

Von Melvin Calvin<sup>[\*]</sup>

Unter Berücksichtigung experimenteller Ergebnisse wird dargelegt, auf welche Weise Biopolymere in der nichtbiologischen Welt entstanden sein könnten. Dabei werden auch die mögliche Entstehung des genetischen Codes, d. h. die Beziehung zwischen Polypeptiden und Polynucleotiden, sowie die Sekundär- und Tertiärstruktur von Polypeptiden als Folge der festgelegten Primärstruktur diskutiert. Außerdem wird die Bedeutung der Wechselwirkung von Biopolymeren mit Lipiden für die Bildung abgrenzender Membranen gewürdigt; diese Wechselwirkung führt zur Ausbildung von Zellen und anderen selbstorganisierenden Organellen. Dies ist das zweite entscheidende physikalisch-chemische Problem bei der Zellorganisation: es wird jetzt sowohl an synthetischen als auch an natürlichen Systemen einer genaueren Prüfung unterzogen.

## 1. Einleitung

Die Sammlung der hier vorgestellten Ideen ist über mehrere Monate hinweg entstanden, wobei sich die folgende Anordnung ergeben hat: Zunächst wird die Entstehung von Biopolymeren, insbesondere Proteinen, und die zugehörige Chemie behandelt. Der nächste Abschnitt beschreibt die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur von Biopolymeren sowie die Wechselwirkungen zwischen Proteinen und Nucleinsäuren. Es folgt ein Abschnitt über die Entstehung des genetischen Codes. Der letzte Abschnitt ist der Wechselwirkung zwischen Proteinen und Lipiden gewidmet.

Warum gerade diese Anordnung? Viele der zu besprechenden Phänomene (Reaktionen) sind tatsächlich nichts anderes als Extrapolationen und Abänderungen von Reaktionen, mit denen der Polymerchemiker vertraut ist. Anscheinend gibt es aber eine Art Vorhang zwischen den Polymerchemikern, deren Interesse auf die Struktur und Synthese von Makromolekülen aller Art sowie auf die Erkenntnis der grundlegenden Prinzipien dieses Gebietes gerichtet ist, und der anderen Gruppe, die von der Biologie und Biochemie herkommt und sich mit der physikalischen Chemie und dem chemischen Verhalten der Biopolymere unter ganz anderen Gesichtspunkten beschäftigt<sup>[1]</sup>. Die Biochemiker meinen, daß diese Stoffe fast magische Eigenschaften besitzen und glauben, daß neue Regeln oder Gesetze oder eine neue Chemie gebraucht würden, um im Detail verstehen zu können, wie die natürlich vorkommenden Biopolymere (Proteine, Nucleinsäuren etc.) ihre Funktion ausüben. Es scheint etwas „Mystik“ daran zu haften; im folgenden wird versucht, einige der Gründe für diese „Mystik“ aufzuzeigen, die sich meist in den Köpfen jener findet, die von Haus aus Biologen sind. Das Verhalten der Biopolymere soll hier mit den Begriffen erläutert werden, die dem Polymerchemiker vertraut sind, mögen sie auch zuweilen naiv

erscheinen. Da die meisten hier besprochenen biochemischen Arbeiten von Nicht-Polymerchemikern durchgeführt wurden, mag dem Polymerchemiker manches allzu selbstverständlich erscheinen. Anderes wird ihm allerdings nicht so selbstverständlich sein und könnte als Anregung für die nächsten Arbeiten dienen.

## 2. Die Bildung von Biopolymeren, insbesondere Proteinen

Betrachten wir zunächst das allgemeine Schema, nach dem die beiden wichtigsten Biopolymere vom lebenden Organismus aufgebaut werden! Es handelt sich um die Proteine und die Nucleinsäuren. In Abbildung 1 ist eine Sequenz schematisch dargestellt. Sie beginnt mit der DNA-Doppelhelix der

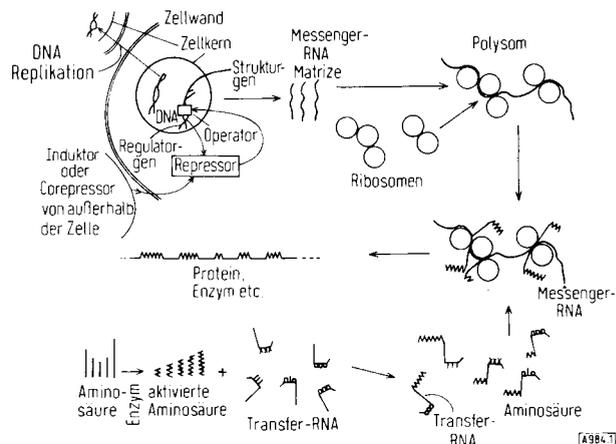


Abb. 1. Der Ablauf der Proteinbiosynthese.

Zelle, die sich in irgendeiner Weise (die noch nicht geklärt ist) selbst reproduzieren kann. Das heißt, sie kann eine Sequenz von Nucleotidmonomeren in ganz bestimmter Ordnung kopieren und eine komplementäre Kopie herstellen, aus der schließlich eine doppelte Garnitur entsteht.

Zusätzlich gibt es noch eine andere Reaktion, die innerhalb der Zelle abläuft. Statt die DNA in einen weiteren DNA-Strang zu kopieren, kann ein Abschnitt der DNA (die ein enorm langes Polymeres ist, das im wesentlichen aus vier durch Desoxyribosephosphat-Glieder verbundenen Basen besteht) in ein

[\*] Prof. Dr. M. Calvin  
Laboratory of Chemical Biodynamics  
University of California, Berkeley, California  
94707 (USA)

[\*\*] Nach einem Vortrag anlässlich der Eröffnung des Midland Macromolecular Institute in Midland, Michigan (USA) am 29. September 1972. Der Text wird auch in der Zeitschrift „International Journal of Polymeric Materials“ und in *H.-G. Elias: Trends in Macromolecular Science* (Midland Macromolecular Monographs, Vol. 1) bei Gordon & Breach, New York-London, erscheinen.

Ribosephosphatpolymeres kopiert werden, das eine Reihe leicht veränderter Basen enthält, aber mit der Ausgangssequenz verwandt ist. Das so kopierte Teilstück enthält die „Botschaft“ für ein bestimmtes Protein, weshalb dieser Substanztyp „Messenger-RNA“ genannt wird. Die Messenger-RNA verläßt den Zellkern und überbringt die Botschaft, ein ganz bestimmtes Protein aufzubauen. Die Botschaft ist durch die Basensequenz des Polymeren festgelegt. Um eine Aminosäure zu kennzeichnen, braucht man bekanntlich drei dieser Basen. Die „Botschaften“ werden dann an Katalysatoren angeheftet, die selbst teilweise aus Protein und teilweise aus Nucleinsäuren und Lipiden bestehen.

Nun ist die Voraussetzung geschaffen, um die Aminosäuren zu einem Peptid zusammenzusetzen. Hierzu müssen die Aminosäuren in geeigneter Weise vorbereitet werden. Jeder der verschieden langen geraden Striche in Abbildung 1 stellt eine andere Aminosäure dar. Die Zickzack-Linie symbolisiert die Aminosäure, wenn sie mit einem Phosphatrest acyliert ist (Aminoacylphosphat oder Aminoacyladenylat). Sie wird dann an ein kurzes Stück RNA weitergereicht, das aus etwa 70–100 Monomereinheiten besteht und irgendwo ein Triplet (drei benachbarte Basen) enthält, das für eine Aminosäure charakteristisch ist; in Abbildung 1 ist dieser Unterschied durch verschiedene Symbole (Kreis, Strich, Kreuz, Quadrat) für die Basen dargestellt. Auf diese Weise wird jede aktivierte Aminosäure am Anschlußstück eines spezifischen kleinen Oligomeren (kleines Polymeres mit 70–100 Einheiten) befestigt. Die Aminosäure ist damit an eine Transfer-RNA (t-RNA) mit dem für die betreffende Aminosäure charakteristischen Basentriplett gebunden. Diese Gebilde lagern sich nun an die Messenger-RNA an, und zwar an diejenigen Stellen, an denen sich die komplementären Basentriplets befinden. Damit ist die Reihenfolge festgelegt, in der die Aminosäuren zu einem Polypeptid zusammentreten. Das Polypeptid wird dann zum Protein „verknüpft“. Das Protein selbst ist gewöhnlich ein charakteristisches Polypeptid von typischer Gestalt und Struktur, die in Abschnitt 4 diskutiert wird.

All diese Reaktionen – Herstellung einer Kopie (Replikation), Transkription in die RNA, Aktivierung und Anlagerung sowie Verknüpfung an den Ribosomen – sind wegen ihrer Spezifität wenigstens teilweise von Proteinen abhängig, die selbst auf diese Weise hergestellt sind. Dieses „Henne-und-Ei“-Problem gibt uns Anlaß für den nächsten Teil der Diskussion.

Wie konnte dieses reflexive System, das in Abbildung 1 schematisch dargestellt ist, entstehen? Als Chemiker würden wir es gerne sehen, wenn die Chemie ein solches System erdacht und gerade so ausgeführt haben könnte. Genau das soll hier unter nichtbiologischer Entstehung der Polymeren und Herkunft des genetischen Codes verstanden werden. Wie könnte sich die Beziehung zwischen bestimmten Triplets und bestimmten Aminosäuren herausgebildet haben?

Ich glaube, daß diese Beziehung als chemisches Ergebnis und nicht als „eingefrorener Zufall“ aufzufassen ist, wie manche Biologen annehmen. Der Beweis dafür ist allerdings noch im Laboratorium zu erbringen. Die meisten Polymerchemiker werden finden, daß dies ein ziemlich willkürlicher Standpunkt ist; hoffentlich lassen sie sich dadurch zu Experimenten anregen, mit denen sich zeigen läßt, daß ein Triplet mit gutem Grund gerade für die und keine andere Aminosäure zuständig ist. Dies muß im Laboratorium definitiv bewiesen werden; noch ist es Gegenstand beträchtlicher Kontroversen.

Kehren wir nun zu den möglichen Wegen zurück, auf denen Proteine und Nucleinsäuren in einer nicht-lebenden Welt entstanden sein könnten: Wir befassen uns mit einer Welt in Wasser, nicht etwa mit einer Welt in Methylenchlorid, Dioxan, DMF oder anderen Lösungsmitteln. Alle in Abbildung 1 beschriebenen Reaktionen laufen in Wasser ab. Welche Reagentien wir auch anwenden, welche Reaktionen wir auch hervorgerufen – die Entstehung der Proteine und Nucleinsäuren dürfte im wesentlichen in wäßriger Lösung vonstatten gegangen sein. Dies kann sich durch das entstehende Polymere selbst aber wegen der Protein-Lipid-Wechselwirkung etwas ändern; die Reaktionen verlaufen jedoch primär in wäßriger Lösung.

Wir begannen nun zu versuchen, Polypeptide und andere Polymere in wäßriger Umgebung zu erzeugen<sup>[2]</sup>. Chemisch und thermodynamisch ist dies ein ziemlich schwieriger Vorgang. Die Bildung des Biopolymeren aus dem Monomeren ist bei Proteinen, Nucleinsäuren, Kohlenhydraten und Lipiden das Ergebnis einer wasserabspaltenden Kondensation. Eine wasserabspaltende Kondensation in wäßriger Lösung ablaufen zu lassen, ist ein heikles Vorhaben. Lebende Organismen haben die Kunstgriffe vor langer Zeit gelernt; die Frage ist nur, ob wir als Chemiker etwas Ähnliches vollbringen können. Die Reaktionen, die in dieser wäßrigen Umgebung ablaufen müssen, sind in Abbildung 2 zusammengestellt. Die Proteine

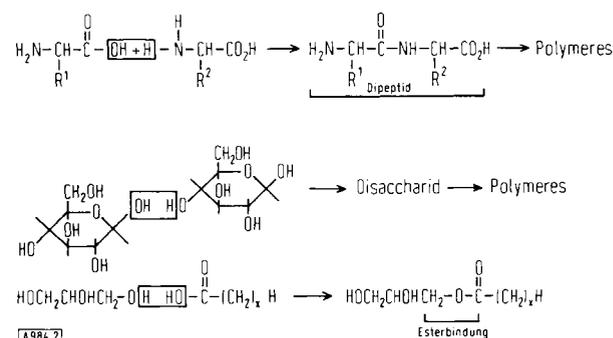


Abb. 2. Wasserabspaltende Kondensation bei der Bildung von Polypeptiden, Kohlenhydraten und Fetten.

und Peptide bilden sich aus einem bifunktionellen Molekül, aus dem ein Wassermolekül abgespalten wird, wobei ein bifunktionelles Dimeres entsteht, das seinerseits an beiden Enden weiterwachsen kann. Rein formal geschieht in allen vier Fällen das gleiche – bei den Proteinen, Polysacchariden, Lipiden und Nucleinsäuren. In jedem Fall wird das Wassermolekül unter Bildung eines neuen bifunktionellen Moleküls eliminiert. Dieser Vorgang kann kontinuierlich fortgesetzt werden. Bei den Lipiden allerdings ist dieser Reaktionstyp nicht so weit verbreitet wie bei den Proteinen und Polysacchariden; durch die Abspaltung von Wasser entsteht die Esterbindung, die weiterreagieren kann. Dies liegt nicht genau auf derselben Linie, doch kann man auch auf diese Weise ziemlich große Moleküle erzeugen. Dieser Fall wurde in die Diskussion einbezogen, weil die Lipide eine wichtige Rolle bei der Evolution spielen.

Abbildung 3 zeigt die Entstehung von Nucleinsäuren durch wasserabspaltende Kondensationsreaktionen. Hierbei werden sogar an drei Stellen Wassermoleküle abgespalten. Die erste Wasserabspaltung bewirkt die Bildung der Aminoglykosidgruppe an der Base, wobei die NH-Gruppe der Base mit

der Halbacetal-Hydroxygruppe des Zuckers reagiert. Die zweite findet zwischen Phosphatester und primärer Hydroxygruppe unter Bildung des terminalen 5'-Phosphats statt. Dargestellt ist dieser Vorgang an der Ribose, die in RNA enthalten ist. (Der DNA fehlt die Hydroxygruppe am 2'-Kohlenstoffatom, d. h. es trägt zwei Wasserstoffatome.) Die dritte wasserabspaltende Reaktion geschieht zwischen dem Monophosphatester

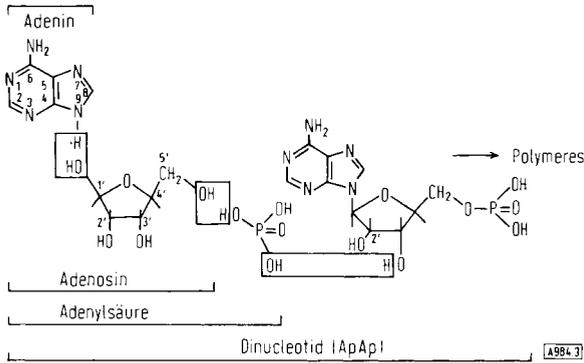


Abb. 3. Wasserabspaltende Kondensation bei der Bildung von Polynucleotiden.

und der sekundären Hydroxygruppe am 3'-Kohlenstoffatom eines anderen Nucleotids. Das Ergebnis ist wiederum ein bifunktionelles Molekül mit zwei verfügbaren reaktionsfähigen Gruppen; am einen Ende ist die Phosphatestergruppe, am anderen Ende die 3'-Hydroxygruppe reaktionsbereit. Die Nucleinsäuren werden also nach denselben Prinzipien aufgebaut wie zwei der anderen wichtigen Biopolymeren (Abbildung 2).

Wir stellten uns die Frage: Gibt es einen Weg für die Erzeugung der Polypeptide? Man kennt viele Reaktionen, mit denen Peptidbindungen in wässriger Umgebung geknüpft werden könnten. Es war nur eine kleine Abwandlung des bekannten Wissens erforderlich. Zu den wichtigsten Reagentien, die für die Wasserabspaltung aus einer Reihe funktioneller Gruppen verwendet werden, gehören Carbodiimide  $R-N=C=N-R$  [1]. Die Carbodiimidstruktur besitzt die Fähigkeit, in mehr oder weniger spezifischen Reaktionen mit sauren Gruppen wie Carboxygruppen, Phosphaten und gewissen Hydroxygruppen, schrittweise Wasser abzuspalten, was zu Kondensationsreaktionen führt [3]. Dieses spezielle Reagens (Carbodiimid) fand weitverbreitete Anwendung zur Synthese von Nucleotiden und Polypeptiden, gewöhnlich aber nicht in wässrigem Milieu. Indem man die Gruppen R durch chemische Veränderung hydrophil macht, wird das Carbodiimid wasserlöslich und somit in wässriger Lösung anwendbar. Das ist insofern nützlich, als die Carbodiimidgruppierung selbst nicht sehr schnell hydrolysiert, sondern dies erst bei der Reaktion mit Carboxy- oder Phosphatgruppen tut.

Nun erhob sich die nächste Frage: Wie konnte dieser Reaktionstyp in der Natur vorkommen? Es stellte sich heraus, daß sich diese spezielle Struktur in natürlicher Umgebung auf sehr einfache Weise entwickeln könnte. Wie man weiß, gehörten Ammoniak und HCN zu den ersten Molekülen auf der Erdoberfläche. Durch Reaktionen zwischen diesen beiden Stoffen kann Cyanamid erhalten werden; wahrscheinlich verläuft die Reaktion über Cyansäure oder Hydroxylamin.

[\*] R = z. B. Cyclohexyl.

Cyanamid ist eine tautomere Form des Carbodiimids, die jedoch nicht stabil ist, sondern zu Dicyandiamid (DCDA)  $H_2N-C(=NH)-NH-CN$  - der gewöhnlichen Form des Cyanamids - dimerisiert. Es enthält auch die gleiche Art  $\pi$ -Bindungen wie Carbodiimid. Das DCDA benutzten wir als eins der Ausgangsmaterialien, um die wasserabspaltende Kondensation bei der Entstehung biopolymerer Stoffe zu demonstrieren. Wir nahmen eine Aminosäure, stellten den pH-Wert einer schwach sauren Lösung ein und setzten das wasserlösliche Dicyandiamid zu, um zu sehen, ob wir auf diese Weise Polypeptide in homogener wässriger Lösung gewinnen konnten. Die Ergebnisse einiger dieser Experimente sind in Abbildung 4 dargestellt [4]. Wir arbeiteten bei  $pH=3.5$  mit Glycin; Glycin verschwand, und es entstanden Diglycin, Triglycin und Tetraglycin. Die Reaktion verläuft sehr langsam und geht nicht sehr weit. Man kann Tetraglycin kaum ein „Polymeres“ nennen, aber die Reaktion verläuft wenigstens in wässriger Lösung.

Die nächste Frage war: Ist die Reaktion irgendwie selektiv? Suchen die Aminosäuren einander aus, wenn sie kondensieren? Bei Untersuchungen über den Verlauf der Evolution ist diese Frage ganz natürlich. Vor fünf oder sechs Jahren versuchte Steinman diese Frage zu beantworten, indem er eine Aminosäure B mit der Carboxygruppe an Polymerkügelchen hängte und eine aminogruppen-geschützte Aminosäure A zugab, um sie daran zu koppeln. Gemessen wurden die

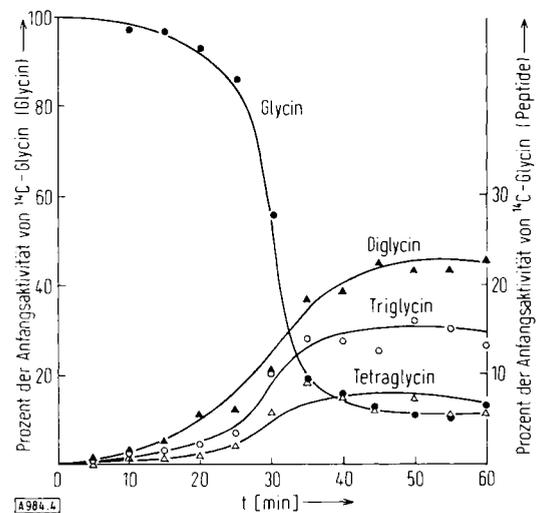


Abb. 4. Polypeptidbildung durch Dicyandiamid in homogener Lösung.

relativen Kopplungsgeschwindigkeiten der Aminosäure A an die polymer-gebundene Aminosäure B; das ist eine Art Modell für die Polypeptidbildung. Tabelle 1 enthält die relativen Kopplungsgeschwindigkeiten. Wie man sieht, differieren sie um den Faktor zehn [5]. Das ist der gemessene Wirkungsgrad der Kopplung. Die Berechnung basiert auf der Häufigkeit bestimmter Paare (Phenylalanylglycin, Glycylphenylalanin oder Isoleucylglycin etc.) in den heute existierenden Proteinen und einer statistischen Analyse der Situation; die Häufigkeiten werden auf Glycylglycin = 1 normiert. Es scheint eine schwache Beziehung zwischen den Kopplungsausbeuten im heterogenen System und dem Auftreten bestimmter Peptid-Paare in der Natur zu bestehen. Diese Idee wurde weiterentwickelt; es gibt heute bessere Möglichkeiten, um die Selbstauswahl der Aminosäuren bei der Peptidbildung zu untersuchen.

Tabelle 1. Vergleich der experimentell bestimmten Dipeptidausbeuten und den aus bekannten Proteinsequenzen berechneten Häufigkeiten bezogen auf Gly-Gly = 1.0.

Dipeptid [a]	Werte	
	gef.	ber.
Gly-Gly	1.0	1.0
Gly-Ala	0.8	0.7
Ala-Gly	0.8	0.6
Ala-Ala	0.7	0.6
Gly-Val	0.5	0.2
Val-Gly	0.5	0.3
Gly-Leu	0.5	0.3
Leu-Gly	0.5	0.2
Gly-Ile	0.3	0.1
Ile-Gly	0.3	0.1
Gly-Phe	0.1	0.1
Phe-Gly	0.1	0.1

[a] Die Dipeptide sind in der Reihenfolge steigenden Volumens ihrer Seitenkette aufgeführt. Gly = Glycin, Ala = Alanin, Val = Valin, Leu = Leucin, Ile = Isoleucin, Phe = Phenylalanin; Beispiel: Gly-Ala = Glycylalanin [5].

Es gibt zwei weitere Methoden zur Synthese von Polypeptiden, eine davon in nichtwässrigem Medium. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse von Experimenten, bei denen *Sidney Fox* geschmolzene Glutaminsäure mit geringen Mengen Pyrophosphorsäure als Lösungsmittel benutzte (schwerlich eine wässrige Umgebung), der er äquimolare Mengen aller Aminosäuren außer Asparaginsäure und Glutaminsäure zugab<sup>[6]</sup>. Auch hier findet kein statistischer Einbau in die resultierenden Polypeptide statt. Diese Daten sollen in der Hauptsache die unterschiedliche Häufigkeit des Einbaus zeigen, die von 0.5 bis 5% rangiert, wodurch die Selektivität evident wird.

Tabelle 2. Aminosäurezusammensetzung eines in Anwesenheit von 200 ppm Pyrophosphorsäure hergestellten Proteinoids [6]. Asp: Glu: äquimolarem Gemisch basischer und neutraler Aminosäuren = 2:1:3, d. h. 33% : 16% : 50%. Das Gemisch wurde 150 h bei 100 °C inkubiert.

Aminosäure	[%]	Aminosäure	[%]
Thr	0.55	Lys	2.79
Ser	0.63	His	2.53
Gly	2.93	Arg	1.83
Ala	1.31	Summe	7.15
Val	1.33		
Met	0.86		
Ile	0.71	Asp	51.9
Leu	3.44	Glu	13.3
Tyr	3.87	Summe	65.2
Phe	5.87		
NH <sub>2</sub>	5.02		
Summe	27.6		

Die letzte Untersuchung ist vielleicht die eleganteste, doch weiß man nicht, ob sie weitergeführt wird. Es handelt sich um die Arbeit *Aharon Katchalskys*, der von Aminoacyladenylaten ausging und Montmorillonit als Katalysator benutzte; beide Stoffe sind in der Natur vorhanden. Das Aminoacyladenylat kann man erhalten, weil die Adenylsäure leicht durch gewöhnliche chemische Reaktionen erzeugt werden kann und die Aminosäure daran leicht durch wasserabspaltende Kondensation in wässrigem Milieu mit Carbodiimid angekoppelt werden kann. *Katchalsky* begann somit mit einem System, das biologisch zugänglich ist. Die Entdeckung *Katchalskys* soll ausführlicher beschrieben werden, weil sie der Ausgangspunkt einer äußerst interessanten Idee ist. Das Aminoacyladenylat tritt nämlich auch als erste Stufe der normalen biologi-

schen Aminosäureaktivierung auf; gewöhnlich ist es zwar Bestandteil eines Enzymkomplexes, doch eignet es sich trotzdem als Ausgangsstoff für solche Untersuchungen. Zuerst versuchte *Katchalsky* das Material in homogener wässriger Lösung zu polymerisieren. Das Aminoacyladenylat läßt sich als gemischtes Anhydrid aus einer Carbonsäure und Phosphorsäure auffassen, das außerdem die freie Aminogruppe der Aminosäure enthält. Die freie Aminogruppe kann somit als Nucleophil auf die Carboxygruppe in der Anhydridgruppierung einwirken.

Die Grundvorstellung *Katchalskys* ist in Abbildung 5 skizziert; sie zeigt aber noch mehr. Wenn man das Aminoacyladenylat-Skelett betrachtet, das an der Polynucleotidkette hängt, kann man sehen, daß die Aminogruppe als Nucleophil auf die Acylgruppe des Anhydrids einwirken kann (Reaktion a), wobei ein Polypeptid-(poly)-adenylat und freie Adenylsäure entstehen. Bei der alternativen Reaktion, die *Katchalsky* in Betracht

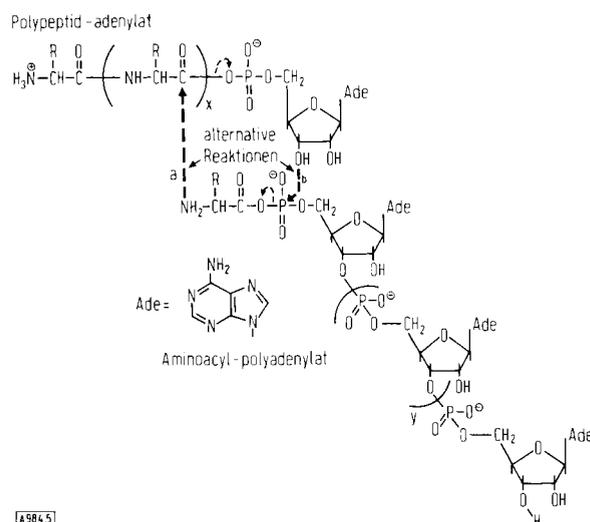


Abb. 5. Polymerisation von Aminoacyladenylat; alternative Reaktionen (nach *Katchalsky*).

gezogen hatte, ohne jedoch experimentelle Daten zu publizieren, greift die sekundäre Zucker-Hydroxygruppe – wiederum als Nucleophil – das Phosphat im gemischten Anhydrid an (Reaktion b) und führt so den umgekehrten Polymerisationstyp herbei, d. h. es entstehen eine freie Aminosäure und (Poly)-Aminoacyl-polyadenylat. Natürlich können auch noch andere Reaktionen (Umlagerungen etc.) vorkommen, welche die Polymerisationsreaktionen unterbrechen oder verlangsamen.

Wie *Katchalsky* 1970 in seiner Veröffentlichung<sup>[7a]</sup> und ausführlicher im Mai 1972 in Göttingen kurz vor seinem Tode berichtete<sup>[7b]</sup>, verläuft die Reaktion in homogener Lösung langsam, und die gefundenen Polymeren sind nicht sehr groß (8–10 Einheiten). Wenn er jedoch die Reaktion in Anwesenheit geeignet präparierten Montmorillonits ablaufen ließ, änderte sich das gesamte System; die Reaktion wurde extrem schnell, und die Polypeptide erreichten ziemlich hohe Polymerisationsgrade – hoch für eine derartige Reaktion<sup>[8]</sup>.

Wir haben gemeinsam diesen Reaktionstyp nachgearbeitet und konnten tatsächlich Polypeptide und Polynucleotide aus demselben Ausgangsmaterial herstellen. Jetzt kann man anfangen, die wirkliche Beziehung zwischen den Polynucleotiden und Polypeptiden – oder den Nucleinsäuren und Proteinen – zu erkennen und zu begreifen, wie sie als Ergebnis der Stereochemie der Reaktion zustandekommen können.

Katchalsky fand, daß sich aus Alanyladenylat auf Montmorillonit eine Anzahl definierter Polypeptide bilden. Abbildung 6 zeigt ein Chromatogramm der zweiten Fraktion. Tabelle 3 enthält weitere Daten über die beiden Hauptfraktionen.

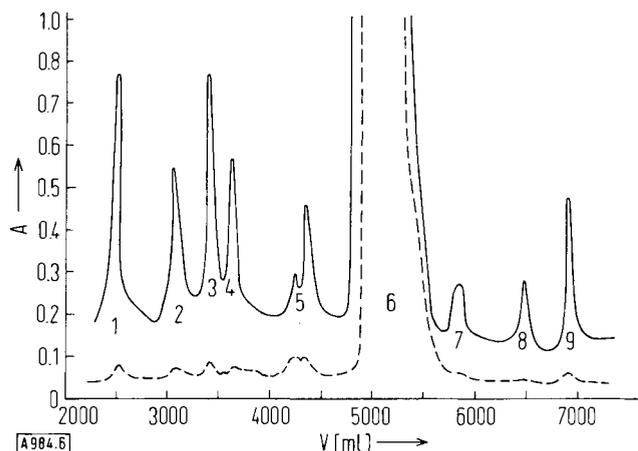


Abb. 6. Polypeptide aus Alanyladenylat auf Montmorillonit (nach Katchalsky). Chromatographie der Fraktion II auf Sephadex G-25 mit Gelbett  $3 \times 4 \times 150$  cm. 1-9 siehe Text und Tabelle 3.

Fraktion I besteht überwiegend aus Adenylsäure und drei Arten von Polypeptiden. Fraktion II enthält dagegen Polypeptide mit etwas Adenylsäure<sup>[7a]</sup>. Man kann im Gelchromatogramm (Abb. 6) neun Komponenten erkennen; Adenylsäure ist der Hauptbestandteil, die Komponenten 1, 2, 3 und 4 sind Polypeptide. Außerdem sind zwei nicht identifizierte anorganische Salze sowie zwei nicht identifizierte organische Verbindungen vorhanden. Katchalsky meinte in einem Gespräch, es könnten Polynucleotide sein; ich vermute das ebenfalls.

Tabelle 3. Zusammensetzung der aus 1 g Alanyladenylat auf Montmorillonit erhaltenen Hauptfraktionen.

Fraktion	Bestandteil	MG	Polymerisationsgrad	Gewicht [mg]	Nr. in Abb. 6
I	Peptid	640	9	10.3	
	Peptid	1120	16	35.2	
	Peptid	1900	27	20.0	
	Adenylsäure		1	470.5	
II	Peptid-adenylat	2130	30	8	4
	Peptid-adenylat	2310	32	5.2	2
	Peptid-adenylat	3020	42	10.8	1
	Peptid-adenylat	4000	56	17.1	3
	Adenylsäure		1	260.1	6

Vielleicht wird später ein anderer diese Arbeit fortsetzen. Nach meiner Ansicht ist sie ein äußerst wichtiger Schritt auf dem Wege zum Verständnis der Natur der Polymerisationsreaktionen. Warum erhält man keine statistische Streuung, sondern definierte Arten von Polymeren? Ich meine, solche Gruppen treten deshalb auf, weil hier keine einfache Additionsreaktion stattfindet. Aminosäuren werden angelagert und Polynucleotide werden aufgebaut und bilden schließlich ein Polypeptid-polyadenylat, und diese Stoffe regulieren ihrerseits die Größe der gefundenen Polypeptide. Es wird sich wahrscheinlich noch herausstellen, daß auch das Polynucleotid in irgendeiner Weise definiert ist.

### 3. Der Ursprung des genetischen Codes

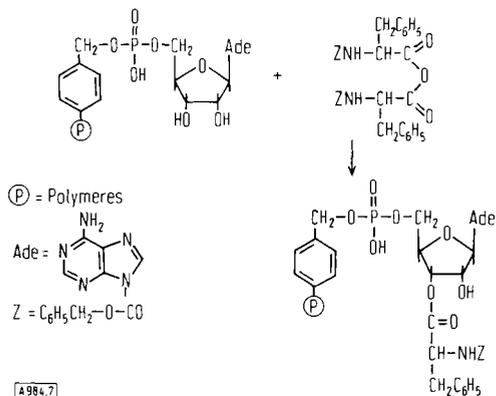
Bekanntlich ist die Reihenfolge der Aminosäuren in einem Polypeptid bei den heutigen Lebewesen in einer entsprechenden linearen Anordnung von Basen in einem Polynucleotid festgelegt. Jeweils drei Basen im Polynucleotid (DNA) sind für eine Aminosäure im Polypeptid oder Protein zuständig. Die Beziehung zwischen den Basentriplets und den Aminosäuren stimmt in allen Lebewesen überein. Tabelle 4 zeigt eine Zusammenstellung. Man sieht eine gewisse Redundanz im Code; seine Universalität in der gesamten belebten Welt ist aber ziemlich gut fundiert.

Tabelle 4. Der genetische Code.

		erster Buchstabe							
		A	C	G	U				
zweiter Buchstabe	A	AAA	Lys	CAA	Gln	GAA	Glu	UAA	Ende
		AAG		CAG		GAG		UAG	
	AAC	Asn	CAC	His	GAC	Asp	UAC	Tyr	
	AAU		CAU		GAU		UAU		
C	ACA	Thr	CCA	Pro	GCA	Ala	UCA	Ser	
	ACG		CCG		GCC		UCG		
	ACC		CCC		GCC		UCC		
ACU	CCU	GCU	UCU						
G	AGA	Arg	CGA	Arg	GGA	Gly	UGA	Ende	
	AGG		CGG		GGG		UGG		
	AGC		CGC		GGC		UGC		
AGU	Ser	CGU	GGU	UGU	Cys				
U	AUA	Ile	CUA	Leu	GUA	Val	UUA	Leu	
	AUG	Met	CUG		GUG		UUG		
	AUC	Ile	CUC		GUC		UUC		
	AUU		CUU		GUU		UUU		

Somit müssen wir uns neben der Frage nach der abiogenen Entstehung der Biopolymeren der weiteren Frage zuwenden, auf welche Weise sich die lineare Beziehung zwischen den beiden wichtigsten Biopolymeren – den Polypeptiden (Proteinen) und den Polynucleotiden (DNA) – entwickelt hat, d. h.: Worin liegt der mögliche Ursprung des genetischen Codes?

Es wird die Meinung vertreten, daß die besondere Beziehung zwischen einem bestimmten Triplet und der zugehörigen Aminosäure, entsprechend Tabelle 4, durch einen Zufall bei einer frühen katalytischen Reaktion entstanden ist und dieser Zufall infolge eines Selektionsvorteils bei der Erzeugung autokatalytischer Systeme in der gesamten Biologie eingefroren wurde<sup>[9]</sup>. Die Auswahl erfolgte demnach aufgrund der Überlegenheit eines einzigen autokatalytischen Systems gegenüber allen anderen. Die Möglichkeit des „eingefrorenen Zufalls“ wird ebenfalls anerkannt, wenn man die Ansicht vertritt, daß bei einer erneuten chemischen Evolution unter genau gleichen Ausgangsbedingungen sehr wohl ein anderer Code zustandekommen könnte<sup>[10,11]</sup>. Ich glaube aber, daß dies *nicht* der Fall wäre, weil der Code charakteristische molekulare Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren (Polypeptiden) und Nucleotiden (Polynucleotiden) wiedergibt.



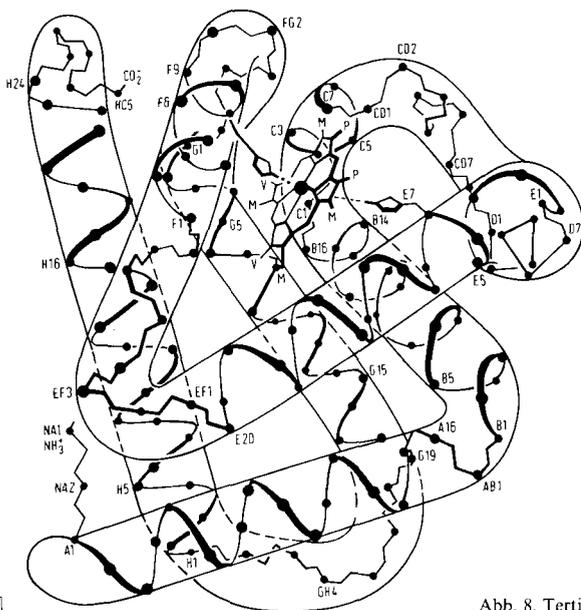
[A984.7]

Abb. 7. Kopplung eines Polymer-AMP-Komplexes mit dem Anhydrid einer *N*-geschützten Aminosäure (24 h bei Raumtemperatur in Pyridin) zu einem *N*-geschützten Phenylalanyl-AMP-Polymeren.

Ein kleiner Hinweis dafür findet sich in einigen Experimenten über die Kopplungsgeschwindigkeit von Aminosäuren an Nucleotide. Vor einigen Jahren<sup>[12]</sup> brachten wir ein Nucleotid (Adenylsäure) an einem synthetischen Polymeren (Polystyrol) an; das Polystyrol hatte die Form kleiner Kügelchen. Dann wurde die Geschwindigkeit der Kopplung von zwei Aminosäuren an diese Polystyrol-Nucleotid-Präparate gemessen. Für die Versuche wurden *N*-geschützte Aminosäureadenylate eingesetzt. Die Reaktion ist in Abbildung 7 dargestellt; Tabelle 5 enthält das Ergebnis dieser und analoger Reaktionen<sup>[13]</sup>. Glycin reagiert mit Adenin und Cytosin schneller als Phenylalanin, und Adenin reagiert mit beiden Aminosäuren schneller als Cytosin. Im ganzen gibt es Unterschiede in der Reaktivität um den Faktor drei.

Tabelle 5. Kopplung eines Polymer-Nucleotid-Komplexes mit dem Anhydrid einer *N*-geschützten Aminosäure. Angegeben ist der Anteil [%] der gebundenen Nucleotide, die reagiert haben.

Base	Adenin	Cytosin
Aminosäure		
Phenylalanin	6.7	2.9
Glycin	10.0	6.5



[A984.8]

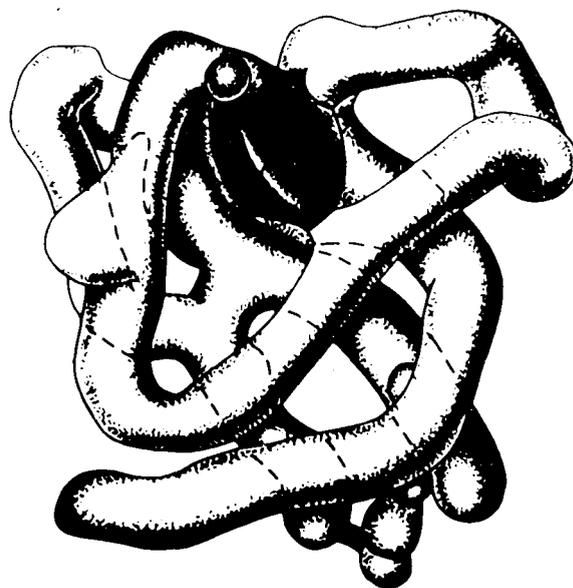
Abb. 8. Tertiärstruktur des Myoglobins.

Hier zeigt sich der Ansatz zu einer Art Selektivität bei der Reaktionsgeschwindigkeit<sup>[14]</sup>. Ich glaube allerdings, daß diese Selektivität sehr viel ausgeprägter auftreten würde, wenn sowohl die Aminosäure als auch das Nucleotid Bestandteil eines Polymeren wären. So ließe sich z. B. erwarten, daß die beiden Alternativreaktionen (a) und (b) in Abbildung 6 sehr stark von der Natur der Aminosäure und des beteiligten Nucleotids abhängen. Weiterhin wäre zu erwarten, daß die Selektivität einerseits durch die Länge und den Charakter des Polynucleotids und andererseits möglicherweise sogar des Polypeptids verstärkt wird. Das abschließende Experiment hierzu steht noch aus, ist aber vorbereitet.

#### 4. Sekundär- und Tertiärstruktur der Proteine und Wechselwirkung mit Nucleinsäuren

Hier soll beschrieben werden, was über die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur, vor allem der Proteine, bekannt ist. Mehrere Prinzipien sollen hervorgehoben werden: 1. die Art und Weise, wie sich die Proteine zu ihren Sekundär- und Tertiärstrukturen zusammenfalten, 2. die Wechselwirkung zwischen Enzymen und ihren Substraten, und 3. die Wechselwirkung der Proteine mit den Nucleinsäuren. (Die Wechselwirkung Protein-Lipid wird in Abschnitt 5 besprochen.)

In Abbildung 8 ist das Myoglobin mit seiner Tertiärstruktur dargestellt. Links wird die  $\alpha$ -Helix-Struktur gezeigt, rechts eine dreidimensionale Ansicht des Moleküls. Myoglobin ist also ein gefaltetes Protein, das in der Mitte das Häm trägt. Die Sekundär- und Tertiärstruktur des Moleküls ist eine Folge der Aminosäuresequenz der Polypeptidkette: sie bildet sich aus, wenn das Polypeptid in wäßriger Lösung die Möglichkeit dazu hat<sup>[15]</sup>. In der Struktur des Cytochroms c sind die hydrophoben Seitenketten der Aminosäuren mehr oder weniger in der Mitte, die hydrophilen an der Außenseite des Moleküls angeordnet. Das ist bis jetzt das einzige gemeinsame Charakteristikum der Struktur löslicher Proteine. Ganz allgemein ist sie so beschaffen, daß sich bei der Faltung in die Sekundär- und Tertiärstruktur die hydrophoben Ketten nach innen (weg von der wäßrigen Umgebung), die hydrophilen Ketten zur wäßrigen Lösung hin orientieren.



Aus diesem Grunde hatte ich die schon erwähnte Einschränkung hinsichtlich der Bildung von Polypeptiden und Polynucleotiden in ausschließlich wäßriger Umgebung gemacht. Noch während der Entstehung dieser Biopolymeren können Änderungen eintreten, wobei Seitenketten sozusagen aufgrund der sich bildenden Struktur aus der wäßrigen in eine nichtwäßrige Umgebung überführt werden.

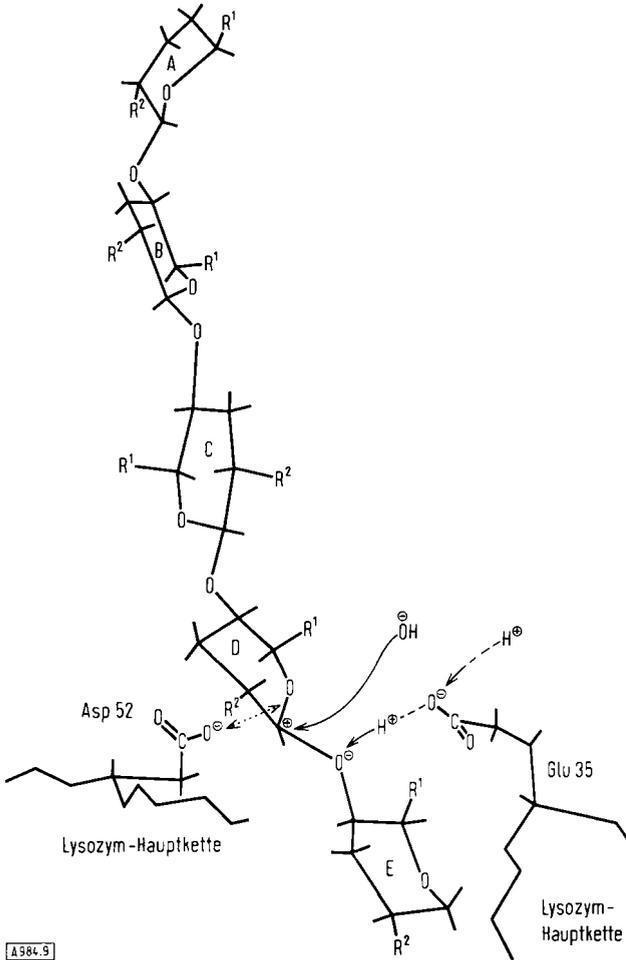


Abb. 9. Hydrolyse eines Polysaccharids (Ringe A-E) an Lysozym.

Das Lysozymmolekül weist einen Spalt auf, in den das Substrat sich einlagert. Abbildung 9 zeigt die Vorgänge bei der Polysaccharidhydrolyse und die Funktion des aktiven Zentrums. Man sieht, wie das Polysaccharid in das aktive Zentrum des Lysozyms hineinragt. Hydrolysiert wird die glykosidische Bindung; ein Teil des Substrats wird auf das Polymere (Asp 52) übertragen, wobei der andere Teil frei wird. Der Asp-Glykoseester seinerseits hydrolysiert sehr rasch. Auf diese Weise arbeiten die hydrolytischen Enzyme und viele Transferasen. Demnach hat sich die Tertiärstruktur entwickelt, weil die spezielle Form des Moleküls gerade dem richtigen Substrat Halt gibt.

Die nächste Abbildung, die schon alt ist, reicht in das im Elektronenmikroskop sichtbare Gebiet hinein. Am Kollagen (Abb. 10) läßt sich nachweisen, daß man Moleküle in ihre Tertiärstruktur zurückfalten kann und daß sich diese Moleküle darüber hinaus zu noch komplizierteren Quartärstrukturen zusammenlagern, die ebenfalls von ihrer Aminosäuresequenz abhängen<sup>[16]</sup>. Der obere Teil der Abbildung 10 zeigt die Kollagenfibrillen im getrennten Zustand, der untere, die reaggregierten Fibrillen, die den natürlichen stark ähneln. Die Fibrillen bilden infolge Protein-Protein-Anlagerung einen Zustand hoher Ordnung.

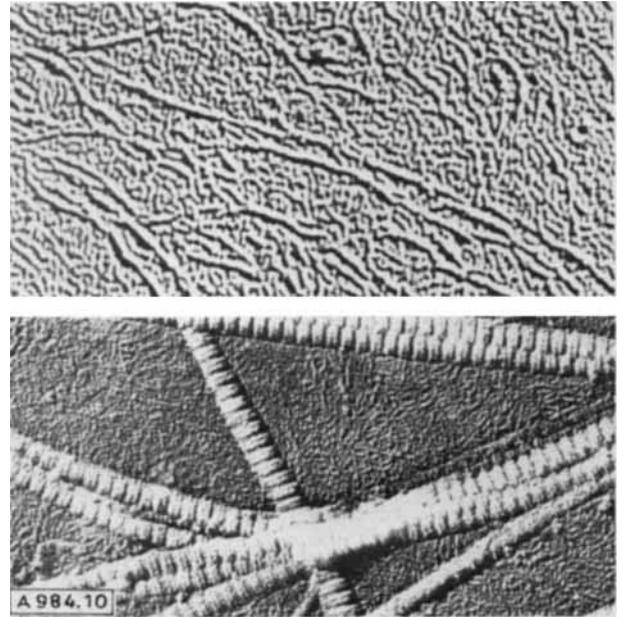


Abb. 10. Struktur von Kollagen. Einzelheiten siehe Text.

Die folgenden Abbildungen zeigen die Dissoziation und Reaggregation des Tabakmosaik-Virus (eines relativ einfach gebauten Virus), der aus mehreren gleichen Proteinmolekülen und einem Nucleinsäuremolekül besteht. Diese können voneinander getrennt und anschließend wieder zu einem vollständigen

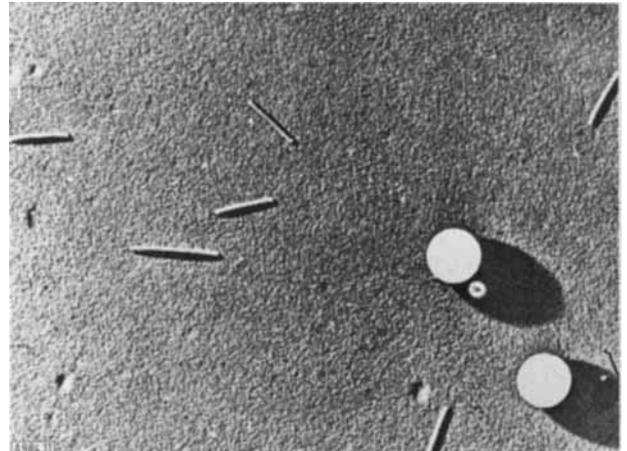


Abb. 11. Tabakmosaik-Virus (TMV), nativ

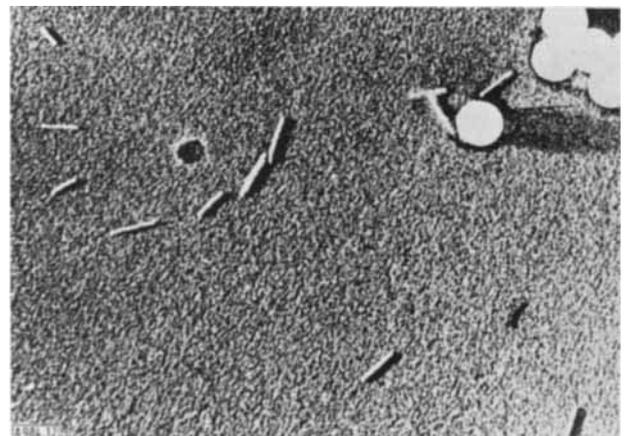


Abb. 12. Rekonstituiertes TMV-Protein.

Virus-Teilchen zusammengesetzt werden<sup>[17]</sup>. Seither sind auch kompliziertere Virus-Teilchen rekonstruiert worden. In Abbildung 11 sieht man den nativen Tabakmosaik-Virus (TMV) mit seinen einheitlichen Partikeln, in Abbildung 12 das wieder zusammengelagerte Protein des TMV ohne die Nucleinsäure. Das Protein wurde dazu von der Nucleinsäure getrennt, gelöst und durch Änderung der Salzkonzentration mit dem abgebildeten Ergebnis reaggregiert. Man kann sehen, daß die Dimension des Aggregats in einer Richtung stimmt, nicht jedoch in der anderen; die Teilchen sind im Gegensatz zum nativen TMV unterschiedlich lang, weil mit der Nucleinsäure die „Information“ über die richtigen Dimensionen fehlt. In Abbildung 13 kann man den rekonstruierten TMV sehen, der sich bildet,



Abb. 13. Rekonstituierter TMV.

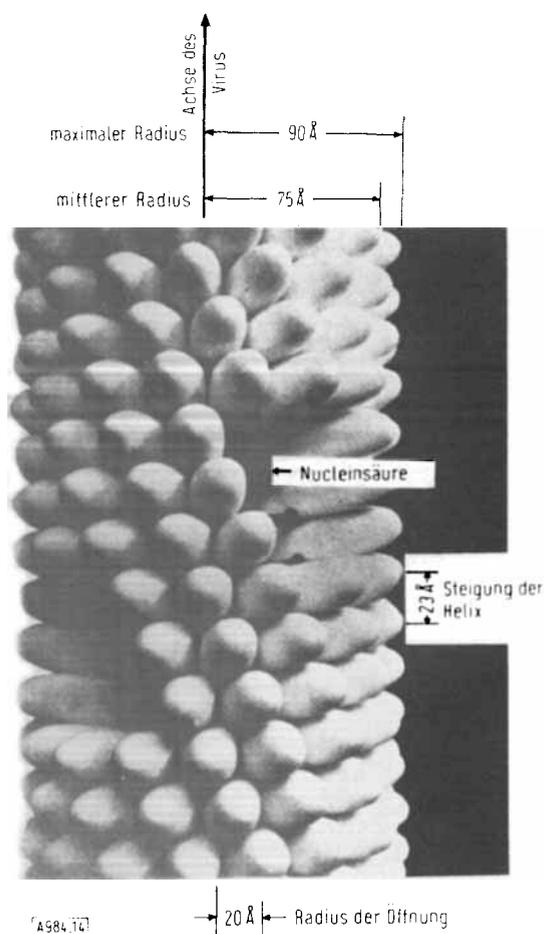


Abb. 14. Schema der TMV-Struktur.

wenn die Nucleinsäurekomponente der Proteinlösung zugegeben wurde. Diese Experimente wurden auch mit komplizierteren Partikeln wie T4-Bakteriophagen, MS2-Phagen etc. durchgeführt. Auch bei sehr schwierigen Strukturen wurden Fortschritte erzielt<sup>[18]</sup>. Das TMV-Teilchen ist schematisch in Abbildung 14 dargestellt. Die Tertiärstruktur der Protein-Untereinheit im TMV ist noch nicht bewiesen; wir kennen lediglich die Sequenz der 120 Aminosäuren.

## 5. Wechselwirkung zwischen Protein und Lipiden

Protein-Lipid-Wechselwirkungen sind Gegenstand hoher wissenschaftlicher Aktivität, auf dem Gebiet der technischen Polymeren ebenso wie in der Biochemie. Für die Handhabung biochemischer Proteine werden Lipide seit einiger Zeit benutzt. Die gegenwärtige Auffassung von der Membranstruktur – das Protein eingebettet in eine Lipid-Doppelmembran – zeigt Abbildung 15. Ein Phospholipid besteht aus einem hydrophilen Ende (Phosphoethanolamin-Rest durch Kugeln dargestellt) und den Fettsäureketten. Mit den Membranproteinen zusammen, die verschieden tief in die Lipid-Doppelmembran eingetaucht sind, bilden sie die gesamte biologische Membran.

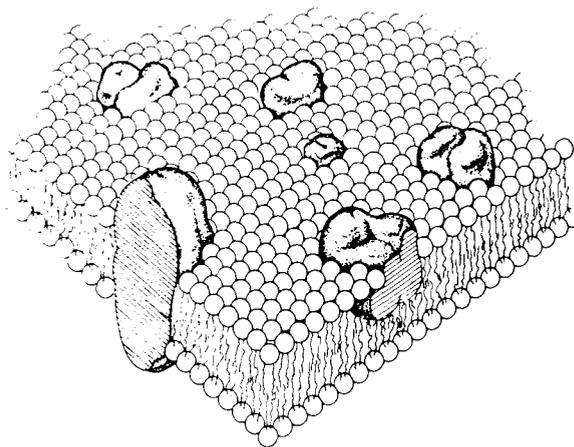


Abb. 15. Gegenwärtiges Konzept der Membranstruktur. Die Abbildung zeigt Proteine, die in eine Lipid-Doppelmembran eingebettet sind.

Die Proteine können entweder Strukturelemente sein oder Transportproteine, die Stoffe durch die biologische Membran in die Zelle transportieren. Die Tatsache, daß viele Proteine mit den Lipiden direkt verbunden sind, deutet darauf hin, daß Proteine auf ihrer Oberfläche hydrophobe Bereiche enthalten, die das Eintauchen in die Lipide ermöglichen. Im Laboratorium konnte dies noch nicht bewiesen werden. Zwar enthalten Proteine hydrophobe Bereiche, doch ob diese außen oder innen, oder außen und innen vorkommen, muß noch geklärt werden.

Abbildung 16 zeigt eine synthetische „biologische Zelle“. Durch Schütteln der Lösung eines Phospholipids (Lecithin) mit Cytochrom sind diese Liposomen (weiche Kügelchen) entstanden. Im elektronenmikroskopischen Bild erkennt man mehrfache und einfache Lipid-Doppelschichten, die mit Protein gefüllt sind<sup>[19]</sup>. Die Experimente wurden vor etwa acht Jahren in England durchgeführt. Nach dem Forscher, der sie zuerst hergestellt hat, habe ich die Kügelchen „Bangasomen“ genannt<sup>[20]</sup>. Gewöhnlich nennt man sie Liposomen. Ihre osmotischen Eigenschaften, Transporteigenschaften und eine Anzahl weiterer Eigenschaften ähneln denen lebender Zellen.

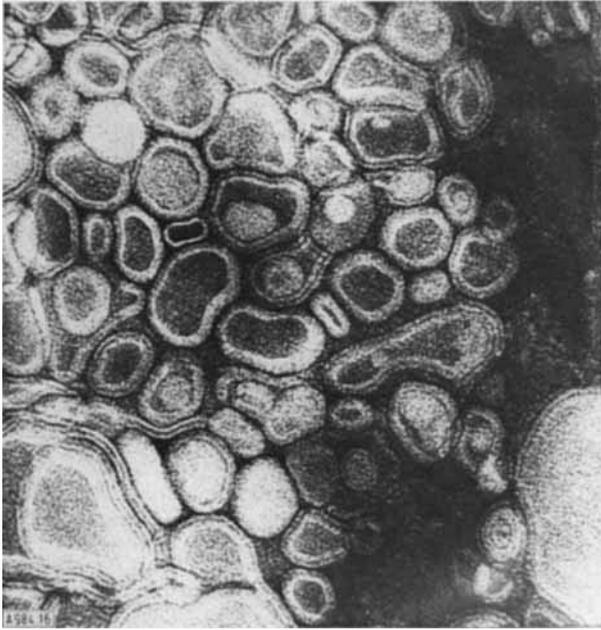


Abb. 16. Liposomen aus Phospholipid und Cytochrom (nach Horne und Watkins).

Wie können Stoffe durch die Membran hinein- oder herauskommen? Auf welche Weise werden sie transportiert? Können bestimmte Proteine an die Membranen angelagert werden, um dort bestimmte Aufgaben zu erfüllen? Eine Reihe unbeantworteter Fragen! Untersuchungen sind im Gange; als neues Arbeitsgebiet, als neue Ära blüht diese Wissenschaft gerade erst auf. Erst jetzt sind die Polymer-Physikochemiker tätig geworden.

Bekanntlich werden anionische, kationische und nichtionische Detergentien zur Isolierung von Enzymen aus der lebenden Zelle eingesetzt. Für lösliche Proteine (lösliche Enzyme) gibt es inzwischen gut ausgearbeitete Vorschriften. Bei unlöslichen Enzymen ist das anders. Die Schwierigkeiten bei der Isolierung membrangebundener Enzyme aus der Zell- oder Mitochondrienmembran oder irgendwelchen anderen membranösen Strukturen konnten erst mit Detergentien überwunden werden. Vor ein paar Jahren begannen wir unbefangen (das hat Vor- und Nachteile), die Enzyme, die uns interessierten (die RNA-gesteuerte DNA-Polymerase, RIDP) zu isolieren. Wir mußten erst lernen, daß dazu Detergentien erforderlich sind. Wir erfuhren dann weiter, daß bei Entfernung des Detergens das Enzym selbst oder wenigstens seine Aktivität verschwand. Dies brachte uns auf die Idee, daß die Enzymaktivität vielleicht von der Anwesenheit eines Detergensmoleküls abhing, d. h. von irgendeiner Lipidkomponente, welche die Konformation des Enzyms änderte und dabei dessen Aktivität induzierte oder wenigstens erhöhte. Die beobachteten Restaktivitäten bei der Extraktion *ohne* synthetische Detergentien sollten demnach lediglich dem natürlichen Phospholipid zu verdanken sein, das bei der Ultraschallbehandlung abgelöst wurde.

Wir fanden auch, daß es durch Zugabe einer geringen Menge gewisser nichtionischer Detergentien möglich war, die enzymatische Aktivität zurückzuerhalten. Dies führte die Entwicklung in eine neue Richtung. Niemand glaubte wirklich, daß die wahre Aktivität eines Enzyms von dessen Anlagerung an ein Detergensmolekül abhing. Bisher hatte man angenommen, daß die Detergensmoleküle die Enzyme aus der Lipidmembran herauslösten. Das Detergens nimmt das Enzym tatsächlich

aus der Lipidmembran heraus; für die Aktivierung des Enzyms sind jedoch keine großen Mengen Detergens erforderlich.

Die Aktivierung der RNA-gesteuerten DNA-Polymerase durch Detergentien zeigt Abbildung 17. RIDP ist das Enzym, das RNA in DNA kopiert; es wird meist als „reversible Transkriptase“ bezeichnet. Die Arbeiten über dieses Enzym brachten einen der wichtigsten Fortschritte der vergangenen zwei oder drei Jahre, besonders im Zusammenhang mit den Tumor-

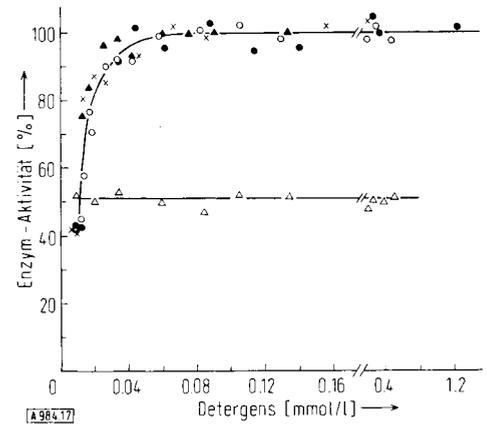


Abb. 17. Aktivierung der RNA-gesteuerten DNA-Polymerase durch ein Detergens. 100% = maximale Aktivität.

viren. Die Aktivität des Enzyms wird durch Zusatz geeigneter Mengen nichtionischer Detergentien gesteigert<sup>[21, 22]</sup>. Dies ist eine positive Wechselwirkung von Molekülen. Zu diesem Ergebnis kamen wir nebenher während technischer Entwicklungen für das Studium der Enzyme. Wie es bei dieser Art Arbeit häufiger vorkommt, entpuppten sich diese Fragen jedoch als zentrales Problem.

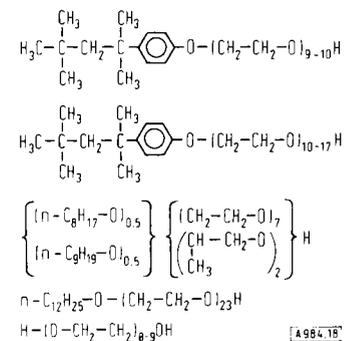


Abb. 18. Struktur der für die Aktivierung der RIDPase eingesetzten Detergentien. Von oben nach unten: Triton X-100, Triton X-1017, Triton DN-65, Brij 35, Polyäthylenglykol-400.

Wir studierten gerade die Hemmung der RIDPase durch Arzneimittel mit dem Gedanken, durch diese Stoffe möglicherweise die Umwandlung von normalen Zellen in Krebszellen durch Viren zu hemmen, welche dieses Enzym enthalten. Die RIDPase kopiert die Virus-RNA in DNA, die dann der DNA der Zelle einverleibt wird und so die Zelle transformiert. Es galt, ein Präparat zu finden, das die RIDPase hemmt und damit die Transformation in Krebszellen verhindert. Die Hemmung des Enzyms mußte dazu unter vielen Bedingungen untersucht werden. Dies war auch der Anlaß unserer Untersuchungen über den Einfluß von Detergentien auf die enzymatische Aktivität. Wir besaßen einige ausgezeichnete Enzyminhibitoren in den Arzneimitteln selbst. Rifampicin und seine Derivate

sind lipophile Substanzen. Es stellte sich heraus, daß die Präparate die RIDPase-Aktivität nicht mehr hemmten, wenn zu viel Detergens vorhanden war.

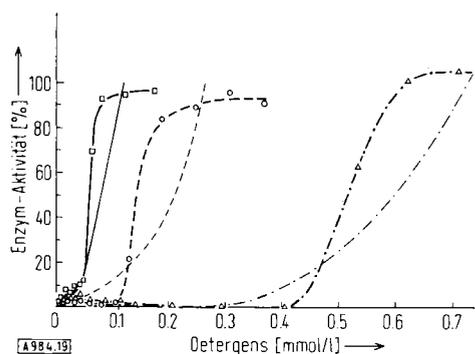


Abb. 19. Unterdrückung des Arzneimittelleffekts auf die RIDPase durch Detergentien (○, □, △) (siehe Text).

Die Struktur der verwendeten Detergentien ist in Abbildung 18 aufgeführt. Einige der Detergentien sind aromatisch (Triton-Typen), andere nicht, eine wichtige Tatsache. Der Einfluß dreier Detergentien auf die Fähigkeit eines Arzneimittels mit hydrophobem Schwanz und hydrophilem Kopf, das Enzym zu hemmen, ist in Abbildung 19 aufgezeichnet. Es wurde versucht, die kritische Konzentration der Detergentien zur Micellenbildung aufzutragen. Die Fähigkeit, das Arzneimittel von der Enzymhemmung abzuhalten, hängt von der Micellenbildung ab<sup>[22]</sup>. Wir interpretieren diese Befunde so: Wenn zu viel Detergenz vorhanden ist, bilden sich Micellen; die Micellen lösen das Arzneimittel auf und entfernen es dadurch vom hydrophoben Bereich des Enzyms. Das Arzneimittel kann nun nicht mehr auf das Enzym wirken, so daß dieses zur vollen Aktivität zurückkehrt.

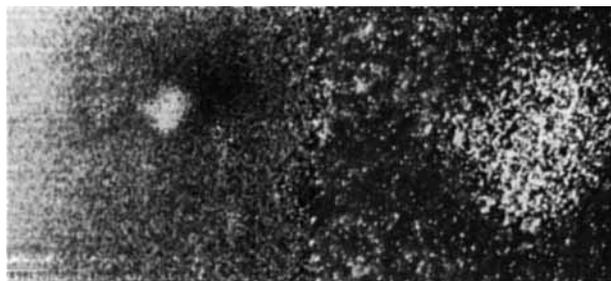


Abb. 20. MSV-Focus-Bildung bei Balb/3T3-Zellen. (Dunkelfeldbeleuchtung).

In Abbildung 20 sind zwei Vergrößerungen einer Gewebekultur zu sehen, die zum Krebs transformiert worden ist. Sobald die Zellen zu Krebszellen transformiert sind, überwuchern sie einander und bilden kleine „Noppen“, die Foci genannt werden. Wir haben gefunden, daß die Transformation der Zellen durch den Virus unterbleibt, wenn man eine geeignete Konzentration des Arzneimittels einstellt, was man an der

Hemmung der Focus-Bildung beobachten kann<sup>[23]</sup>. Wir sind noch einen Schritt weitergegangen und konnten zeigen, daß man die Tumorbildung mit solchen Stoffen auch in ganzen Tieren verhindern kann<sup>[24]</sup>. Auch hier ist eine geeignete Kombination von Detergens und Arzneimittel erforderlich, damit nicht das Detergens die Wirkung des Arzneimittels verdirbt. Ich hoffe, daß ich mit den oben beschriebenen Beispielen eine kleine Ahnung vermitteln konnte, in welches Wunderland man kommen kann, wenn man nur will. Ich wollte auch für diejenigen, die nicht auf dem Gebiet der Biochemie und Molekularbiologie arbeiten, einen Einblick geben, in welcher Weise der Polymerchemiker die Entwicklung unserer Grundvorstellungen von der Natur des Lebens, von seiner Entstehung und von der Anwendung unseres Wissens auf die täglichen Probleme beeinflussen kann.

Die hier beschriebenen eigenen Arbeiten wurden von der U. S. Atomic Energy Commission und der Elsa U. Pardee Foundation for Cancer Research unterstützt.

Eingegangen am 15. Juni 1973 [A 984]  
Übersetzt von Doz. Dr. Klaus Wegmann, Tübingen

- [1] P. J. Flory, *Angew. Chem.* 86, 109 (1974); *Angew. Chem. internat. Edit.* 13, Nr. 2 (1974).
- [2] M. Calvin: *Chemical Evolution*. Oxford University Press, Oxford 1969, S. 152ff.
- [3] Siehe [2], dort S. 161ff.; D. H. Kenyon u. G. Steinman: *Biochemical Predestination*. McGraw-Hill, New York 1969, S. 182ff.
- [4] D. H. Kenyon, G. Steinman u. M. Calvin, *Biochim. Biophys. Acta* 124, 339 (1966).
- [5] G. Steinman u. M. N. Cole, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 58, 735 (1967).
- [6] K. Harada u. S. W. Fox in S. W. Fox: *Origins of Prebiological Systems and Their Molecular Matrices*. Academic Press, New York 1965, S. 296.
- [7] a) M. Paecht-Horowitz, J. D. Breger u. A. Katchalsky, *Nature* 228, 636 (1970); b) M. Paecht-Horowitz, *Angew. Chem.* 85, 422 (1973); *Angew. Chem. internat. Edit.* 12, 349 (1973).
- [8] M. Paecht-Horowitz u. A. Katchalsky, *J. Mol. Evol.* 2, 91 (1973).
- [9] M. Eigen, *Naturwissenschaften* 58, 465 (1971); vgl. H. Kuhn, *Angew. Chem.* 84, 838 (1972); *Angew. Chem. internat. Edit.* 11, 798 (1972).
- [10] F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* 38, 267 (1968).
- [11] L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* 38, 381 (1968).
- [12] M. A. Harpold u. M. Calvin, *Nature* 219, 486 (1968).
- [13] M. A. Harpold u. M. Calvin, *Biochim. Biophys. Acta* 308, 117 (1973).
- [14] M. Calvin, *Proc. Roy. Soc. Edinburgh Section 70*, 273 (1969).
- [15] Diskussion der Grundlagen über die dreidimensionale Struktur und ihre Selbstentstehung siehe [2], dort S. 187ff.
- [16] Diskussion über die Grundlagen der Quartärstruktur siehe [2], dort S. 196.
- [17] Diskussion über die Wiederzusammenlagerung siehe [2], dort S. 216ff.
- [18] D. J. Kushner, *Bacteriol. Rev.* 33, 302 (1969).
- [19] D. Papahadjopoulos u. N. Miller, *Biochim. Biophys. Acta* 135, 624 (1967); D. Papahadjopoulos u. W. Watkins, *ibid.* 135, 639 (1967).
- [20] A. D. Bangham, J. DeGier u. G. D. Grevitch, *Chem. Phys. Lipids* 1, 225 (1967).
- [21] F. M. Thompson, L. J. Libertini, U. R. Joss u. M. Calvin, *Science* 178, 505 (1972).
- [22] F. M. Thompson, L. J. Libertini, U. R. Joss u. M. Calvin, *Biochemistry*, im Druck.
- [23] M. Calvin, *Radiation Res.* 50, 105 (1972).
- [24] U. R. Joss, A. M. Hughes u. M. Calvin, *Nature*, im Druck.