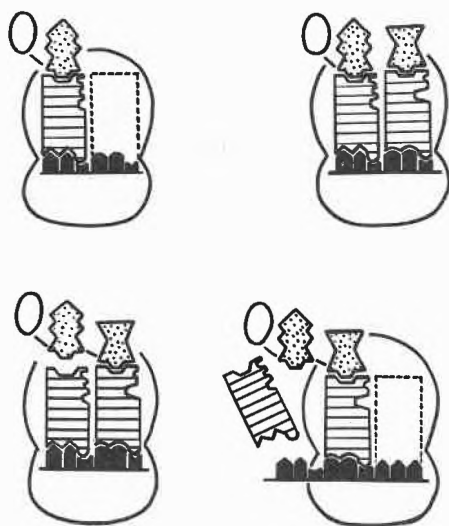


Abb. 3. Peptidbildung an einem Ribosom

1. Das Ribosom trägt eine *t*RNA mit einer wachsenden Peptidkette an der Peptidyl-*t*RNA-Bindungsstelle
2. Eine zweite *t*RNA mit einer Aminosäure wird an die Aminoacyl-*t*RNA-Bindungsstelle angelagert
3. Der Peptidylrest wird durch eine Peptidbindung auf die Aminosäure der zweiten *t*RNA übertragen
4. Die *t*RNA, die nun eine um eine Aminosäure verlängerte Peptidkette trägt, wird auf die Peptidyl-*t*RNA-Bindungsstelle verlagert, unter gleichzeitiger Verlagerung der messenger-*t*RNA. Die freie *t*RNA wird bei diesem Vorgang vom Ribosom abgelöst

Die Polymerisierung erfolgt in drei Schritten (Abb. 3):

1. Der Anlagerung einer aminoacylierten Transfer-Ribonukleinsäure an die entsprechende Stelle.
2. Der Umlagerung der Esterbindung in eine Peptidbindung (durch ein Enzym, die sogenannte Transpeptidase).
3. Einer Umlagerung der neuen Transfer-Ribonukleinsäure, die nun die Peptidkette trägt, auf die andere Bindungsstelle des Ribosoms unter Ausstoßung der freien Transfer-Ribonukleinsäure. Dies erfolgt ebenfalls unter der Einwirkung eines Enzyms, der sogenannten Translokase.

Die bisherigen Abbildungen sind zwar mehr Vorstellungen, die dem Trickfilmdenken als den Gedankengängen eines Chemikers entsprechen, aber sie helfen vielleicht, die notwendigen Funktionen, die die Transfer-Ribonukleinsäuren (*t*RNA) zu bewältigen haben, besser zu verstehen. Diese sind sowohl die Träger der freien Aminosäuren als auch der wachsenden Peptidkette und müssen demnach

1. eine Bindungsstelle haben, an der die Aminosäuren energiereich chemisch gebunden werden können,
2. so gebaut sein, daß sie von nur einem aminoacylierenden Enzym erkannt und mit der richtigen Aminosäure verestert werden,
3. sich an das Ribosom anlagern können,
4. sich von der Aminoacyl-*t*RNA-Bindungsstelle an die Peptidyl-*t*RNA-Bindungsstelle verlagern können,
5. sich spezifisch an die richtigen drei Basen der messenger-RNA anlagern können,
6. auch wieder vom Ribosom losgelöst werden können,
7. eventuell noch Regulationsfunktionen ausüben können.

Im Detail können diese Funktionen an einfachen Systemen untersucht werden, die aus einer *t*RNA mit einer substituierten Aminosäure, aus einer aminoacylierten *t*RNA, Ribosomen, zwei Enzymen und einer synthetischen messenger-RNA bestehen.

Die Transfer-Ribonukleinsäuren haben es auch ermöglicht, den genetischen Code zu entschlüsseln. Schon ein Trinukleotid, d.h. die Strecke einer messenger-RNA, die der Information für eine einzelne Aminosäure entspricht, vermag eine spezifische *t*RNA an ein Ribosom zu binden. NIRENBERG hat diese Eigenschaft folgendermaßen ausgenutzt, indem er Transfer-Ribonukleinsäuren mit verschiedenen Aminosäuren verestert hat^{1, 2, 3}. Durch die spezifischen *t*RNA-Aminoacylsynthetasen werden in einem Gemisch sämtlicher Transfer-Ribonukleinsäuren, beispielsweise mit Tyrosin nur tyrosinspezifische *t*RNA, mit Serin nur serinspezifische *t*RNA verestert. Durch Verwendung radioaktiver Aminosäuren läßt sich so immer nur eine Art von Transfer-Ribonukleinsäuren markieren. Werden nun Ribosomen mit einem synthetischen Trinukleotid, z. B. von der Sequenz UAC in Gegenwart dieser markierten Transfer-Ribonukleinsäuren inkubiert, so wird nur die spezifische Transfer-Ribonukleinsäure mitsamt ihrer Aminosäure an das Ribosom gebunden, die dieses Trinukleotid-Codezeichen erkennen kann, nämlich Tyrosin-*t*RNA. Alle übrigen dagegen nicht. Dadurch, daß Ribosomen von einem Filter von 0,5 μ Porengröße zurückgehalten werden, *t*RNA-Moleküle aber nicht, lassen sich die freien Transfer-Ribonukleinsäuren von den gebundenen unterscheiden. NIRENBERG hat nun

¹ M. W. NIRENBERG und P. LEDER, *Science* 145 (1964) 1399.

² P. LEDER und M. W. NIRENBERG, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 52 (1964) 420.

³ M. W. NIRENBERG, P. LEDER, M. BERNFIELD, R. BRIMACOMBE, J. TRUPIN, F. ROTTMAN und C. O'NEAL, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 53 (1965) 1161.

1. Base (5'-Ende)	2. Base U	C	A	G	3. Base (3'-Ende)
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	*	*	A
	Leu	Ser	*	Try	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	GluN	Arg	A
	Leu	Pro	GluN	Arg	G
A	Ileu	Thr	AspN	Ser	U
	Ileu	Thr	AspN	Ser	C
	Ileu ?	Thr	Lys	Arg	A
	Met **	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

* UAA, UAG und UGA = Kettenende

** AUG = Kettenanfang

Abb. 4. Der genetische Code

die 64 möglichen Trinukleotide, die aus den vier Basen der *messenger-RNS* aufgebaut werden können, einzeln untersucht. Durch die Beobachtung, welche mit *tRNS* veresterten Aminosäuren in Gegenwart von jedem einzelnen Trinukleotid an das Ribosom gebunden werden, konnte ein genetischer Code aufgestellt werden (Abb. 4).

Was sind das nun für Moleküle, die diese Adapterfunktionen ausüben? Ribonukleinsäuren sind langkettige Polymere, die aus ihren Bausteinen, den Nukleotiden, aufgebaut sind. Im Vergleich zu anderen Ribonukleinsäuren, z.B. Ribosomen- oder Virusnukleinsäuren, sind die Transfer-Ribonukleinsäuren 10- bis 100 mal kleiner. Deshalb sind sie auch einer chemischen Strukturaufklärung viel eher zugänglich. Sie bestehen aus etwa 80 Nukleotidbausteinen. Am 3'-Ende, also auf der

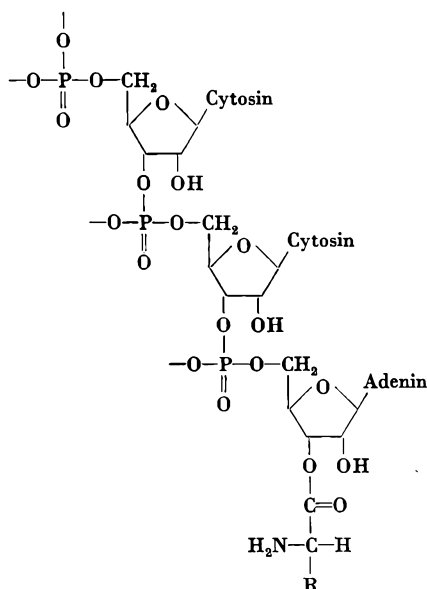


Abb. 5

Veresterung einer Aminosäure mit einer Transfer-Ribonukleinsäure

Tabelle 1

A. Seltene Nukleotide in Sequenzen bisher bekannter Transfer-Ribonukleinsäuren

1. Seltene Nukleoside, die bisher nur in einer *tRNS*-Sequenz gefunden wurden:

m ¹ I	1-Methylinosin
m ⁶ A	N ⁶ -Methyladenosin
Um	2'-O-Methyluridin
Øm	2'-O-Methylpseudouridin
ac ⁴ C	N ⁴ -Acetylcytidin
Y	Unbekannte Base in Phenylalanin- <i>tRNS</i>
«C»	Seltene Nukleoside im Anticodon
«G»	

2. Seltene Nukleoside, die in mehreren *tRNS* gefunden wurden, aber immer an der gleichen Stelle vorkommen:

m ¹ C	1-Methylguanin
m ² G	N ² -Methylguanin
m ² G	N ² -Dimethylguanin
m ⁷ G	7-Methylguanin
m ¹ A	1-Methyladenosin
m ⁵ U	Ribothymidin
Cm	2'-O-Methylcytidin
I	Inosin
s ⁴ U	4-Thiouridin
i ⁶ A	N ⁶ -Isopentenyl-Adenosin
m ² si ⁶ A	2-Methylthio-N ⁶ -isopentenyl-Adenosin
TCF	N-(purin-6-yl-carb-amoyl)-Threonin

3. Seltene Nukleoside, die an mehreren Stellen vorkommen:

An 2 Stellen	m ⁵ C	5-Methylcytidin
	Gm	2'-O-Methylguanosin
	m ³ C	3-Methylcytidin
	m ¹ G	1-Methylguanosin
An 6 Stellen	hU	Dihydrouridin
An 9 Stellen	Ø	5-Ribosyluracil

B. Seltene Nukleotide, deren Vorkommen in rohen Transfer-Ribonukleinsäurepräparationen beschrieben wurden, ohne daß sie sich bisher in bekannten Sequenzen finden ließen:

3-Methyluridin
2'-O-Methyladenosin
2'-O-Ribosyladenosin
1,5-Diribosyluracil
N ¹ -Ribosylguanin
N ⁶ -Dimethyladenosin
2-Methyladenosin
6-Methylaminomethyl-2-thiouridin
5-Carboxymethyluridin
5-Hydroxymethyluridin
5-Hydroxyuridin
2-Thiouridin-5-essigsäure-methylester

Seite, an welcher die Ribose des letzten Nukleotids in 3'-Stellung nicht mehr mit einem weiteren Nukleotid verestert ist, tragen sie alle die Folge von zwei Cytidylsäuren mit einem terminalen Adenosin (Abb. 5). Die Aminosäuren werden durch die spezifischen aminoacylierenden Enzyme mit der Ribose dieses terminalen Adenosins verestert.

Im Gegensatz zu den Ribonukleinsäuren enthalten die Transfer-Ribonukleinsäuren nicht nur die «normalen» Basen Adenin, Guanin, Uridin und Cytosin, sondern auch eine große Anzahl zusätzlicher Nukleotide. Folgen-

codon vorkommen kann, hat CRICK⁶ auch die Fähigkeit von Transferribonukleinsäure erklärt, verschiedene Code-Triplets ablesen zu können.

4. Dihydrouridin-(DHU)-Arm: In diesem Arm der eine variable Länge aufweisen kann, sind praktisch alle Uracilbasen zu Dihydrouracil reduziert.
5. Extra-Arm: Zwischen dem T ψ C-Arm und dem Anticodon-Arm liegt eine Region, die entweder nur 3 bis 5 Nukleotide umfassen kann, oder aber 13 bis 15 Nukleotide, wobei dann 3 bis 4 Basenpaare auftreten.

Entsprechend der Variabilität des Extra-Arms und der Anzahl Basenpaare im Dihydrouridin-Arm, können drei Typen von Transfer-Ribonukleinsäuren unterschieden werden^{6a}:

1. t ψ NS-Moleküle mit 3 Basenpaaren im DHU-Arm und einem kurzen Extra-Arm,
2. t ψ NS-Moleküle mit 3 Basenpaaren im DHU-Arm und einem langen Extra-Arm,
3. t ψ NS-Moleküle mit 4 Basenpaaren im DHU-Arm und einem kurzen Extra-Arm.

Tabelle 2. Aminosäure-Arm

Tyr ^{yeast} (B)	pC U C /U/ C G G C C G /G/ G A G A C C A
Tyr ^{yeast} (T)	pC U C U C G G C C G A G A G A C C A
Val ^{yeast} (B)	pC /G/ U U U C G C G A A A /U/ C A C C A
Val ^{yeast} (T)	pC /G/ U U U C G C G A A A /U/ C A C C A
Ile ^{yeast} (T)	pC G U C C C U A G G G A A C C A C C A
Ser ^{yeast} (B)	pC /G/ C A A C U A G U U G /U/ C G C C A
Ser ^{rat}	pC U A G U C G G G A C U A C G C C A
Tyr ^{E.coli}	pC G U G G G G C C C C A C C A C C A
Leu ^{E.coli}	pC C G A /A/ G G C C /C/ U C G C A C C A
Val ^{E.coli}	pC G G U G A U A U C A C C C C A C C A
Phe ^{yeast} (B)	pC C G /G/ A U U A A U /U/ C G C A C C A
Phe ^{wheat}	pC C G G /G/ G A U C /A/ C C G C A C C A
Phe ^{E.coli}	pC C C G G G A U C C G G G C A C C A
Ala ^{yeast} (B)	pC G /G/ C G /U/ G C /U/ C G /U/ G C A C C A
Asp ^{yeast}	pU C C G /U/ G A U C /G/ C G G A G C C A
Trp ^{E.coli}	pA G G G C G C C G C C C C U G C C A
Met ^{E.coli}	pC G C U A C G C G U A G C C A C C A
Met ^{F.E.coli}	pC G C G G G G C C C C G C A A C C A

1 2 3 4 5 6 7 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92

Tyr ^{yeast} (B)	U A ² G C C A - - A G hU hU - Gm G hU hU hU A A ² G G C m ² G
Tyr ^{yeast} (T)	U ¹ G C C A - - A G hU hU - Gm G hU hU hU A A ² G G C m ² G
Val ^{yeast} (B)	U ¹ G G U C - - A G hU C - G G hU hU - A U ² G G C A
Val ^{yeast} (T)	U ¹ G G U C - - A G hU hU - G G hU C - A U ² G G C A
Ile ^{yeast} (T)	U G ² G C C C - - A G hU hU - G G hU hU - A A ² G G C m ² G
Ser ^{yeast} (B)	U G ² G C C G - - A G hU - - Gm G hU hU - A A ² G G C m ² G
Ser ^{rat}	U G ² G C C G - - A G hU - - Gm G hU hU - A A ² G G C m ² G
Tyr ^{E.coli}	sU ² C C C G - - A G C - - Gm G C C A A A ² G G C A
Leu ^{E.coli}	U G ² G C G G - - A A hU hU - G G hU A - G A ² C G C G
Val ^{E.coli}	sU A ² G C U C - - A G C hU - G G G - - A A ² G A G C A
Phe ^{yeast} (B)	U A ² G C U C - - A G hU hU - G G G - - A A ² G A G C m ² G
Phe ^{wheat}	U A ² G C U C - - A G hU hU - G G G - - A A ² G A G C m ² G
Phe ^{E.coli}	U A ² G C U C - - A G hU C - G G hU - - A A ² G A G C A
Ala ^{yeast} (B)	U ¹ G G C G C G U A G hU C - G G hU - - A A ² C G C C m ² G
Asp ^{yeast}	U A ² G U U U - - A A hU - - G G hU C - - A A ² G A A U G
Trp ^{E.coli}	sU A ² G U U C - - A A hU hU - G G hU - - A A ² G A G C A
Met ^{E.coli}	sU A ² G U U C - - A G hU hU - Gm G hU hU - A A ² G A G C A
Met ^{F.E.coli}	sU G ² G A G C - - A G C C U G G hU - - A A ² G C U C G

8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31

Tabelle 3. T ψ C-Arm

Tyr ^{yeast} (B)	G G G C G T ψ C G ¹ A C U C G C C C -
Tyr ^{yeast} (T)	G G G C G T ψ C G ¹ A A U C G C C C -
Val ^{yeast} (B)	C C C A G T ψ C G ¹ A U C C U G G G -
Val ^{yeast} (T)	C C C A G T ψ C G ¹ A U C C U G G G -
Ile ^{yeast} (T)	A G C A G T ψ C G ¹ A U C C U G C U -
Ser ^{yeast} (B)	G C A G G T ψ C A A A U C C U G C -
Ser ^{rat}	G C A G G T ψ C A A A U C C U G C -
Tyr ^{E.coli}	G A A G G T ψ C G A A U C C U U C -
Leu ^{E.coli}	G G G G G T ψ C A A G U C C C C C -
Val ^{E.coli}	G /G/ C G G T ψ C G A U C C C G /U/ C -
Phe ^{yeast} (B)	m ⁵ C U G U G T ψ C G ¹ A U C C A C A G -
Phe ^{wheat}	G C G U G T ψ C G ¹ A U C C A C A G -
Phe ^{E.coli}	C U /U/ G G T ψ C G A U U C C /G/ A G -
Ala ^{yeast} (B)	U C C G G T ψ C G A U U C C G G A -
Asp ^{yeast}	m ⁵ C G G G G T ψ C A A U U C C C C G -
Trp ^{E.coli}	G /G/ G A G T ψ C G A G U C C U C /U/ C -
Met ^{E.coli}	A C /A/ G G T ψ C G A A U C C /C/ G U -
Met ^{F.E.coli}	G /U/ C/ G G T ψ C A A A U C C C G /G/ C -

64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81

Tabelle 4. Anticodon-Arm

Tyr ^{yeast} (B)	m ² G C A A G A C U G ψ A ⁶ A ψ C U U G A
Tyr ^{yeast} (T)	m ² G ψ C A G A C U G ψ A ⁶ A ψ C U U A A
Val ^{yeast} (B)	A ψ C U G C ψ U I A C A C G C A G A A
Val ^{yeast} (T)	A ψ C U G C ψ U I A C A C G C A G A A
Ile ^{yeast} (T)	m ² G ψ G G U G C U I A U ⁶ A C G C C A A
Ser ^{yeast} (B)	m ² G A A A G A ψ U I G A ⁶ A ψ C U U U U m
Ser ^{rat}	m ² G A ψ G G A ψ U I G A ⁶ A ψ C C A U U m
Tyr ^{E.coli}	A C C A G A C U X G U A ⁶ A ψ C U G C C
Leu ^{E.coli}	G C U A /G/ C U U C A G ⁶ ψ G /U/ U A G U
Val ^{E.coli}	A C C U C C C U X A C ⁶ A G G A G G G
Phe ^{yeast} (B)	m ⁵ G C C A G A C m U Gm A A Y A ψ C U G G A
Phe ^{wheat}	m ⁵ G ψ C A G A C m U Gm A A Y A ψ C U G G A
Phe ^{E.coli}	A G G G G A ψ U G A A ⁶ A ψ C C C C G
Ala ^{yeast} (B)	m ² G C U C C C U U I G C m I ψ G G G A G A
Asp ^{yeast}	G G G C /G/ C ψ U G U C m ⁶ C G /U/ G C C A
Trp ^{E.coli}	A C C G G U C m U C C A A ⁶ A C C G G G
Met ^{E.coli}	A C A U C A C U X C A U X A ψ G A U G G
Met ^{F.E.coli}	G U C G G G C m U C A U A A C C C G A A

31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49

Die Primärsequenz der bisher in ihrer Struktur aufgeklärten Transfer-Ribonukleinsäuren sind in den Tabellen 2 bis 6 wiedergegeben. Das Gesamtmolekül wurde in die

Tabelle 5. Dihydrouridin-(DHU)-Arm

⁶ F. H. C. CRICK, *J. Mol. Biol.* 19 (1966) 548.^{6a} M. STAHELIN, *Experientia* 27 (1971) 1.

Tabelle 6. Extra-Arm

Tyr ^{yeast} (B)	A	-	-	-	-	G	A	hU	-	-	-	-	-	m ⁵ C	
Tyr ^{yeast} (T)	A	-	-	-	-	C	A	hU	-	-	-	-	-	m ⁵ C	
Val ^{yeast} (B)	A	-	-	-	-	C	-	hU	-	-	-	-	-	m ⁵ C	
Val ^{yeast} (T)	A	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	m ⁵ C	
Ile ^{yeast} (T)	A	-	-	-	-	G	A	hU	-	-	-	-	-	m ⁵ C	
Ser ^{yeast} (B)	Um	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>C</u>	U	<u>C</u>	U	-	<u>G</u>	<u>C</u>	<u>C</u>	<u>C</u>	G	m ⁵ C
Ser ^{rat}	Um	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>G</u>	Um	<u>C</u>	U	-	<u>C</u>	<u>C</u>	<u>C</u>	<u>C</u>	G	m ⁵ C
Tyr ^{E.coli}	C	-	<u>G</u>	<u>U</u>	<u>C</u>	A	<u>U</u>	<u>C</u>	-	<u>G</u>	<u>A</u>	<u>C</u>	<u>U</u>	U	C
Leu ^{E.coli}	U	<u>G</u>	<u>U</u>	<u>C</u>	<u>C</u>	U	U	A	C	<u>G</u>	<u>G</u>	<u>A</u>	<u>C</u>	G	U
Val ^{E.coli}	G	-	-	-	-	G	m ⁷ G	U	-	-	-	-	-	-	C
Phe ^{yeast} (B)	A	-	-	-	-	G	m ⁷ G	U	-	-	-	-	-	-	C
Phe ^{wheat}	A	-	-	-	-	G	m ⁷ G	hU	-	-	-	-	-	-	C
Phe ^{E.coli}	G	-	-	-	-	U	m ⁷ G	X	-	-	-	-	-	-	C
Ala ^{yeast} (B)	A	-	-	-	-	G	-	hU	-	-	-	-	-	-	C
Asp ^{yeast}	A	-	-	-	-	G	-	A	-	-	-	-	-	-	U
Trp ^{E.coli}	G	-	-	-	-	U	m ⁷ G	U	-	-	-	-	-	-	U
Met ^{E.coli}	G	-	-	-	-	G	m ⁷ G	X	-	-	-	-	-	-	C
Met ^{F.E.coli}	A	-	-	-	-	G	A	U	-	-	-	-	-	-	C

49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63

einzelnen Arme unterteilt, wobei die unterstrichenen Nukleotide immer den Basenpaarungen im Stiel der jeweiligen Schlinge entsprechen. Aus einem Vergleich der verschiedenen Sequenzen geht hervor, daß alle Moleküle außer der Möglichkeit der Basenpaarungen, wie sie im zweidimensionalen Kleeblattmodell wiedergegeben werden können, noch sehr viel weitere gemeinsame Merkmale zeigen. Es ist nun anzunehmen, daß diese Nukleotide bei der dreidimensionalen Faltung des Moleküls eine wichtige Rolle spielen.

Die im letzten Jahr gemachte Beobachtung, daß Transfer-Ribonukleinsäuren kristallisiert werden können, hat große Hoffnungen erweckt, daß es möglich sei, durch Röntgenbrechungsanalysen die räumliche Struktur dieser Moleküle zu ermitteln. Alle bisherigen Analysen haben jedoch nur gezeigt, daß das Molekül aus zwei sehr nahe übereinanderliegenden Doppelspiralen besteht. Diese kann man sich unter Verwendung der von LEVITT⁷ formulierten Basenpaarungen so vorstellen, wie dies an einem Modell der von uns in ihrer Primärstruktur aufgeklärten Leber-Serin-*t*RNA⁴ in Abb. 7 dargestellt ist.

Versuche, durch chemische Modifikation der Transfer-Ribonukleinsäuren Einblick in die funktionelle Bedeutung einzelner Gruppen zu erlangen, haben erstaunlicherweise wenig gezeigt, indem entweder mehrere Funktionen gleichzeitig erloschen oder aber die Funktion kaum beeinträchtigt wurde. Dagegen wurde in letzter Zeit ein neuer Weg beschritten. Es wurde kürzlich darüber berichtet, daß es zum erstenmal gelungen sei, ein Gen chemisch zu synthetisieren⁸. Bei diesem Gen handelt es sich um die einer *t*RNA komplementäre Desoxyribonukleinsäure. Daß Transfer-Ribonukleinsäuren tatsächlich Genprodukte sind, mit denen sich auch genetisch arbeiten läßt, haben kürzliche Arbeiten der Gruppe von JOHN SMITH in Cambridge gezeigt^{9,10}. Der biologi-

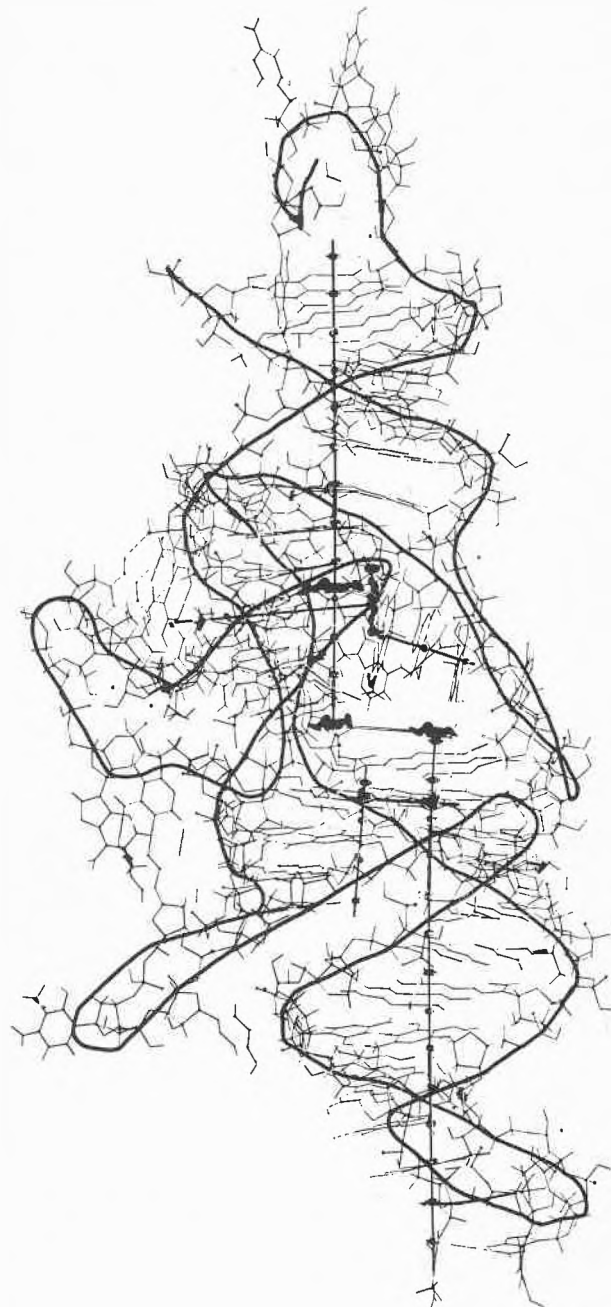


Abb. 7. Räumliches Modell der Serin-*t*RNA⁴, das zeigen soll, wie eine Transfer-Ribonukleinsäure entsprechend ihren Basenpaarungsmöglichkeiten gefaltet sein könnte

sche Hintergrund dieser Arbeiten ist folgender: Die DNS eines Bakteriophagen, eines Virus, läßt sich so mutieren, daß das Virus in einem normalen Bakterium nicht mehr wächst. In gewissen Bakterien, sogenannten Suppressorstämmen, die ihrerseits auch mutiert sind, können sie aber trotzdem wachsen. Dieses Phänomen hat folgende Erklärung. Die DNS des Virus hat eine Mutation erlitten,

⁷ M. LEVITT, *Nature* 224 (1969) 759.

⁸ H. G. KHORANA, *Nature* 227 (1970) 27.

⁹ J. N. ABELSON, M. L. GEFTER, L. BARNETT, A. LANDY, R. L. RUSSELL und J. D. SMITH, *J. Mol. Biol.* 47 (1970) 15.

¹⁰ J. D. SMITH, L. BARNETT, S. BRENNER und R. L. RUSSELL, *J. Mol. Biol.*, im Druck.

bei der die Information für eine bestimmte Aminosäure durch die Information für ein Kettenende ersetzt wurde, beispielsweise ein U-A-C, das Code-Zeichen für Tyrosin, in U-A-G, das Code-Zeichen für ein Kettenende, umgewandelt worden ist. In den mutierten Bakterien andererseits ist das Gen einer *tRNA* so mutiert worden, daß im Anticodon nun nicht mehr die für U-A-C, sondern die für U-A-G komplementären Basen vorliegen, d.h. ein G durch ein C ersetzt ist. Dadurch kann im mutierten Bakterium die Information des mutierten Phagen wieder richtig abgelesen werden. Daß dies tatsächlich der Fall ist, konnten ABELSON und Mitarbeiter⁹ durch die Sequenzanalyse der isolierten Suppressor-*tRNA*s aus einem mutierten Bakterium beweisen. Sie sind nun aber einen Schritt weitergegangen, indem sie durch weitere Mutationen Bakterien herauszuzüchten versuchten, die in der Ablesung der «falschen» Information weniger tüchtig waren. Dies geschah in der Hoffnung, daß diese weiteren Mutationen dadurch zustande kommen, daß zwar das Anticodon immer noch gleich verändert ist und das Code-Zeichen für das Kettenende ablesen kann, daß aber dabei weitere Veränderungen an der Transfer-Ribonukleinsäure auftreten, die dann möglicherweise über die Funktion einzelner Stellen sowie auch über die an der tertiären Struktur beteiligten Basenpaarungen Aufschluß geben können. Tatsächlich sind auch aus einer ganzen

Anzahl solcher weiter mutierten Bakterien Transfer-Ribonukleinsäuren isoliert worden, bei denen ein Basenaustausch an anderen Stellen des Moleküls stattgefunden hat.

Dabei hat sich folgendes gezeigt:

1. Bereits der Austausch einer einzigen Base in einer basengepaarten Region beeinträchtigt die Funktionstüchtigkeit des Moleküls. Diese kann aber durch eine zweite komplementäre Mutation wieder aufgehoben werden, so daß also ein Molekül, das in einer basengepaarten Region ein A-U-Basenpaar besitzt, ebenso funktionstüchtig sein kann wie das gleiche Molekül, das an dieser Stelle ein G-C-Basenpaar besitzt.
2. Änderungen der Basensequenz im DHU-Arm beeinträchtigen zwar nicht die enzymatische Veresterung mit der Aminosäure, dagegen sind diese Moleküle nicht mehr in der Lage, sich gleich gut an das Ribosom anzulagern.
3. Basenänderungen in der Nähe des Anticodons beeinträchtigen die Bindung an die *messenger-RNA*.

Diese kurzen Hinweise sollen zeigen, daß es möglich ist, durch gezielte biologische Versuche zu chemisch modifizierten Makromolekülen zu gelangen, deren Analyse dann über die Funktionen einzelner Teile des Moleküls Aufschluß geben kann.