

Makromolekulares Kolloquium (vom 25.–27. Februar 1971 in Freiburg)

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Ionen auf Streumassenradius und Struktur von tRNA in Lösung

Von Ingrid Pilz (Vortr.), Otto Kratky, Friedrich von der Haar und Friedrich Cramer^[*]

Da die Primär- und Sekundärstruktur vieler spezifischer Transfer-Ribonucleinsäuren (tRNA) weitgehend bekannt ist, wurde in den letzten Jahren eine Reihe von Modellen für ihre Tertiärstruktur vorgeschlagen. Aus den Atomkoordinaten eines solchen Modells können Streumassenradius und Streukurve berechnet werden. Diese Daten werden mit den experimentellen Werten, die durch Röntgenkleinwinkelstreuung am gelösten Molekül erhalten wurden, verglichen.

Bei diesen Vergleichen tritt folgende Schwierigkeit auf: Die experimentellen Untersuchungen werden in Lösung durchgeführt, und der Einfluß der Ionen- und Wasserhülle auf den Streumassenradius und die Struktur eines Polyelektrolyten wie der tRNA ist wenig bekannt. Es wurden daher Lösungen von phenylalanin-spezifischer tRNA aus Hefe in Gegenwart verschiedener Ionen untersucht. In jeder Lösung war nur eine Art von Ionen vorhanden: in erster Linie wurden Lösungen mit Li^+ -, Cs^+ -, Mg^{2+} - und Ba^{2+} -Ionen studiert. Der Einfluß der Ionen war beträchtlich. Der Streumassenradius von tRNA^{Phe} hatte z. B. in Gegenwart von Li^+ -Ionen den Wert 23.6 Å, bei Cs^+ -Ionen 26.2 Å und bei Ba^{2+} -Ionen 26.3 Å. Diese Ergebnisse zeigen sehr deutlich, daß der Einfluß des Lösungsmittels auf keinen Fall außer acht gelassen werden darf, wenn experimentelle Werte mit aus den Atomkoordinaten der Modelle berechneten Daten verglichen werden.

Außerdem wurde das Schmelzverhalten der tRNA^{Phe} aus Hefe in Gegenwart und in Abwesenheit von Mg^{2+} -Ionen untersucht. Das Aufschmelzen der tRNA-Struktur bei Erhöhung der Temperatur kann anhand der Zunahme des Streumassenradius verfolgt werden. In Gegenwart von Mg^{2+} -Ionen war erst bei deutlich höheren Temperaturen eine Vergrößerung des Streumassenradius zu beobachten.

[*] Doz. Dr. I. Pilz und Prof. Dr. O. Kratky
Institut für physikalische Chemie der Universität
A-8010 Graz, Heinrichstraße 28 (Österreich)
Dr. F. von der Haar und Prof. Dr. F. Cramer
Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin,
Abt. Chemie
34 Göttingen, Hermann-Rein-Straße 3

Untersuchungen an Fragmenten von phenylalanin-spezifischer tRNA

Von Rainer Thiebe^[*]

Die Transfer-Ribonucleinsäuren (tRNAs) stellen unter den Nucleinsäuren eine Gruppe relativ kleiner Moleküle dar. Ihr Molekulargewicht liegt im Bereich 25000–30000, entsprechend einer Kettenlänge von 75–87 Nucleotiden.

Im Verlauf der Proteinbiosynthese werden Aminosäuren mit tRNAs an Matrizen-RNA gebunden. Die Aminosäure-tRNA-Verknüpfung wird durch ein Enzym katalysiert. Die Bindung der tRNAs an die Matrizen-RNA erfolgt über Wasserstoffbrücken. Die Veresterung ist äußerst spezifisch; jeder tRNA entspricht eine der 20 Aminosäuren, und nur mit dieser kann sie durch das Enzym verknüpft werden. Es gibt also, entsprechend den 20 Aminosäuren, mindestens 20 tRNAs^[1].

[*] Dr. R. Thiebe
Institut für Physiologische Chemie der Universität
8 München 15, Goethestraße 33

Etliche tRNAs konnten rein isoliert und sequenziert werden. Vergleicht man die Primärstruktur der bisher analysierten tRNAs, so kann man einige Gesetzmäßigkeiten ableiten. Auf Grund dieser Gesetzmäßigkeiten und einiger experimenteller Befunde ist auf eine gewisse Ähnlichkeit in der Tertiärstruktur zu schließen.

Die Fragen, die uns vor allem interessieren, sind folgende: Wodurch wird die hohe Spezifität bestimmt, mit der die tRNA vom Enzym erkannt wird? Ist dafür die gesamte Struktur oder nur eine bestimmte Region verantwortlich? Wenn es eine bestimmte Region ist, dann welche?

Unter Anwendung von chemischen und enzymatischen Methoden konnte eine Anzahl relativ großer Bruchstücke einer tRNA hergestellt werden. Mit einzelnen isolierten Fragmenten und mit Fragmentkombinationen wurden Experimente zur Beantwortung der genannten Fragen ausgeführt. Durch Weglassen oder Verändern verschiedener Regionen der tRNA wurde gezeigt, daß ein großer Teil des Moleküls für die spezifische Erkennung durch das Enzym nicht notwendig ist^[2].

Ein zweiter Komplex von Problemen betrifft die Raumstruktur der tRNAs. Während die endgültige Lösung wohl der Röntgenstrukturanalyse vorbehalten bleibt, konnten wir durch optische Messungen an Fragmenten zur Lösung eines Teilproblems beitragen. So wurde eine experimentelle Bestätigung für das ursprünglich auf theoretischen Überlegungen beruhende Modell der Sekundärstruktur geliefert^[3].

[1] Zusammenfassung: K. Miura, Progr. Nucleic Acid Res. and Mol. Biol. 6, 39 (1967).

[2] R. Thiebe u. H. G. Zachau, European J. Biochem. 5 546 (1968); P. Philippsen, R. Thiebe, W. Wintermeyer u. H. G. Zachau, Biochem. Biophys. Res. Commun. 33, 922 (1968); R. Thiebe u. H. G. Zachau, ibid. 36, 1024 (1969); K. Harbers, Dissertation, Universität München 1970.

[3] R. Römer, D. Riesner, G. Maass, W. Wintermeyer, R. Thiebe u. H. G. Zachau, FEBS Lett. 5, 15 (1969); W. Wintermeyer, R. Thiebe,

Der Einfluß von Prolin auf die Konformation einer Polypeptidkette

Von Manfred Rothe (Vortr.), Rainer Theysohn, Jan Mazánek, Michael Kostrzewa, Wolfgang Schindler und Rolf Steinberger^[*]

Die speziellen strukturellen und sterischen Eigenschaften von peptidgebundenem Prolin werden anhand definierter linearer und cyclischer Oligopeptide aus Prolin und Glycin sowie aus Prolin allein untersucht. Ihre Synthese auf konventionellem Wege und nach der Festphasenmethode wird vor allem im Hinblick auf konformationsbedingte Besonderheiten und Schwierigkeiten beschrieben.

An den freien sowie an N- und C-terminal geschützten linearen Peptiden werden konformationsabhängige physikalische Eigenschaften wie IR-, UV-, CD- und NMR-Spektren eingehend untersucht, insbesondere in bezug auf Kriterien für die zur Helixbildung erforderliche Kettenlänge und den Einfluß der Endgruppen. Das Studium der Lösungsmittelabhängigkeit der Konfiguration der Peptidgruppe in Oligoprolinen führte zum Nachweis von *cis*-Verknüpfungen und zur Gewinnung von konfigurativ einheitlichen *cis*-Peptiden.

[*] Prof. Dr. M. Rothe, Dr. R. Theysohn, Dipl.-Ing. J. Mazánek, Dr. M. Kostrzewa, Dipl.-Ing. W. Schindler und Dr. R. Steinberger
Organisch-chemisches Institut der Universität
65 Mainz, Johann-Joachim-Becher-Weg 18–20