

2. Benachbarte Codons überlappen sich nicht.
3. Die im Sinne der genetischen Information richtigen Dreiergruppen ergeben sich, wenn man beim Ablesen der Information an einem bestimmten Punkt beginnt.
4. Die Codon-Sequenz im Gen ist mit der Aminosäure-Sequenz in der Polypeptidkette colinear. Die Aminosäure-Sequenz der Polypeptidkette wird vom Aminoende her aufgebaut.
5. Im allgemeinen gibt es für eine Aminosäure mehr als ein Triplet.
6. Es ist möglich, daß einige Triplets mehr als einer Aminosäure entsprechen, d. h. mehrdeutig sind.
7. Triplets, die als Chiffren für die gleiche Aminosäure stehen, sind wahrscheinlich einander ähnlich.
8. Es ist nicht bekannt, ob die Zuordnung von Triplets und Aminosäuren irgendeiner allgemeinen Regel folgt oder lediglich das Ergebnis zufälliger Ereignisse ist.

9. Die Zahl der Triplets, die nicht für eine Aminosäure stehen, ist wahrscheinlich klein.

10. Einige früher vorgeschlagene Codes (z. B. kommafreie Codes, Codes mit zwei oder drei Elementen, der Code der Triplet-Kombinationen und einige komplementäre Codes) sind wahrscheinlich nicht richtig.

11. Die genetischen Codes verschiedener Organismen sind einander wahrscheinlich ähnlich. Möglicherweise haben alle Organismen den gleichen Code, aber das ist noch nicht bekannt.

Trotz der Vielschichtigkeit des Problems der Proteinsynthese und trotz der beträchtlichen Schwierigkeiten, die der Synthese von Polynucleotiden mit bekannter Nucleotid-Sequenz noch entgegenstehen, darf man hoffen, daß sich alle hier aufgeworfenen Fragen in naher Zukunft klären lassen, und daß der genetische Code innerhalb weniger Jahre vollständig bewiesen sein wird.

Eingegangen am 2. Januar 1963 [A 291]
Übersetzt von Dr. H. Grunewald, Heidelberg

Die molekulare Konfiguration der Nucleinsäuren

Nobel-Vortrag am 11. Dezember 1962 [*]

VON PROF. DR. M. H. F. WILKINS

MEDICAL RESEARCH COUNCIL, BIOPHYSICS RESEARCH UNIT,
BIOPHYSICS DEPARTMENT, KING'S COLLEGE, UNIVERSITY OF LONDON (ENGLAND)

Nucleinsäuren sind im Prinzip einfach gebaut. Sie stehen an der Wurzel so bedeutender biologischer Prozesse wie Wachstum und Vererbung. Die Einfachheit ihrer Struktur und der Beziehung zwischen Struktur und Funktion entspricht einer tieferliegenden Einfachheit der biologischen Vorgänge und hat eine erste weitgehende Interpretation solcher Vorgänge an Hand makromolekularer Strukturen ermöglicht. All dies gelang nur durch eine vorher nicht dagewesene Kombination biologischer, chemischer und physikalischer Untersuchungen, von der Genetik bis zur Stereochemie der Wasserstoffbrückenbindung. Ich werde darauf nicht weiter eingehen, sondern mich auf mein Arbeitsgebiet beschränken und zeigen, welchen Beitrag Röntgenstrukturanalysen geleistet haben. Ich möchte auch einiges über die Hintergründe meiner Arbeiten sagen, denn ich bin sicher nicht der einzige, der solche Berichte oft interessanter findet als eine allgemeine Zusammenfassung.

1. Anfänge

Ich promovierte 1938 als Physiker in Cambridge und hatte unter dem Einfluß von *J. D. Bernal* einige Ausbildung als Röntgenkristallograph erhalten. In Birmingham arbeitete ich dann bei *J. T. Randall* über Fra-

gen der Lumineszenz und der Elektronenbewegung in Kristallen. Meine Kollegen in Cambridge hatten sich vor allem mit Elementarteilchen beschäftigt. Mir erschienen die Organisation des festen Zustandes und die darauf beruhenden besonderen Eigenschaften bemerkenswerter. Vielleicht war dies eine Vorstufe meines Interesses an biologischen Makromolekülen und am Zusammenhang zwischen ihrer Struktur und der Fähigkeit, den Ablauf der Lebensvorgänge so weitgehend zu bestimmen.

Während des Krieges beteiligte ich mich an der Herstellung der Atombombe und suchte, als er vorüber war, wie so viele andere nach einem neuen Arbeitsgebiet. Nicht zuletzt infolge der Bombe war meine Freude an der Physik geringer geworden. Ich las damals *Schrödingers* Buch „What is Life“ und wurde von der Vorstellung, daß eine sehr komplexe molekulare Struktur die Lebensvorgänge kontrolliere, in den Bann gezogen. Die Untersuchung solcher Fragen erschien mir lohnender als die Festkörperphysik. Damals glaubten viele bedeutende Physiker, u. a. *Massey*, *Oliphant* und *Randall*, daß die Physik einen wesentlichen Beitrag zur Biologie leisten könne (ich erfuhr später, daß auch *Nils Bohr* dieser Meinung war). Ihr Rat ermutigte mich zur Beschäftigung mit der Biologie.

Randall lud mich ein, an biophysikalischen Untersuchungen teilzunehmen, die er am physikalischen Institut der St. Andrews-Universität in Schottland begonnen hatte. Angeregt durch *Müllers* Arbeiten über die

[*] Wir danken dem Autor und dem Nobel-Komitee, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieses Vortrags.

experimentelle Änderung genetischen Materials mit Röntgenstrahlen wollte ich sehen, welchen Einfluß Ultraschallwellen hätten. Die Ergebnisse waren jedoch nicht sehr ermutigend.

Randall wurde dann auf den Wheatstone-Lehrstuhl für Physik am King's College in London berufen und errichtete dort, unterstützt vom Medical Research Council, ein für eine physikalische Fakultät ungewöhnliches Laboratorium, in dem u. a. Biologen und Biochemiker mit Physikern zusammenarbeiteten. Er schlug vor, daß ich mit dem Ultraviolett-Mikroskop die Menge der in den Zellen enthaltenen Nucleinsäuren bestimmen sollte. Diese Arbeiten schlossen sich an die Untersuchungen von *Caspersson* an, machten aber vom Achromatismus reflektierender Mikroskope Gebrauch. Damals hatte man aus den Arbeiten von *Caspersson* [1] und *Brachet* [2] gelernt, daß die Nucleinsäuren mit der Proteinsynthese im Zusammenhang stehen. Von der Vorstellung, daß die Gensubstanz aus Desoxyribonucleinsäure (DNS) besteht, waren kaum Andeutungen vorhanden. Ihre Funktion in den Chromosomen sollte mit der Reduplikation der darin enthaltenen Proteine zusammenhängen. 1944 berichteten *Avery*, *MacLeod* und *McCarty* [3], daß es gelungen sei, Bakterien mit DNS genetisch zu transformieren. Aber diese Veröffentlichung war noch 1946 fast unbekannt, und wo man sie kannte, wurde ihre Bedeutung oft nicht bemerkt.

Es war zwar faszinierend, Chromosomen durch das Mikroskop zu betrachten, aber ich kam zu der Überzeugung, daß ich als Physiker der Biologie mehr nützen könnte, wenn ich aus den Zellen isolierte Makromoleküle untersuchen würde. Ich wurde dazu von *Gerald Oster* ermutigt, der damals aus *Stanleys* Virus-Laboratorium gekommen war und mich für das Tabakmosaikvirus interessierte. *Caspersson* hatte gezeigt, daß man mit dem Ultraviolett-Mikroskop sowohl die Orientierung UV-absorbierender Gruppen in Makromolekülen feststellen als auch den Nucleinsäuregehalt der Zellen bestimmen kann. *Bill Seeds* und ich untersuchten DNS, Proteine, Tabakmosaikvirus, Vitamin B₁₂ und andere Dinge. Bei einer Prüfung orientierter DNS-Filme, deren UV-Dichroismus studiert werden sollte, beobachtete ich mit dem Polarisationsmikroskop äußerst einheitliche Fasern, die bei gekreuzter Stellung von Polarisator und Analysator dunkel erschienen. Diese Fasern waren zufällig bei der Herstellung des DNS-Gels entstanden. Jedesmal, wenn ich das Gel mit einem Glasstab berührte, blieb beim Herausziehen des Stabes ein dünner, fast unsichtbarer DNS-Faden wie aus einem Spinnennetz daran hängen. Die Perfektion und Einheitlichkeit dieser Fasern ließ auf eine regelmäßige Anordnung der in ihnen enthaltenen Moleküle schließen. Ich dachte sogleich, daß sich diese Fasern hervorragend für eine Röntgenanalyse eignen müßten. Ich brachte sie daher zu *Raymond Gosling*, der unser einziges Röntgengerät hatte (es war aus nicht mehr benötigtem Kriegsmaterial zusammengebaut worden) und damit die Köpfe von Widder-Spermatozoen untersuchte.

[1] T. Caspersson, *Naturwissenschaften* 29, 33 (1941).

[2] J. Brachet, *Arch. Biol. (Liège)* 53, 207 (1941).

[3] O. T. Avery, C. M. MacLeod u. M. McCarty, *J. exp. Med.* 79, 137 (1944).

Diese Arbeiten wurden von *Randall* geleitet, der seine Ausbildung bei *W. L. Bragg* erhalten und selbst röntgenographisch gearbeitet hatte. *Gosling* erhielt fast sofort sehr ermutigende Beugungsbilder (Abb. 1). Ein

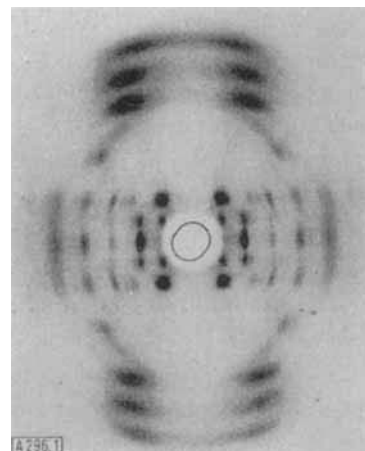


Abb. 1. Eine der ersten Röntgenaufnahmen der DNS aus unserem Laboratorium (vgl. Abb. 9). Die Aufnahme wurde gemeinsam mit *R. Gosling* angefertigt, die DNS stammte von *R. Signer*.

Grund für diesen Erfolg war, daß wir die Fasern feucht hielten. Wir erinnerten uns, daß *Bernal* Proteinkristalle in der Mutterlauge gehalten hatte, um detaillierte Beugungsbilder zu bekommen. Es war anzunehmen, daß die Konfigurationen wasserlöslicher biologischer Makromoleküle von ihrer wäßrigen Umgebung abhängen. Gute Beugungsbilder erhielten wir auch von einer DNS, die *Signer* und *Schwander* [4] isoliert hatten, und die *Signer* 1950 zu einer Tagung der Faraday-Society über Nucleinsäuren nach London mitbrachte und dort großzügig verteilte, so daß jeder sie mit seiner Technik untersuchen konnte.

2. Erkenntnis, daß das genetische Material eine reine chemische Substanz ist, und Anzeichen für die Einfachheit seiner molekularen Struktur

Zwischen 1946 und 1950 erhielt man zahlreiche Hinweise dafür, daß die genetische Substanz DNS und nicht ein Protein oder ein Nucleoprotein ist. Beispielsweise ist der DNS-Gehalt eines Chromosomen-Satzes konstant, und die DNS einer jeden Species hat eine konstante Zusammensetzung trotz der komplizierten Nucleotid-Sequenz in der DNS-Molekel. Es wurde vorgeschlagen, daß die Nucleotidkette die genetische Information in Form der Basen-Sequenz enthält; die große Bedeutung der bakteriellen Transformation ließ sich erkennen, und die Entdeckung von *Hershey* und *Chase* [5], daß Bakteriophagen-DNS die genetische Information des Virus von einer Generation zur anderen überträgt, verhalf der gedanklichen Revolution zum Durchbruch.

Die Erkenntnis, daß DNS mit ihrer gut definierten chemischen Struktur und nicht irgendein schwer zu charak-

[4] R. Signer u. H. Schwander, *Helv. chim. Acta* 32, 853 (1949).

[5] A. D. Hershey u. M. Chase, *J. gen. Physiol.* 36, 39 (1952).

terisierendes Nucleoprotein die genetische Substanz ist, besserte die Aussichten auf eine Erklärung der genetischen Funktion an Hand einer molekularen Struktur beträchtlich. Es gab viele Anzeichen für die Einfachheit und Regelmäßigkeit der DNS-Struktur. Chemiker hatten gezeigt, daß die DNS ein Polymer ist, in dem Phosphat- und Desoxyribose-Reste, durch 3- und 5-Bindungen miteinander verknüpft, regelmäßig abwechseln. *Chargaff* [6] entdeckte eine weitere wichtige Gesetzmäßigkeit: obwohl die Sequenz der Basen in einer Polynucleotidkette sehr kompliziert ist und obwohl die Zusammensetzung der DNS stark mit ihrer Herkunft wechselt, ist das Zahlenverhältnis Adenin:Thymin stets 1:1, und gleiches gilt für Guanin und Cytosin. Mit dem Elektronenmikroskop erkennt man DNS als einheitlichen, unverzweigten Faden, der einen Durchmesser von etwa 20 Å hat. *Signer*, *Caspersson* und *Hammarsten* [7] zeigten durch Messung der Strömungsdoppelbrechung, daß die Molekülebenen der Basen zur Achse der zwi- r- n- ähnlichen DNS-Molekel ungefähr senkrecht stehen. Messungen des UV-Dichroismus führten zum gleichen Ergebnis und zeigten deutlich eine parallele Anordnung der DNS in Spermatozoenköpfen.

Schmidt [8] und *Patri* [9] hatten die bemerkenswerte Ordnung des genetischen Materials in Spermatozoenköpfen schon früher optisch untersucht. *Astbury* [10] photographierte die Röntgenbeugung von DNS-Fasern und fand Hinweise für eine beträchtliche Regelmäßigkeit im Molekül. Als Ursache für den starken 3,4-Å-Reflex nahm er richtig eine Stapelung ebener Basen an. *Gulland* und *Jordan* [11] konnten durch elektrotitrimetrische Studien zeigen, daß die Basen durch Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sind, und *Gulland* [12] schlug bereits vor, daß die Polynucleotidketten durch diese Wasserstoffbrücken zu vielkettigen Micellen vereinigt sein könnten.

Gleichzeitig mit der erstaunlichen Entdeckung, daß eine reine chemische Substanz eine so bedeutende biologische Aktivität hat, wuchs also die vielseitige Kenntnis von der Natur dieser Substanz. Inzwischen war es gelungen, detaillierte Beugungsbilder der DNS zu erhalten, und damit war es möglich, die dreidimensionale Konfiguration der Molekel zu beschreiben.

3. Die Notwendigkeit, Röntgenuntersuchungen an der DNS mit der Konstruktion eines Molekülmodells zu verbinden

Sobald gute Beugungsbilder von DNS-Fasern vorhanden waren, wuchs das Interesse. In unserem Laboratorium entwickelte *Alex Stokes* eine Theorie der Streuung an helixförmig gebauter DNS, und *Rosalind Franklin* (die

einige Jahre später auf der Höhe ihrer wissenschaftlichen Karriere starb) trug wesentliches zur Röntgenanalyse bei. Im Laboratorium des Medical Research Council in Cambridge, wo man die Strukturen biologischer Makromoleküle studierte, beschäftigten sich meine Freunde *Francis Crick* und *Jim Watson* mit der DNS. *Watson* war Biologe und hatte über die Reproduktion von Bakteriophagen gearbeitet. Er war sich der Möglichkeiten bewußt, die sich mit der Aufklärung der DNS-Struktur öffnen würden. *Crick's* Interesse galt der Struktur helixförmig gebauter Proteine und dem Agens, das die Proteinsynthese lenkt. Mit der Entdeckung der Protein- α -Helix hatten *Pauling* und *Corey* gezeigt, daß die genaue Konstruktion von Molekülmodellen ein sehr nützliches analytisches Hilfsmittel ist.

Die bei der Röntgenuntersuchung der DNS gesammelten Daten waren nicht so vollständig, daß man aus ihnen ohne Mitwirkung der Stereochemie ein detailliertes Bild der DNS-Struktur hätte ableiten können. Es war klar, daß die Röntgenanalyse durch die Entwicklung eines Molekülmodells ergänzt werden mußte. Wir konzentrierten uns auf eine Erweiterung der Röntgenanalyse, während *Watson* und *Crick* in Cambridge an der Konstruktion eines Modells arbeiteten.

a) Das Paradox der Regelmäßigkeit der DNS-Molekel

Die Schärfe der Beugungsbilder zeigte, daß die DNS äußerst regelmäßig gebaut sein mußte – so regelmäßig, daß sie kristallisieren kann. Aus den Beugungsbildern folgte weiter eine helixförmige Struktur mit untereinander verzweigten Polynucleotidketten. Man wußte jedoch, daß Purine und Pyrimidine unterschiedlicher Größe längs der Polynucleotidketten in unregelmäßiger Aufeinanderfolge angeordnet sind. Wie konnte eine so unregelmäßige Anordnung eine so regelmäßige Struktur ergeben? Dieses Paradox wies den Weg zur Lösung des Strukturproblems, und die Lösung kam in Form der bekannten Hypothese von *Watson* und *Crick*.

b) Die Helixstruktur der DNS

Der Schlüssel zur Molekülstruktur der DNS war die Entdeckung von *Watson* und *Crick* [13, 14], daß bei paarweiser Verknüpfung der Basen durch Wasserstoffbrücken die Dimensionen der Paare Adenin/Thymin und Guanin/Cytosin übereinstimmen. Das bedeutete, daß DNS-Molekeln, die diese Basenpaare enthalten, trotz unregelmäßiger Aufeinanderfolge der Basen regelmäßige Strukturen haben können. *Watson* und *Crick* schlugen vor, daß jede DNS-Molekel aus zwei Polynucleotidketten besteht, deren einander gegenüberliegende Basen durch Wasserstoffbrücken verknüpft sind. Abbildung 2 zeigt diese Basenpaare. Der Abstand zwischen den Bindungen, mit denen diese Basen an den

[6] *E. Chargaff*, *Experientia* 6, 201 (1950).

[7] *R. Signer*, *T. Caspersson* u. *E. Hammarsten*, *Nature* (London) 141, 122 (1938).

[8] *W. J. Schmidt*: Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Zytoplasma und Metaplasma. Berlin 1937.

[9] *H. O. E. Patri*, *Z. Zellforsch. mikroskop. Anatom.* 16, 723 (1932).

[10] *W. T. Astbury*, *Symposia Soc. exp. Biol.* 1, 66 (1947).

[11] *J. M. Gulland* u. *D. O. Jordan*, *Symposia Soc. exp. Biol.* 1, (1947).

[12] *J. M. Gulland*, *Cold Spring Harbor Sympos. quantit. Biol.* 12, 95 (1947).

[13] *J. D. Watson* u. *F. H. Crick*, *Nature* (London) 171, 737 (1953).

[14] *J. D. Watson* u. *F. H. Crick*, *Nature* (London) 171, 964 (1953).

Desoxyribose-Resten hängen, ist (innerhalb einer Ungenauigkeit von etwa $0,1 \text{ \AA}$) für beide Basenpaare genau gleich, und diese Bindungen bilden mit der Verbindungslinie der C-Atome 1 der Desoxyribose-Reste genau

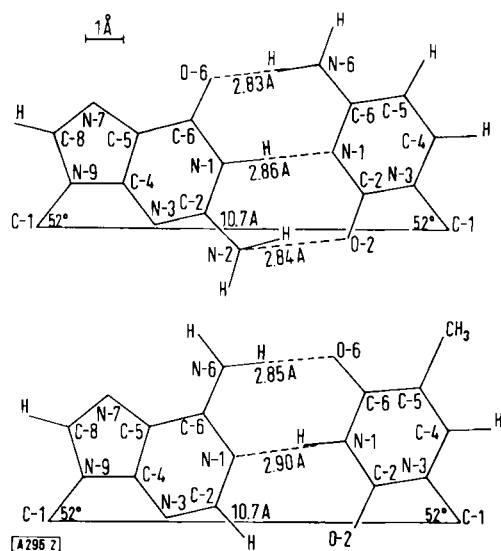


Abb. 2. Von Watson und Crick vorgeschlagene Basenpaare (von S. Arnott modifiziert). Oben: durch Wasserstoffbrücken verknüpft Guanin und Cytosin, unten: Adenin und Thymin. Der Abstand zwischen den C-Atomen 1 der Desoxyribose-Reste beträgt bei beiden Paaren $10,7 \text{ \AA}$, und die Bindungen C(1)-N(9) und C(1)-N(3) bilden mit der Verbindungslinie der C-Atome 1 einen Winkel von 52° .

den gleichen Winkel (Ungenauigkeit etwa 1°). Beide Basenpaare halten also nicht nur die Polynucleotidketten im gleichen Abstand voneinander, sondern ermöglichen wegen der gleichen Winkel auch eine geometrisch vollkommen regelmäßige Anordnung der Desoxyribose- und Phosphat-Reste.

Watson und Crick bauten ein solches aus zwei spiraligen Ketten bestehendes Modell, dessen wichtigste Dimensionen mit denen übereinstimmten, die man aus der Röntgenanalyse errechnete. Eine Polynucleotidkette ist um die andere gewunden, und die Atome haben in der einen Kette in entgegengesetzter Richtung die gleiche Sequenz wie in der anderen Kette. Der Erfolg ist, daß beide Ketten gleich sind, wenn man das untere Ende einer von beiden nach oben kehrt, und daß jedes Nucleotid im Molekül die gleiche Struktur und Umgebung hat. Lediglich die Aufeinanderfolge der Basen ist unregelmäßig. Sie kann in einer Kette ohne Beschränkung variieren, aber die Basenpaarung erfordert, daß einem Adenin-Rest in der einen Kette ein Thymin-Rest in der anderen gegenüber steht (und umgekehrt) und daß gleiches für Guanin und Cytosin gilt. Die Basensequenz einer Kette wird also durch die andere bestimmt, d. h. die Ketten sind komplementär.

Abbildung 3 zeigt die B-Konfiguration einer DNS-Molekel. Die Basen liegen in Abständen von $3,4 \text{ \AA}$ nebeneinander, und ihre Ebenen stehen auf der Achse der Spirale nahezu senkrecht. Die flachen Seiten der Basen können keine Wassermolekeln binden. Daher bestehen auch im wäßrigen Medium zwischen den Basen der DNS anziehende Kräfte, die zusammen mit den Wasserstoffbrücken in den Basenpaaren die Struktur stabilisieren.

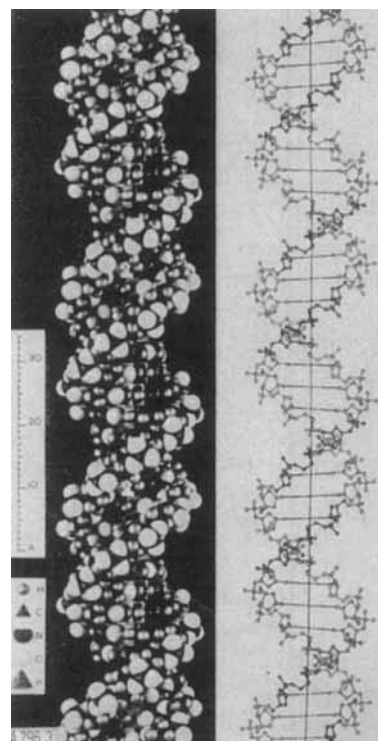


Abb. 3. Links: Kalottenmodell der B-Konfiguration der DNS. Die Größe der Kalotten entspricht dem van der Waalschen Durchmesser der Atome.

Rechts: Schema des Molekülmodells. Die beiden durch Wasserstoffbrücken zusammengehaltenen Polynucleotidketten sind deutlich zu erkennen.

4. DNS-Reduplikation und Informationsübertragung von einer Polynucleotidkette zur anderen

Genetisches Material muß in der Lage sein, exakte Kopien seiner selbst anzufertigen. Andernfalls müßte Wachstum zur Unordnung führen, Leben könnte nicht entstehen, und die Fortentwicklung günstiger Formen durch natürliche Selektion wäre ausgeschlossen. Die Basenpaarung ist das Mittel zur Selbst-Reduplikation [14]. Sie scheint zudem Grundlage der Informationsübertragung während der Proteinsynthese zu sein.

Die genetische Information ist in einem aus vier Elementen bestehenden Code in der Basensequenz längs der Polynucleotidkette aufgezeichnet. Sie kann von einer Kette zur anderen übertragen werden, indem die erste Kette als Matrize für die Anordnung der Nucleotide der zweiten Kette dient. Sofern die so gebildete, aus zwei Ketten bestehende Molekel vollkommen regelmäßig ist, muß die neue Kette zur ursprünglich vorhandenen komplementär sein. Nach einer Trennung der beiden Ketten kann auch die neu synthetisierte als Matrize wirken. Eine an ihr entstehende Kette stimmt mit der ursprünglich vorhandenen überein. Offensichtlich ist dieser Prozeß also zur Reduplikation einer DNS-Kette brauchbar. Er eignet sich aber auch zur Übertragung der genetischen Information von einer DNS-Kette auf eine RNS-Kette, ein Vorgang, der wahrscheinlich bei der Bildung der messenger-RNS auftritt.

Die Basenpaarung ermöglicht schließlich auch die spezifische Aneinanderlagerung von Polynucleotidketten.

Auf diese Weise können sich Aminosäuren in bestimmten Sequenzen zu Proteinen zusammenfügen lassen: jede Aminosäure wird an ein Molekül einer für sie spezifischen Überträger-RNS (transfer-RNS) gebunden, und diese Molekeln lagern sich in der Reihenfolge an eine code-tragende Polynucleotidkette an, die deren Basensequenz bestimmt.

Seit *Watson* und *Crick* 1953 die Basenpaare beschrieben, sind neue Werte für die Größe der Purine und Pyrimidine und für die Länge der Wasserstoffbrücken bekannt geworden. Wir haben diese Werte in Abb. 2 bereits berücksichtigt. So beträgt der Abstand zwischen den C-Atomen 1 der Desoxyribose-Reste 10,7 Å und nicht 11,0 Å, denn es hat sich gezeigt, daß eine N-H...N-Bindung um 0,2 Å kürzer ist, wenn die N-Atome in Ringen stehen, als wenn dies nicht der Fall ist. Die Wasserstoffbrücken zwischen den Basen sind nahezu vollkommen linear, und ihre Längen sind die gleichen wie bei kristallisierten Verbindungen (die Längen variieren um etwa 0,04 Å).

Die bemerkenswerte Präzision im Bau der Basenpaare ist ein Ausdruck für die Genauigkeit der DNS-Reduplikation. Man fragt sich aber, wie diese Genauigkeit zustandekommt, denn die Energie für eine Verdrehung der Basenpaare und damit für eine Verminderung der Perfektion ist wahrscheinlich nicht größer als ein Quantum thermischer Energie. Eine Erklärung ließe sich vielleicht in der großen Zahl der Basenpaare sehen, die an der Reduplikation beteiligt sind. Es sei aber betont, daß die Spezifität der Basenpaarung davon abhängt, daß die Bindungen zwischen Basen und Desoxyribose-Resten räumlich in der richtigen Beziehung zueinander stehen. Möglicherweise bestimmt das DNS-polymerisierende Enzym diese Beziehung. Wie aber auch immer der Mechanismus dieses Vorgangs aussehen mag, die genaue Äquivalenz in Geometrie und Umgebung eines jeden Nucleotids der Doppelspirale scheint eine Voraussetzung für die Präzision der Reduplikation zu sein. Fehler müssen entstehen, wenn sich Protonen, die an Wasserstoffbrücken beteiligt sind, tautomer verschieben können oder wenn Basen chemisch verändert werden. Solche Fehler können Mutationen entsprechen.

5. Universalität und Konstanz der spiraligen DNS-Struktur

Nachdem wir unsere ersten Röntgenanalysen ausgeführt hatten, schickte mir *Leonard Hamilton* eine DNS-Probe, die er und *Ralph Barclay* aus Leucocyten eines Patienten mit chronischer Knochenmarksleukämie isoliert hatten. Er untersuchte den Nucleinsäure-Stoffwechsel des Menschen in Beziehung zum Krebs und hatte die DNS isoliert, um sie mit normaler Leucocyten-DNS zu vergleichen. Seine DNS gab ein gut ausgeprägtes Beugungsbild. Damit begann eine viele Jahre währende Zusammenarbeit, die uns die Möglichkeit gab, an vielen Salzen der von *Hamilton* gelieferten DNS die Richtigkeit der Doppelhelix zu erweisen. *Hamilton* isolierte DNS aus vielen verschiedenen Species und Geweben, und wir konnten zeigen, daß sie die Struktur einer Doppelhelix hat, einerlei, ob sie aus Sperma und Bakteriophagen oder aus Zellen stammte, die in langsamer oder rascher Teilung begriffen waren oder Protein sezernier-

ten [15]. Wir fanden hinsichtlich der Struktur keinen Unterschied zwischen der DNS aus normalem und krebsartigem Gewebe oder zwischen den im Basengehalt verschiedenen Fraktionen von Kalbsthymus-DNS. Zusammen mit *Harriet Ephrussi-Taylor* haben wir auch das transformierende Agens aus *Pneumococci* untersucht und die gleiche DNS-Struktur gefunden. Die einzige bisher bekannte Ausnahme machen einige sehr kleine Bakteriophagen, deren DNS einsträngig ist. Auch DNS mit einem ungewöhnlich hohen Adeningehalt oder mit Glucose am Hydroxymethylcytosin kristallisiert anders.

6. Die DNS-Struktur ist kein Kunstprodukt

Es schien uns nicht genug, die Beugungsbilder isolierter DNS zu studieren. Möglicherweise unterschied sich isolierte DNS von der in vivo, die meist zusammen mit Protein auftritt. Optische Untersuchungen hatten in Spermaköpfen eine deutliche molekulare Ordnung ergeben. Diese sollten sich daher zur Röntgenanalyse eignen, während die Chromosomen der meisten Zellen komplizierte Objekte sind, die kaum Zeichen einer geordneten Struktur erkennen lassen. *Randall* hatte sich für diese Fragen seit einigen Jahren interessiert und hatte *Gosling* zur Untersuchung von Widder-Sperma veranlaßt. Stäbchenförmiges Cephalopoden-Sperma, dessen hohe optische Anisotropie *Schmidt* nachgewiesen hatte, schien ein besonders günstiges Objekt für die Röntgenanalyse zu sein. *Rinne* [16] hatte bei seinen Untersuchungen über flüssige Kristalle bereits einige Beugungsbilder dieses Spermas photographiert. Aber vermutlich war seine Technik unzureichend gewesen, denn er kam zu der falschen Folgerung, das Nucleoprotein dieser Objekte sei flüssig-kristallin. Unsere Röntgen-

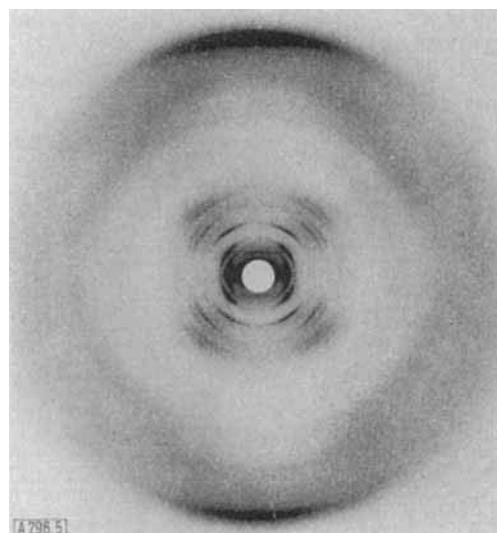


Abb. 4. Beugungsbild von Cephalopoden-Sperma. Die Achsen der DNS-Molekeln im Spermakopf stehen senkrecht. Die starken Reflexe oben und unten entsprechen dem Nucleotid-Abstand von 3,4 Å. Die scharfen Reflexe im mittleren Teil des Bildes zeigen die kristalline Anordnung der Molekeln.

[15] L. D. Hamilton, R. K. Barclay, M. H. F. Wilkins, G. L. Brown, H. R. Wilson, D. A. Marvin, H. Ephrussi-Taylor u. N. S. Simmons, *J. biophysic. biochem. Cytol.* 5, 397 (1959).

[16] F. Rinne, *Trans. Faraday Soc.* 29, 1016 (1933).

bilder [17] zeigten deutlich eine dreidimensionale Ordnung, d.h. das Material in den Spermaköpfen mußte kristallin und nicht flüssig-kristallin sein. Das Beugungsbild (Abb. 4) ähnelt weitgehend dem isolierter DNS (Abb. 5), woraus folgt, daß die Struktur in den Fasern aus gereinigter DNS kein Kunstprodukt ist. Während eines Aufenthaltes an der Stazione Zoologica in Neapel fand ich, daß sich auch Spermaköpfe zu Fasern orientieren lassen. Intakte, feuchte Spermatozoen, geben gute Beugungsbilder, und DNS-ähnliche Röntgenbilder erhielten wir auch vom Bakteriophagen T 2, den Watson uns zur Verfügung stellte.

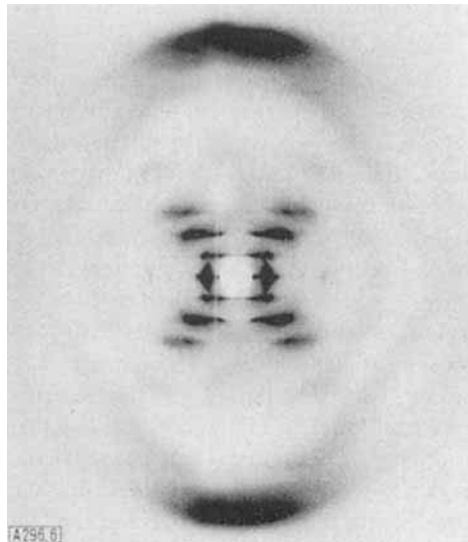


Abb. 5. Beugungsbild von DNS-Fasern (B-Konfiguration) bei hohem Feuchtigkeitsgehalt. Die Fasern stehen senkrecht. Die 3,4-Å-Reflexe befinden sich am oberen und unteren Bildrand. Der Winkel in der X-förmigen Anordnung der mittleren Reflexe entspricht dem konstanten Steigungswinkel der Polynucleotidketten in den spiralig gebauten Molekeln. (Aufnahme gemeinsam mit H. R. Wilson; die DNS stammte von L. D. Hamilton).

[17] M. H. F. Wilkins u. J. T. Randall, *Biochim. biophysica Acta* 10, 192 (1953).

7. Beugungsbilder der DNS und die verschiedenen Konfigurationen der Molekel

Nur die Röntgenanalyse gibt detaillierte Auskunft über die Konfiguration der DNS-Molekel. Optische Verfahren, obwohl als Ergänzung nützlich, gestatten nur begrenzte Aussagen – besonders über die Orientierung von Bindungen und Gruppen. Die Röntgenanalyse spielte bei der Strukturaufklärung der DNS zweimal eine Rolle: zunächst ermöglichte sie die Konstruktion des Watson-Crick-Modells und dann zeigte sie, daß dieses Modell im wesentlichen zutraf, und half, es zu vervollkommen und zu verfeinern.

Bemerkenswert ist, daß die DNS-Molekeln in zahlreichen Konfigurationen auftreten können, von deren jeder es mehrere Kristallformen gibt [vgl. 18, 19]. Konformation und Kristallform werden im wesentlichen durch den Wasser- und Salzgehalt der DNS-Fasern sowie durch die Kationen bestimmt, die an den Phosphatgruppen stehen (Tabelle 1).

Ich werde die drei wichtigsten Konfigurationen kurz beschreiben. Die Tatsache, daß sich die Ergebnisse der Röntgenanalyse in allen Fällen zufriedenstellend mit Hilfe des Watson-Crick-Modells deuten lassen, spricht überzeugend für die Richtigkeit dieses Strukturvorschlags. Im Prinzip variiert man das Modell so lange, bis die berechneten Intensitäten der Reflexe mit den gemessenen übereinstimmen [18].

Wie fast immer bei der Röntgenanalyse, kennt man nur die Intensitäten und nicht auch die Phasen der Reflexe. Die Struktur läßt sich daher nicht direkt ableiten. Ist die Auflösung groß genug, so daß sich die meisten Atome der Struktur unterscheiden lassen, so benötigt man keine weiteren stereochemischen Annahmen als die, daß die Substanz aus Atomen der bekannten mittleren Größe besteht. Bei der DNS genügen die Ergebnisse der Röntgenanalyse allein jedoch nicht, um

[18] R. Langridge, H. R. Wilson, C. W. Hooper, M. H. F. Wilkins u. L. D. Hamilton, *J. molec. Biol.* 2, 19 (1960).

[19] M. H. F. Wilkins, *J. Chimie physique* 1961, 891.

Tabelle 1. Konfigurationen und Kristallformen von DNS-Fasern

Konfig.	Nucleotide pro Spiralwindung	Neigung d. Basenpaare gegen die Achse	Kation	Bedingungen [*]	Kristallklasse	Kristallinität	Punktlagen	Dimensionen der Elementarzelle			
								a [Å]	b [Å]	c [Å]	β [°]
A	11,0	20 °	Na, K, Rb	75 % r. F.	monoklin	kristallin	0, 0, 0 $\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0$	22,24	40,62	28,15	97,0
B	10	ca. 0 °	Li	66 % r. F. 3 % LiCl i. d. Faser	orthorhomb.	kristallin	0, 0, $\frac{1}{6}$ $\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, -\frac{1}{6}$	22,5	30,9	33,7	—
			Li	75–90 % r. F.	orthorhomb.	teilw. kristallin	0, 0, $\frac{1}{8}$ $\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, -\frac{1}{8}$	24,4	38,5	33,6	—
			Li, Na, K, Rb	92 % r. F.	hexagonal	teilw. kristallin	0, 0, 0 $\frac{1}{3}, \frac{2}{3}, \frac{1}{6}$ $\frac{1}{3}, \frac{1}{3}, -\frac{1}{6}$	46	—	34,6	—
B ₂	9,9	0 ° (?)	Na	75 % r. F. unter Spannung	tetragonal	teilw. kristallin	0, 0, 0 $\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}$	27,4	—	33,8	—
C	9,3	–5 °	Li	44 % r. F. kein LiCl	orthorhomb.	teilw. kristallin	0, 0, $\frac{1}{8}$ $\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, -\frac{1}{8}$	20,1	31,9	30,9	—
			Li	44 % r. F. [**] kein LiCl	hexagonal	teilw. kristallin	0, 0, 0 od. $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{3}, \frac{2}{3}, \frac{1}{6}$ od. $-\frac{1}{3}$ $\frac{2}{3}, \frac{1}{3}, -\frac{1}{6}$ od. $\frac{1}{3}$	35,0	—	30,9	—

[*] r. F. = relative Luftfeuchtigkeit. [**] Diese Form trat nur bei einigen Proben auf

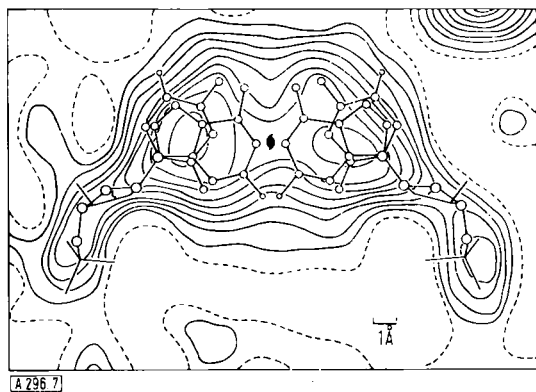


Abb. 6. Verteilung der Elektronendichte in der Ebene eines Basenpaares der B-Konfiguration der DNS (Fourier-Synthese von S. Arnott). Die Verteilung entspricht einem „durchschnittlichen“ Basenpaar. Die Zeichnung läßt die Umrisse des Basenpaares erkennen, die einzelnen Atome lassen sich auf Grund der Fourier-Synthese jedoch nicht unterscheiden. (Die Fourier-Synthese wird gegenwärtig erweitert, was zu einer Verbesserung der Zeichnung führen dürfte.)

Linienabstand: $2 \text{ e}/\text{\AA}^3$.

Die Null-Linie ist gestrichelt.

alle Atome zu unterscheiden und zu lokalisieren (Abb. 6). Daher sind hier umfangreiche stereochemische Annahmen notwendig, d.h. man muß ein Molekülmodell konstruieren. In den meisten Fällen gibt es zu diesen Annahmen keine Alternativen; wo aber Alternativen möglich sind, muß die Röntgenanalyse entscheiden, welche richtig ist. Mit anderen Worten: man muß zu zeigen versuchen, daß sich nur die vorgeschlagene Struktur mit den Ergebnissen der Röntgenanalyse vereinbaren läßt. Unsere Arbeit der letzten Jahre war zum größten Teil auf dieses Ziel gerichtet. Um einigermaßen sicher sein zu können, daß die angenommene DNS-Struktur richtig ist, mußten so viele Röntgendaten wie möglich gesammelt werden.

a) Die B-Konfiguration

Abbildung 7 zeigt das Beugungsbild einer DNS-Faser bei hohem Feuchtigkeitsgehalt. Die Molekeln sind durch Wasser getrennt und in ihrem Verhalten weitgehend voneinander unabhängig. Wir haben die DNS unter diesen Bedingungen nicht sehr intensiv untersucht. Das Beugungsbild ließe sich verbessern, ist aber bereits einigermaßen deutlich, und die Schärfe vieler Reflexe zeigt, daß die Molekeln eine regelmäßige Struktur haben. Sie wird als B-Konfiguration bezeichnet, ein Modell zeigt die Abbildung 3. Diese Konfiguration tritt in vivo auf und offenbar auch in wässriger Lösung. Sie enthält zehn Nucleotide pro Spiralwindung, doch gibt es für diese Ganzzahligkeit keinen offensichtlichen strukturellen Grund. Sollte die Zahl tatsächlich genau zehn sein, so ist noch nicht klar, ob dem irgendeine Bedeutung zukommt.

Bei der Kristallisation kann die DNS-Molekel eine zusätzliche Regelmäßigkeit gewinnen. Die periodische Anordnung der Molekeln in den Mikrokristallen der DNS-Faser verursacht eine Aufspaltung des Beugungsbildes in scharfe Reflexe, die den Gitterebenen entsprechen (Abb. 7). Durch sorgfältige Vermessung der Reflexlagen und durch Ableitung des Kristallgitters lassen sich die Richtungen der Reflexe in drei Dimensionen identifizieren. Faserförmige Stoffe geben meist Beugungsbilder nach Art der Abbildung 5, aus denen sich nur eine zweidimensionale Struktur ableiten läßt. Im Gegensatz dazu

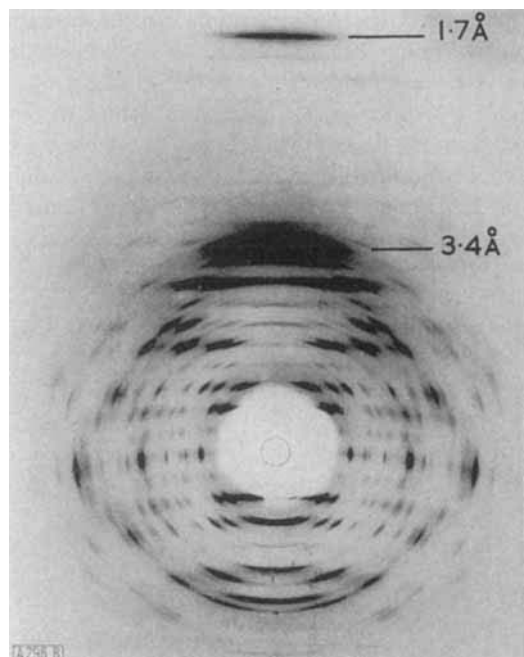


Abb. 7. Beugungsbild mikrokristalliner DNS-Fasern. Die allgemeine Intensitätsverteilung ähnelt der in Abbildung 5. Infolge der regelmäßigen Anordnung der Molekeln in den Kristallen treten jetzt aber zahlreiche scharfe Reflexe auf. Sie lassen noch Abstände bis herab zu $1,7 \text{ \AA}$ erkennen. (Aufnahme gemeinsam mit N. Chard; die DNS stammte von L. D. Hamilton).

gleichen die Beugungsbilder kristalliner DNS-Fasern denen einzelner Kristalle und ermöglichen die Anwendung einer dreidimensionalen Fourier-Synthese (Abb. 6).

b) Die A-Konfiguration

In der A-Konfiguration hat die DNS-Molekel elf Nucleotide pro Spiralwindung, und die Ganghöhe beträgt 28 \AA . Die relativen Positionen und Orientierungen der Basen, Desoxyribose- und Phosphat-Reste unterscheiden sich beträchtlich von denen der B-Konfiguration.

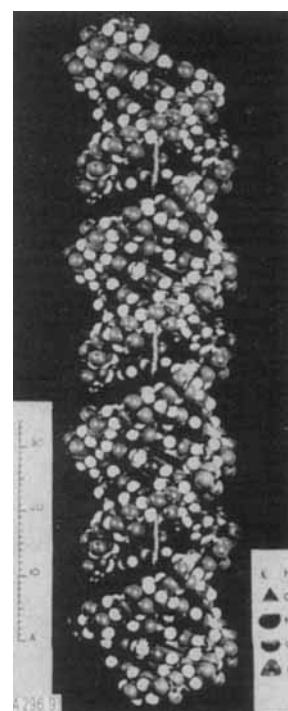


Abb. 8. Kalottenmodell der A-Konfiguration der DNS. Man erkennt, daß die Basenpaare um 20° gegen die Horizontale geneigt sind.

Insonderheit weicht die Stellung der Basenpaare zur Spiralachse um 20° von der Senkrechten ab (Abb. 8). Die A-Konfiguration wurde zuerst entdeckt (Abb. 1). Man hat sie in vivo noch nicht beobachtet, ihr kommt aber dennoch Bedeutung zu, denn helixförmig gebaute Ribonucleinsäure (RNS) hat eine ähnliche Konfiguration. Einzelheiten über die A-Konfiguration der DNS werden in Kürze veröffentlicht. Abbildung 9 zeigt ein gutes Beugungsbild.

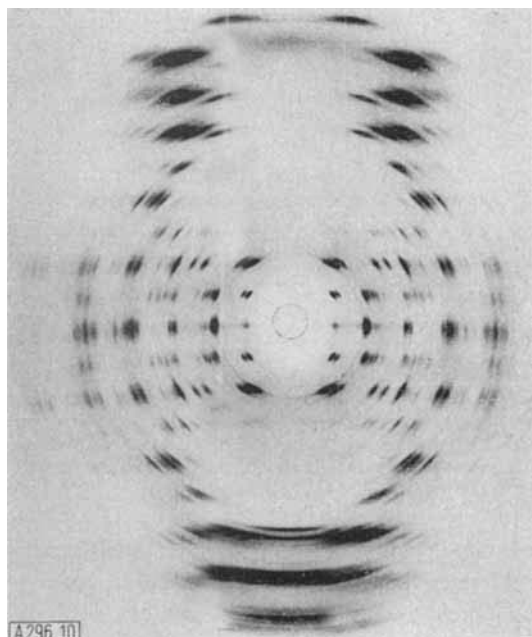


Abb. 9. Beugungsbild mikrokristalliner DNS-Fasern in der A-Konfiguration. (Aufnahme gemeinsam mit H. R. Wilson; die DNS stammte von L. D. Hamilton).

c) Die C-Konfiguration

Diese Form ist ein durch teilweises Trocknen hervorge-rufenes Kunstprodukt. Die Helix ist mit $9\frac{1}{3}$ Nucleotiden pro Windung nicht ganzzahlig. Die DNS-Ketten lagern sich zu einer nur teilweise kristallinen Struktur zusammen. Zwischen den Positionen der Nucleotide in verschiedenen Molekeln besteht keine besondere Beziehung. Die Konformationen der einzelnen Nucleotide sind denen in der B-Konfiguration sehr ähnlich. Unterschiede zwischen den Beugungsbildern der B- und C-Formen lassen sich durch die verschiedenen Positionen der Nucleotide in den Helices erklären.

Ein Vergleich der Konfigurationen bringt eine zusätzliche Bestätigung für die Richtigkeit der vorgeschlagenen Struktur. Man befindet sich ungefähr in der Lage jemandes, der den Bau eines Klappstuhles aus dessen Schatten ableiten will: eine kleine Änderung der „Konfiguration“ des Stuhles macht seine „Struktur“ deutlicher.

8. Die Helix-Struktur der RNS

Im Gegensatz zur DNS erhielten wir von RNS-Proben allen Anstrengungen zum Trotz nur schlechte Beugungsbilder. Es gab jedoch viele Anzeichen dafür, daß die RNS spiralig gebaute Abschnitte enthält: beispiels-

weise ließen die optischen Eigenschaften von RNS-Lösungen [vgl. 20] vermuten, daß Teile der RNS-Molekeln ebenso wie DNS aufeinander „gestapelte“ Basen und eine Helix-Struktur aufweisen. Röntgenanalysen synthetischer Polyribonucleotide ergaben gleichfalls eine Ähnlichkeit zwischen RNS und DNS [21]. Beugungsbilder der RNS [22] entsprachen im großen und ganzen denen der DNS, aber die Reflexe waren schlecht ausgeprägt, desorientiert und diffus. Eine bedeutende Schwierigkeit bestand im Auftreten starker Meridian-Reflexe bei 3,3 und 4 Å, die sich mit einer Helix-Struktur nicht deuten ließen.

Unsere ersten RNS-Präparate waren oft sehr inhomogen. Wir hofften, die homogenere RNS pflanzlicher Viren würde bessere Beugungsbilder geben, aber das war nicht der Fall. Als dann Ribosomen-RNS und lösliche RNS zur Verfügung standen, wurden die Aussichten besser. Wir konzentrierten uns auf die lösliche RNS, vor allem weil *Geoffrey Brown* in unserem Laboratorium für seine physikalischen und chemischen Untersuchungen große Mengen hochgereinigter Überträger-RNS (transfer-RNS) herstellte und sie in Fraktionen zerlegte, die für den Einbau einzelner Aminosäuren in Proteine spezifisch sind. Diese RNS erschien auch aus anderen Gründen brauchbar: die Molekeln sind für eine Nucleinsäure ungewöhnlich klein, es gab Anzeichen für eine regelmäßige Struktur, die Verbindungen spielen biologisch eine bedeutende Rolle und ihre Funktion war bereits teilweise bekannt.

Es erwies sich als sehr schwierig, Überträger-RNS zu Fasern zu orientieren. Durch vorsichtiges Strecken von RNS-Gelen in trockener Atmosphäre gelang es mir jedoch, unter einem Seziernmikroskop Fasern herzustellen, deren Doppelbrechung ebenso groß war wie die von DNS-Fasern. Aber die Beugungsbilder, die diese RNS-Fasern gaben, waren nicht besser als die anderer RNS-Proben, und die Molekeln verloren ihre Orientierung, sobald der Feuchtigkeitsgehalt der Fasern stieg.

Watson Fuller, Michael Spencer und ich versuchten viele Monate lang, bessere Proben zu erhalten. Der Erfolg war gering, bis *Spencer* eine Probe fand, deren wie üblich diffuses Beugungsbild zusätzlich einige schwache, aber scharfe Ringe enthielt. Diese Probe bestand aus einem RNS-Gel, das für die Röntgenuntersuchung eingeschmolzen worden war und infolge eines kleinen Loches in der Umhüllung hatte langsam trocknen können. Die Interferenzringe waren so scharf, daß wir als ihre Ursache zunächst eine kristalline Verunreinigung annahmen – ein bei der Röntgenanalyse biochemischer Präparate bekanntes Übel. Auch eine mit DNS verunreinigte RNS-Probe hatte schon sehr ähnliche Ringe ergeben, so daß wir uns nicht allzu viel erhofften. Nach einigen Wochen war es *Spencer* dann aber gelungen, alle anderen Möglichkeiten auszuschließen, und es schien sicher zu sein, daß man die Ringe der RNS selbst zuzuschreiben hatte. Durch kontrolliertes, langsames Trocknen konnte er die Intensität der Ringe steigern.

[20] P. Doty, Biochem. Soc. Symposia 21, 8 (1961).

[21] A. Rich in: A Symposium on Molecular Biology. University of Chicago Press, Chicago 1959, S. 47.

[22] A. Rich u. J. D. Watson, Nature (London) 173, 995 (1954).

Und Fuller gelang es, mit den zum Strecken der RNS entwickelten verfeinerten Mitteln, langsam konzentrierte Gele zu orientieren, ohne die Kristallinität zu zerstören. Diese Fasern gaben deutlich ausgeprägte Beugungsbilder, und ihre Orientierung verschwand nicht,

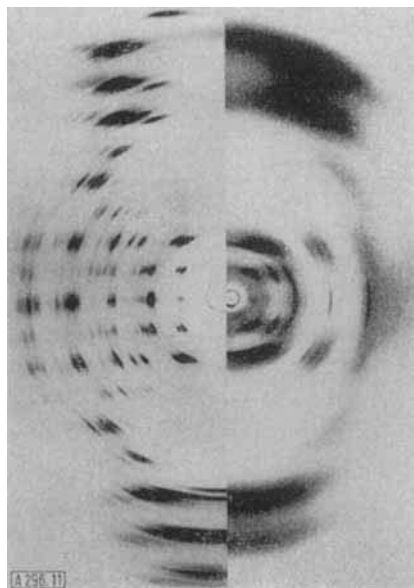


Abb. 10. Vergleich der Beugungsbilder von DNS-Fasern in der A-Konfiguration (links) und von Überträger-RNS (rechts). Die allgemeine Intensitätsverteilung ist in beiden Bildern sehr ähnlich, aber die Lagen der scharfen Kristallinitätsreflexe unterscheiden sich infolge der verschiedenen Packung der Molekeln in den Kristallen. (Aufnahme gemeinsam mit W. Fuller und M. Spencer; die RNS stammte von G. L. Brown).

wenn man sie befeuchtete. Es schien, als hätte das von mir früher angewendete Verfahren, die Fasern so stark wie möglich zu strecken, die Kristallinität zerstört. Ließ man das Material statt dessen erst langsam kristallisieren, so wurden die Mikrokristalle und die darin enthaltenen RNS-Molekeln beim Strecken orientiert. Einzelne Molekeln sind zu klein, als daß sie sich orientieren ließen, es sei denn, sie wären durch Kristallisation aggregiert. Es war recht unerwartet, daß von all den vielen RNS-Arten, die wir ausprobiert hatten, ausgerechnet

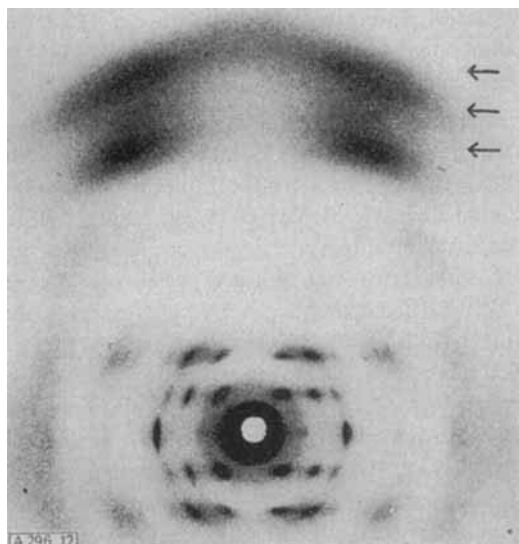


Abb. 11. Beugungsbild von Überträger-RNS. Man erkennt die Auflösung der Reflexe bei 3,3 und 4 Å in drei Schichtlinien (Pfeile), die denen im Beugungsbild der A-Konfiguration der DNS entsprechen. (Aufnahme gemeinsam mit W. Fuller und M. Spencer; die RNS stammte von G. L. Brown).

Überträger-RNS, d.h. die mit dem geringsten Molekulargewicht, am besten orientiert werden konnte.

Die Beugungsbilder der Überträger-RNS waren deutlich ausgeprägt [23]. Sie zeigten eine erstaunliche Ähnlichkeit mit denen der A-Konfiguration von DNS (Abb. 10). Auch das Problem der zwei Reflexe bei 3,3 und 4 Å klärte sich (Abb. 11): Im Beugungsbild der RNS haben die Reflexe auf drei Schichtlinien andere Positionen als im Beugungsbild der DNS. In Beugungsbildern schlecht orientierter Proben überlappen sich diese drei Reflexe und rufen den Eindruck von zweien hervor. Es gab also keinen Zweifel, daß die RNS eine regelmäßige Helix-Struktur hatte, die fast mit der A-Konfiguration der DNS übereinstimmte. Unterschiede zwischen den Beugungsbildern ließen sich durch geringe Unterschiede in den Strukturen erklären.

Eine wichtige Folgerung aus dieser strukturellen Ähnlichkeit ist, daß es auch in der RNS Basen-Sequenzen geben muß, die zum großen Teil oder vollständig zueinander komplementär sind. Eine Molekel Überträger-RNS enthält etwa 80 Nucleotide. Die einfachste mit der

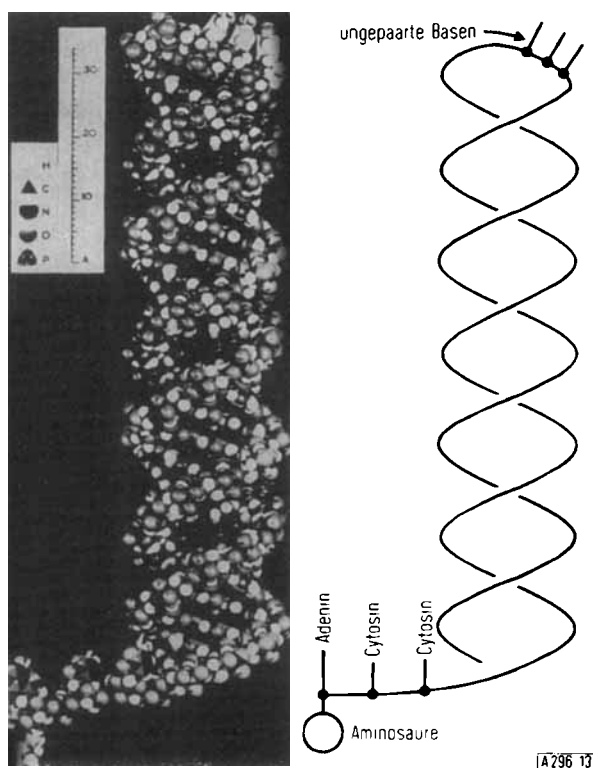


Abb. 12. Kalottenmodell und Schema einer Molekel der Überträger-RNS.

Röntgenanalyse vereinbare Struktur wäre die einer einzelnen, in sich zurückgefalteten Polynucleotidkette, deren Hälften durch Basenpaarung miteinander verknüpft sind. Abbildung 12 zeigt ein Modell. Während die Helix-Struktur sicher zutrifft, wissen wir nicht, ob die Enden der Kette tatsächlich mit einem Ende der Molekel zusammenfallen. Die Kette könnte auch zweimal gefaltet sein, so daß ihre Enden irgendwo längs der Helix liegen. Es ist bekannt, daß die Aminosäure, die von der RNS übertragen wird, an dem Kettenende steht, das in der Sequenz Cytosin-Cytosin-Adenin ausläuft.

[23] M. Spencer, W. Fuller, M. H. F. Wilkins u. G. L. Brown, *Nature* (London) 194, 1014 (1962).

9. Beziehung zwischen Struktur und Funktion der RNS

Molekülmodelle zeigen, daß sich an der Faltstelle einer Kette der Überträger-RNS drei oder mehr Nucleotide befinden. In dem Modell, das die Abb. 12 zeigt, besteht die Faltstelle aus drei Nucleotiden, deren Basen nicht gepaart sind. Möglicherweise lagert sich die Molekel mit diesem Basen-Triplett an die entsprechende Stelle derjenigen RNS-Kette an, welche die Aminosäure-Sequenz des Proteins bestimmt. Man nimmt an, daß in der code-tragenden RNS jeder Aminosäure ein Basen-Triplett entspricht. Das Triplett in der Überträger-RNS könnte sich unter Bildung von Wasserstoffbrücken spezifisch an dieses Triplett anlagern, das als Chiffre für die übertragene Aminosäure steht. Es sei aber betont, daß es sich hier um Spekulationen handelt.

Wir nehmen an, daß ein Teil der Überträger-RNS-Molekel spezifisch mit dem Enzym in Wechselwirkung tritt, das die Bindung zur Aminosäure vermittelt. Aber wir wissen nicht, wie das geschieht. Ebenso wissen wir kaum etwas über die Wechselwirkung zwischen der RNS und dem RNS-reduplizierenden Enzym oder über andere Aspekte der RNS-Reduplikation. Daß in der Überträger-RNS komplementäre Basen-Sequenzen auftreten, läßt an die Möglichkeit denken, daß sie sich wie die DNS selbst redupliziert, aber es gibt gegenwärtig kaum einen Hinweis darauf. Die Beugungsbilder von RNS aus Viren und Ribosomen zeigen gleichfalls Gebiete helixförmiger Struktur, doch ist auch deren Funktion noch unbekannt.

Bei der DNS führte die Entdeckung ihrer Struktur unmittelbar zu einer Hypothese über ihre Reduplikation. Das war möglich infolge der Einfachheit dieser Struktur. Im allgemeinen scheinen molekulare Struktur und Funktion weniger direkt zusammenzuhängen. Der Nachweis einer helixförmigen Konfiguration bei RNS-Molekeln ist ein Schritt zur Deutung der RNS-Funktion. Es wird aber eingehenderer Kenntnisse bedürfen, beispielsweise der Basensequenz und der Wechselwirkung zwischen den verschiedenen RNS-Arten in den Ribosomen, um ein vollständiges Bild von der Funktion der RNS zu erhalten.

10. Möglichkeiten zur röntgenographischen Bestimmung der Basen-Sequenz in der Überträger-RNS

Da die biologische Spezifität der Nucleinsäuren offenbar ausschließlich durch ihre Basen-Sequenzen gegeben ist, dürfte die Bestimmung dieser Sequenzen heute das wichtigste Problem der Nucleinsäure-Forschung sein. In einer DNS-Molekel befinden sich zu viele Basen, als daß sich ihre Sequenz durch Röntgenanalyse ermitteln ließe. Die Zahl der Basen in der Überträger-RNS ist dafür jedoch nicht zu groß. Die Möglichkeit einer vollständigen Strukturanalyse der Überträger-RNS mit Röntgenstrahlen ergibt sich aus zwei Beobachtungen:

In den Beugungsbildern der Überträger-RNS (Abb. 13) findet man Reflexe, deren jeder einem einzelnen RNS-Kristall entspricht. Wir schätzen die Größe dieser Kristalle auf 10μ und konnten diese Abschätzung durch die Beobachtung doppelbrechender Regionen mit dem Polarisationsmikroskop bestätigen, bei denen es sich wahrscheinlich um die Kristalle handelt. Es sollte nicht zu schwierig sein, Kristalle zu züchten, die um ein Mehrfaches größer und damit groß genug für die Röntgenanalyse einzelner Kristalle sind.

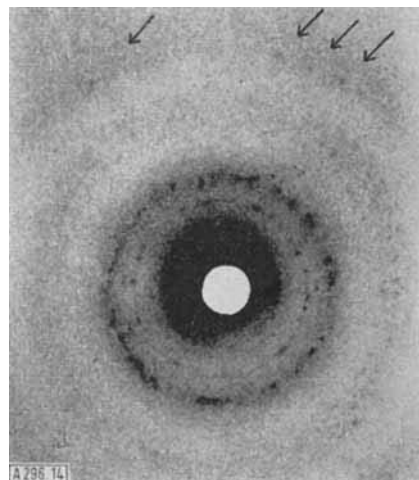


Abb. 13. Beugungsbild nicht orientierter Überträger-RNS. Das Bild zeigt Interferenzringe mit dunklen Flecken, die Reflexe von einzelnen RNS-Kristallen sind. Die Pfeile weisen auf Reflexe von Ebenen, deren Abstand etwa 6 Å beträgt.

Die zweite ermutigende Beobachtung ist, daß die begrenzte Auflösung der DNS-Röntgenbilder fast ausschließlich zu Lasten der Desorientierung der Mikrokristalle in den DNS-Fasern geht. Intensitätsmessungen sprechen dafür, daß der Temperaturfaktor ($B = 4 \text{ Å}^2$) bei der DNS der gleiche ist wie bei einfachen Verbindungen. Die Kristallinität der DNS-Kristalle scheint also recht vollkommen zu sein. Wäre es möglich, DNS-Einkristalle zu züchten, so würden sich aus den Intensitäten der Reflexe alle Atomlagen in der DNS (mit Ausnahme der nicht-periodischen Basensequenz) genau bestimmen lassen.

Wir versuchen zur Zeit DNS-Einkristalle zu züchten, aber das erregendere Problem ist die Züchtung von Einkristallen der Überträger-RNS mit gleicher kristalliner Vollkommenheit wie bei der DNS, mit denen sich die Basensequenz ermitteln ließe. Gegenwärtig sind die RNS-Kristalle noch viel weniger perfekt als die der DNS. Wir haben jedoch bei den meisten Versuchen eine Überträger-RNS verwendet, die aus Nucleinsäuren unterschiedlicher Aminosäure-Spezifität besteht. Nur selten konnten wir mit einer RNS arbeiten, die hauptsächlich für eine Aminosäure spezifisch ist. Wir hoffen, daß es gelingen wird, RNS-Präparate herzustellen, die nur eine Molekelart enthalten. Solche Präparate sollten ebenso gute Kristalle bilden, wie es die DNS tut. Wäre dies der Fall, so stünde einer direkten Analyse der Molekelstruktur – einschließlich der Basensequenz im Inneren und an den Faltstellen der Ketten – nichts mehr im Weg. Vielleicht sind wir zu optimistisch, aber die

jetzt erzielten und eigentlich unerwarteten Erfolge der Röntgenanalyse von Nucleinsäuren und Proteinen geben zum Optimismus guten Grund.

Dank

Während der vergangenen zwölf Jahre haben mir beim Studium der Nucleinsäure-Struktur so viele Menschen geholfen, daß es unmöglich wäre, ihnen allen hier in gerechter Weise Anerkennung zuteil werden zu lassen. Ich muß jedoch einigen ausdrücklich danken:

Sir *John Randall* für seine seit langem gewährte Hilfe und Ermutigung sowie für seine Voraussicht und Energie beim Aufbau und bei der Leitung eines einzigartigen Instituts;

allen meinen Mitarbeitern zu verschiedenen Zeiten der vergangenen zwölf Jahre: zuerst *Raymond Gosling*, *Alex Stokes*, *Bill Seeds* und *Herbert Wilson*; dann *Bob Langridge*, *Clive Hooper*, *Max Feughelman*, *Don Marvin* und *Geoffrey Zubay*; und jetzt *Michael Spencer*, *Watson Fuller* und *Struther Arnott*. Sie alle haben mit viel Geschick, Fähigkeit und Geduld (oft bis in die Nacht hinein) die Röntgenanalysen, die Modellkonstruktionen und die Berechnungen ausgeführt;

meiner verstorbenen Kollegin *Rosalind Franklin*, die mit großem Geschick und großer Erfahrung in der Röntgenanalyse zu den ersten Untersuchungen an der DNS so viel beigetragen hat; *Leonard Hamilton* für seine ständige Ermutigung und freundliche Zusammenarbeit und dafür, daß er uns mit DNS von hoher Qualität in vielen Formen und aus vielen Quellen versorgte;

Geoffrey Brown für moralische und geistige Unterstützung während der vergangenen fünfzehn Jahre und für die Herstellung von RNS für Röntgenanalysen; *Hariett Ephrussi-Taylor* für die Zusammenarbeit bei der Kristallisation des transformierenden Prinzips; den Laboranten, Mechanikern und Photographen, unter ihnen *P. J. Cooper*, *N. Chard*, *J. Hayward*, *Mrs. F. Collier*, *Z. Gabor* und *R. Lerner*, für ihren wertvollen Anteil an der Arbeit in vielen Stadien.

Außerdem möchte ich danken:

dem Medical Research Council für seine weitsichtige und ständige Unterstützung unserer Arbeit; dem King's College als unserer Basis; I.B.M. United Kingdom Limited und I.B.M. World Trade Corporation sowie der London University Computer Unit für ihre Hilfe bei den Berechnungen; der Rockefeller Foundation und The British Empire Cancer Campaign für finanzielle Unterstützung; dem Sloan Kettering Institute, New York, und der Stazione Zoologica, Neapel, für Arbeitsmöglichkeiten.

Ein mehr allgemeiner Dank gebührt:

Francis Crick und *Jim Watson* für anregende Diskussionen; *Norman Simmons* für die Verfeinerung der Verfahren zur Isolierung von DNS, womit er vielen, darunter auch uns, geholfen hat; und ganz besonders *Erwin Chargaff*, der durch seine analytischen Arbeiten und die Entdeckung der gleichen Basenverhältnisse in der DNS die Grundlage für die Strukturuntersuchung der DNS geschaffen hat und der uns Neulingen auf dem Nucleinsäure-Gebiet großzügig half.

Eingegangen am 21. Januar 1963 [A 296]

Übersetzt von Dr. H. Grünewald, Heidelberg

Die Beteiligung der Ribonucleinsäure an der Proteinsynthese

Nobel-Vortrag am 11. Dezember 1962 [*]

VON PROF. DR. J. D. WATSON

BIOLOGICAL LABORATORIES, HARVARD UNIVERSITY,
CAMBRIDGE, MASS. (USA)

Prolog

Ich kam im Herbst 1951 nach Cambridge. *Luria* hatte mir die Zusammenarbeit mit *John Kendrew* vermittelt, obwohl mein Interesse vorher vor allem der Genetik gegolten hatte. Aber ich war der Experimente mit Phagen überdrüssig geworden und wollte mehr über die Struktur der Moleküle wissen, von denen die Genetiker so leidenschaftlich sprachen. Außerdem brauchte *John* [**]

[*] Wir danken dem Autor und dem Nobel-Komitee, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieses Vortrags.

[**] Anmerkung des Übersetzers: Der deutsche Text folgt dem englischen, in dem, amerikanischer Gewohnheit entsprechend, hier und an anderen Stellen nur der Vorname gebraucht wird.

einen Mitarbeiter und hoffte, daß ich ihm bei der Röntgenanalyse des Myoglobins helfen könnte. So wurde ich research student am Clare College, und meine Arbeiten standen unter *Johns* Aufsicht.

Aber schon bald nachdem ich das Cavendish-Laboratorium betreten hatte, wußte ich innerlich, daß ich für *John* nie eine große Hilfe sein würde. Ich hatte nämlich begonnen, mit *Francis Crick* zu diskutieren. Vielleicht hätte mich das Myoglobin auch ohne *Francis* rasch gelangweilt, aber mit ihm als Gesprächspartner war mein Schicksal besiegelt. Wir entdeckten bald, daß wir