

Der Weg zu nichtenzymatischen molekularen Netzwerken

Zehavit Dadon, Nathaniel Wagner und Gonen Ashkenasy*

Chemie der Systeme · Minimale Selbstreplikation ·
Selbstorganisierte Netzwerke ·
Templatunterstützte Katalyse

Dieser Kurzaufsatz gibt einen Überblick über aktuelle Fortschritte auf dem Gebiet der Konstruktion und der Analyse von chemischen Systemen, die templatgelenkte autokatalytische und kreuzkatalytische Vorgänge als Mittel zum Verknüpfen dynamisch wechselwirkender Moleküle einsetzen. Dabei werden synthetische Netzwerke aus zwei bis neun replizierenden Einheiten erörtert, und es wird gezeigt, dass bei größeren Systemen mehr katalytische Wege beeinflusst werden müssen, um die Gesamttopologie des Netzwerks und die Funktionalität der einzelnen Einheiten oder Unternetzwerke zu beherrschen. Die Zellbiochemie ist ein Beispiel für ein natürliches funktionales molekulares Netzwerk. Synthetische selbstorganisierte Netzwerke können zusätzliche Modelle für komplexere Systeme bereitstellen.

zung von zellulären Netzwerken werden gegenwärtig in den Berichten über integrierte Genom- und Proteomanalysen offenkundig.

Chemiker und Molekularbiologen haben in den vergangenen Jahren versucht, einfache dynamische molekulare Netzwerke aufzubauen und zu ana-

lysieren. Dabei erwies sich die Zellbiochemie als ein natürliches Beispiel für funktionale Netzwerke. Rational entworfene selbstorganisierte synthetische Netzwerke stellen zusätzlich nützliche Modelle bereit, um das Verhalten komplexer Systeme zu studieren. Die intermolekularen Wechselwirkungen und dynamischen Vorgänge in synthetischen Netzwerken können einfacher gesteuert und beeinflusst werden als jene der robusten zellulären Netzwerke. Netzwerke aus nichtnatürlichen Spezies können neue Verhaltensmuster zeigen, die in natürlichen Systemen nicht beobachtet werden. Darüber hinaus können synthetische Netzwerke – in Theorie und Praxis – gleichzeitig mehrere Aufgaben ausführen, wie etwa die templatunterstützte Katalyse oder Reizaufnahme.

Der Kurzaufsatz behandelt die Rolle der templatgelenkten intermolekularen Autokatalyse und Kreuzkatalyse beim Aufbau von Netzwerken dynamisch wechselwirkender Moleküle. Synthetische Netzwerke, die durch Replikation von Molekülen (oder Molekülteilen) wirken, haben im Zusammenhang mit frühen molekularen Evolutionsstadien und der Entstehung des Lebens beachtliche Aufmerksamkeit gefunden. Die Entwicklung und Analyse von minimalen autokatalytischen Systemen ist in mehreren Aufsätzen beschrieben worden.^[2] Diese Forschungsarbeiten werden wir nur in der Einleitung kurz anreißen, um die funktionalen chemischen Einheiten von Netzwerken vorzustellen und die kinetischen Parameter aufzuzeigen, die für verschiedene Gesichtspunkte

1. Einführung

Viele Systeme sind aus Netzwerken miteinander verbundener Einheiten aufgebaut. Solche Netzwerke mit sehr unterschiedlichen Größen, Maßstäben und Funktionalitäten (beispielsweise biochemische, ökologische und ökonomische Netzwerke oder auch Gerüstkonstruktionen) haben viele Organisationsmerkmale gemeinsam.^[1] Biochemische Netzwerke, die das Zellverhalten steuern, können als Denkmäler für die Entwicklung von funktionalen molekularen Netzwerken dienen. Deren Verhalten folgt aus einem komplizierten Geflecht von Wechselwirkungen zwischen zahlreichen Bestandteilen, z. B. DNA, RNA, Proteinen und niedermolekularen Verbindungen. Zellen setzen Signalwege und Regelmechanismen ein, um mannigfaltige Vorgänge zu koordinieren und die Anpassung an eine sich ständig ändernde Umgebung zu ermöglichen. Die große Zahl der Bestandteile, die gegenseitige Abhängigkeit und die komplizierte Steue-

[*] Z. Dadon, Dr. N. Wagner, Dr. G. Ashkenasy
Department of Chemistry
Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva 84105 (Israel)
Fax: (+ 972) 8-646-2943
E-Mail: gonenash@bgu.ac.il

 Weitere Informationen zu diesem Aufsatz sind auf dem WWW unter WWW unter <http://www.angewandte.org> oder direkt von den Autoren verfügbar.

der Netzwerkfunktionalität wichtig sind. Danach werden die Fortschritte auf dem Gebiet nicht chronologisch, sondern mit Bezug auf die Komplexität von nichtenzymatischen katalytischen Netzwerken hervorgehoben, um zu zeigen, wie die Zahl an katalytischen Wegen mit zunehmender Systemgröße ansteigt. Diese Wege müssen gesteuert werden, um eine spezifische Funktionalität der Gesamttopologie des Netzwerks, der Beziehungen von Unternetzwerken und der einzelnen katalytischen Wege zu erzielen.

1.1. Minimale selbstreplizierende Systeme

Die Selbstreplikation von synthetischen Molekülen kann als vereinfachte Version des komplizierten, vielstufigen Vorgangs angesehen werden, der identische Kopien von Makromolekülen in Zellen hervorbringt. Es sind bereits minimale selbstreplizierende Systeme untersucht worden, die Nucleinsäuren (DNA^[3] und RNA^[4]), Peptide,^[5] Protein-Nucleinsäure-Kombinationen^[6] und niedermolekulare organische Verbindungen betreffen.^[2b,7] In jedem Zyklus des Selbstreplikationsvorgangs bindet das replizierende Molekül (T) die kürzeren Moleküle A und B, die zugleich seine eigenen Fragmente sind, unter Bildung des ternären Komplexes A-B-T, bringt ihre reaktiven Enden in Nachbarschaft zueinander und ermöglicht so die kovalenten Verknüpfung (Abbildung 1).

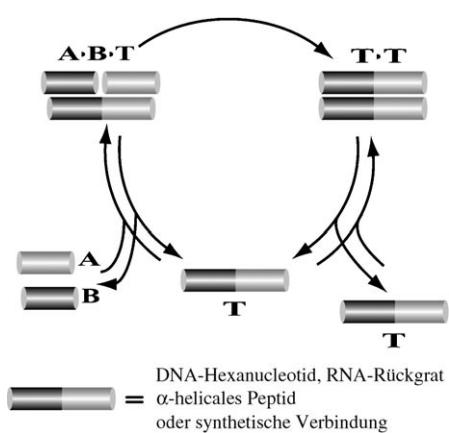


Abbildung 1. Ein autokatalytischer Zyklus. Autokatalyse wurde mit DNA, RNA, Peptiden und abiotischen Verbindungen nachgewiesen. Die Leistungsfähigkeit des Systems hängt von der Neigung des Templat T und seiner Fragmente, den Komplex A-B-T zu bilden, und von der Dissoziationsgeschwindigkeit des Katalysator-Produkt-Dimers T-T ab. Die vier angeführten Verbindungsklassen sind verwendet worden, um binäre oder größere Netzwerke aufzubauen.

Die Kupplung von A und B ergibt eine weitere Kopie von T. Anschließend trennt sich der Templat-Produkt-Komplex T-T in zwei Kopien von T, die in den nächsten Replikationszyklus eintreten können.

Abbildung 2a zeigt den Reaktionsmechanismus der Selbstreplikation. Dieses Modell genügt im Allgemeinen für die Beschreibung der autokatalytischen Selbstreplikation.^[8] Es ist aber auch ein vollständiges kinetisches Modell entwickelt worden, um weite Bereiche des Verhaltens unter ver-



Zehavit Dadon erhielt ihren B.Sc. in Chemie an der Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva (Israel). Gegenwärtig befasst sie sich in der Abteilung für Chemie mit dem Entwurf, der Synthese und der Analyse von Heterogenkatalysatoren auf Peptidbasis.



Nathaniel Wagner promovierte 1992 in Physik an der Hebrew University of Jerusalem. In den folgenden Jahren beschäftigte er sich beruflich mit Signalverarbeitung, Computermodelling und der Entwicklung von Algorithmen. Seine gegenwärtigen Forschungsinteressen an der Ben Gurion Universität umfassen komplexe Systeme, die Thermodynamik von lebenden Systemen und das Modellieren von kinetischen Profilen molekularer Netzwerke.



Gonen Ashkenasy promovierte 2001 in organischer Chemie am Weizmann Institute of Science. Anschließend untersuchte er vier Jahre als Postdoktorand am Scripps Research Institute bei Prof. M. Reza Ghadiri die Entwicklung und Funktionsanalyse von synthetischen Netzwerken. Anfang 2006 trat er dann eine Stelle am chemischen Institut der Ben-Gurion-Universität an. Die Forschungsinteressen seiner Arbeitsgruppe umfassen den molekularen Aufbau von Wiederholungsproteinen, den Entwurf und die Synthese von Peptidkatalysatoren sowie theoretische und experimentelle Gesichtspunkte synthetischer Netzwerke.

schiedenen Bedingungen zu erklären.^[9] Abbildung 2b zeigt die kinetischen Profile für zwei Extremfälle, nämlich die parabolische und die exponentielle Replikation. Für die Herstellung eines leistungsfähigen autokatalytischen Systems müssen mehrere Parameter optimiert werden. Zunächst sollte das Templat T eng und selektiv an die Substrate A und B binden, um eine wesentliche Population des Intermediats A-B-T zu ergeben. Zweitens sollte der Verknüpfungsschritt, der den Komplex A-B-T in den Komplex T-T umwandelt, von dem Templat im Vergleich zu der templatfreien Reaktion gefördert werden. Und drittens sollte das Produkt bereitwillig freigesetzt werden, um Katalysatormoleküle für die nachfolgenden Zyklen zu liefern.

Die Leistungsfähigkeit der Replikation wird üblicherweise durch zwei kinetische Parameter beschrieben:^[2b,i,8] ε , das Verhältnis zwischen der templatunterstützten und der templatfreien Verknüpfungsreaktion, und den Ordnungsparameter p , der die Produktbildungsraten mit der (gesamten) Produktkonzentration hoch p in Beziehung stellt. Der Parameter p wird aus einer logarithmischen Auftragung der Anfangsreaktionsgeschwindigkeit gegen die Anfangskonzentration des Templat T experimentell bestimmt (Abbildung 2c).

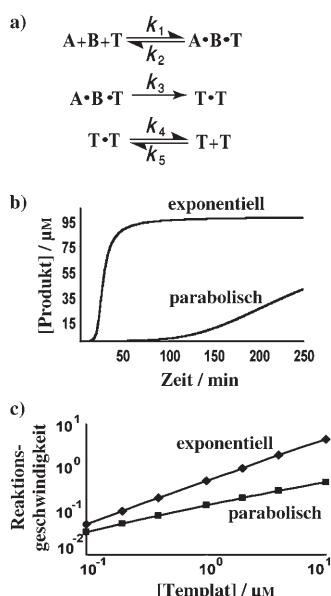


Abbildung 2. a) Ein einfacher Reaktionsmechanismus für einen autokatalytischen Vorgang.^[8] b) Kinetische Profile des parabolischen und exponentiellen Wachstums selbstreplizierender Moleküle. Die beiden Kurven wurden durch Simulation mit Parametern aus Peptidreplikationsexperimenten, einschließlich einer langsamem templatfreien Bildung von T und Impfmengen von 0.1 Mol-%, erhalten. Das gewünschte exponentielle Wachstum wird üblicherweise bei einer schnellen Dissoziation von T-T beobachtet. Die beiden Vorgänge wurden mit einem tausendfachen Unterschied des Dissoziationsparameters k_4 simuliert. c) Eine doppeltlogarithmische Auftragung der Anfangsproduktbildungsgeschwindigkeit gegen den Zusatz an Templat T als Ergebnis einer Simulation mit den unter (b) beschriebenen Parametern. Wie bei der Analyse der experimentellen Ergebnisse entsprechen die Anstiege p -Werten um 0.5 und 1 für parabolisches bzw. exponentielles Wachstum.

Der größtmögliche Wert, $p=1$, entspricht einer schnellen Trennung von T-T, die eine exponentielle autokatalytische Verstärkung ermöglicht, während $p=0.5$ einer langsamen, geschwindigkeitsbestimmenden Trennung des Komplexes T-T entspricht, also einer Produkthemmung, was zu einem parabolischen Wachstum führt.^[22] In einer theoretischen Arbeit über minimale Replikatoren erläuterte von Kiedrowski verschiedene Fälle von schwachem und starkem exponentiellem Wachstum, die von den Systembedingungen und den Geschwindigkeitskonstanten abhängen.^[8] Die meisten untersuchten Systeme replizierten sich parabolisch, einige speziell entworfene^[10] oder ausgewählte^[11] Systeme waren aber stark autokatalytisch und replizierten sich mit einer hohen Verstärkung und einem Parameter p nahe 1.

Für alle vier in Abbildung 1 gezeigten Verbindungsklassen wurden binäre oder größere Systeme abgeleitet, die sich außer durch Autokatalyse auch durch kreuzkatalytische Vorgänge replizieren können, wobei das Templat die Entstehung anderer Moleküle – üblicherweise von eigenen Mutanten – fördert. Die katalytische Leistungsfähigkeit und die Art der Replikation spielen eine zentrale Rolle beim Entwurf und bei der Steuerung von konkurrierenden Wegen innerhalb der Netzwerke, wie in den folgenden Abschnitten ausführlich erörtert wird.

2. Einfache Netzwerke mit Autokatalyse und Kreuzkatalyse

Ein Molekülgemisch kann im weiten Sinn als „Netzwerk“ angesehen werden, wenn alle Komponenten an einer Art von Wechselwirkung mit anderen Molekülen teilnehmen, seien es nun physikalische Wechselwirkungen (d.h. kovalente oder nichtkovalente Bindungen) oder funktionale Wechselwirkungen wie ein Beitrag zu bestimmten katalytischen Vorgängen. Das einfachste Netzwerk besteht aus zwei Molekülen, die produktiv oder nichtproduktiv (konkurrierend) wechselwirken. Die templatunterstützten Verknüpfungsreaktionen (Kupplungen) bei der Selbstreplikation können als Funktionseinheiten angesehen werden, die zwei Einheiten eines katalytischen Netzwerks miteinander verbinden. Bei einem solchen Vorgang kann das Templat T seine eigene Bildung katalysieren, aber auch die Bildung eines anderen Moleküls (T'), das seinerseits als Templat für eine Reaktion in dem Netzwerk dienen kann. In isolierten Systemen, also nicht innerhalb eines katalytischen Netzwerks, sind selektive kreuzkatalytische Vorgänge mit Peptiden gefunden worden.^[12] Solche Untersuchungen sind als Teil einer Arbeit über ein kleines Netzwerk mit DNA^[13] ausgeführt worden (siehe Abschnitt 3). Wie bei den meisten autokatalytischen Systemen ist eine leistungsstarke Kreuzkatalyse oft von einer starken Substrathemmung begleitet, die von der Strukturpaarung, die zur Bildung des neuen Produkts erforderlich ist, verursacht wird.

Das Einbeziehen von Autokatalyse und Kreuzkatalyse in binäre Systeme kann auf verschiedene Weise erfolgen und hängt von den Eigenschaften der beiden Moleküle ab (Abbildung 3). Für eine stimmige Beschreibung von binären und größeren Netzwerken verwenden wir Schemata ähnlich den Darstellungen in der Systembiologie: Die Netzwerke werden durch Graphen von „zusammengefassten Knoten“ („collected nodes“) und „gerichteten Kanten“ („directed edges“) dargestellt. Definitionsgemäß stehen die Knoten für Templat- oder Produktmoleküle, während die Kanten katalytische Vorgänge anzeigen, die von den Templayten zu deren Produkten verlaufen. Abbildung 3 zeigt ein Schema mit fünf möglichen intermolekularen Beziehungen in einem binären System. Die „vollständige“ Situation, in der jedes Molekül autokatalytisch wirkt und auch die Bildung des anderen katalysieren kann, wird ausführlich beschrieben, und auch die Gleichwertigkeit der beiden Darstellungen des Netzwerks wird erklärt (Abbildung 3a). Die beiden Extremfälle, in denen die Templayte entweder nur als Autokatalysatoren oder nur über Kreuzkatalyse wirken, sind in den Abbildungen 3b und c dargestellt. Die Abbildungen 3d und e zeigen schließlich nichtsymmetrische Netzwerke, bei denen der kreuzkatalytische Weg nur in einer Richtung verläuft oder in einer Richtung stärker ausgeprägt ist. Solche Beziehungen sind in binären Netzwerken oder in Unternetzwerken von größeren Systemen experimentell verwirklicht und mathematisch simuliert worden.

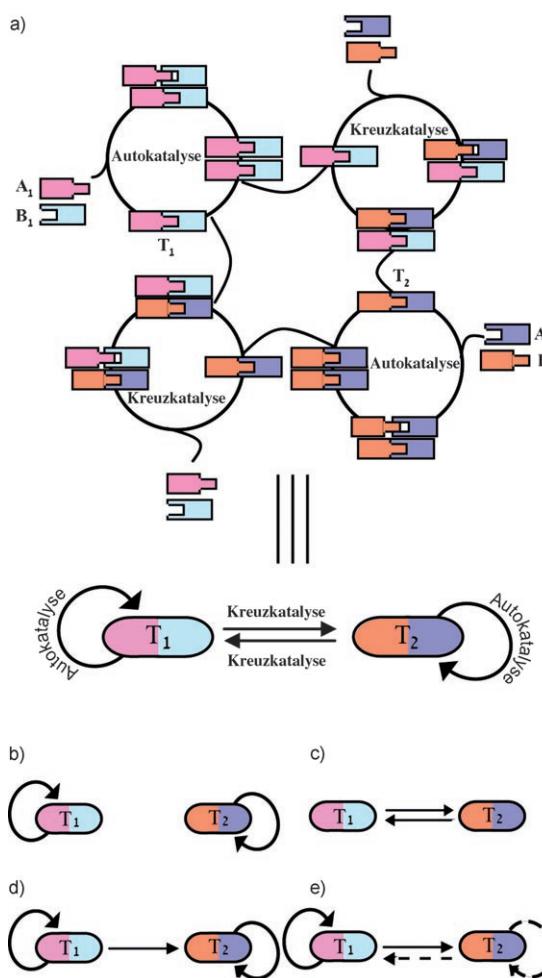


Abbildung 3. Graphen von binären molekularen Netzwerken. Die Knoten stellen Molekülspezies dar, die Kanten stehen für katalytische Vorgänge. Die Knoten an „Pfeilenden“ verstärken die Bildung der Knoten an „Pfeilspitzen“. Kreisförmige Pfeile stellen autokatalytische Vorgänge dar, gestrichelte Pfeile schwache Vorgänge. Die „vollständige“ Situation, bei der jedes Molekül ein Autokatalysator ist, ist in (a) zusammen mit seiner graphenanalytischen Darstellung wiedergegeben.

2.1. Reziproke Katalyse in binären Systemen

Binäre molekulare Systeme, die sich durch reziproke Katalyse replizieren, umfassen zwei Templat/Produkt-Moleküle T_1 und T_2 , die aus zwei Sätzen von Fragmenten – A_1, B_1 bzw. A_2, B_2 – gebildet werden (Abbildung 3a). T_1 und T_2 können dimere Strukturen bilden, während die Selbstdimerisierung durch strukturelle oder elektronische Effekte minimiert ist. Als Folge kann jedes Templat selektiv an die Fragmente binden, die zur Bildung des anderen Templatzes führen und so deren Kondensation beschleunigen [siehe Abbildung 3c und Gl. (1) und (2)].



Die reziproke Kreuzkatalyse ist schon früh als eine zweite

Organisationsebene der Autokatalyse erörtert worden, und sie wurde als Modell für die Replikation von Doppelstrang-DNA betrachtet.^[14] Die experimentelle Analyse des reziproken Verhaltens der beiden Moleküle ist einfach, wenn sie isoliert erfolgen kann. Solche Untersuchungen sollten ergeben, dass T_1 beim Zusatz von T_2 in stärkerem Ausmaß aus A_1 und B_1 gebildet wird als ohne T_2 -Zugabe oder beim Zusatz von T_1 . Entsprechendes gilt für die Bildung von T_2 aus A_2 und B_2 .

Bei Systemen, in denen eine vergleichbare chemische Reaktion zur Entstehung von T_1 und T_2 führt, können auch Kreuzkupplungen von $A_1 + B_2$ und $A_2 + B_1$ auftreten, so dass T_{12} bzw. T_{21} entstehen (beispielsweise bei dem RNA-System in Lit. [15]). Auch wenn solche Vorgänge nur als nichtkatalysierte Reaktionen stattfinden, entsteht als Ergebnis ein Netzwerk aus vier Einheiten (Abschnitt 3.1), und die kinetische Analyse wird entsprechend kompliziert.

Kim und Joyce haben ein RNA-Ligase/Ribozym-System zur selektiven kreuzkatalytischen RNA-unterstützten Verknüpfung entwickelt.^[15] Dieses System verwendet die katalytische Einheit der R3C-Ligase, die den Angriff der 3'-Hydroxygruppe an ein RNA-Substrat des 5'-Phosphodiesters katalysiert; diese Einheit ist außerdem zur Selbstdreplikation befähigt.^[4] Die Symmetrie der ursprünglichen selbstdreplizierenden Ligaseribozyme wurde gebrochen, sodass die Autoren ein Gemisch der vier entsprechenden Oligonucleotide herstellen und so verfolgen konnten, wie jedes Ribozym die Bildung des anderen verstärkte. Um die katalytische Aktivität der Ribozyme zu bewahren, wurde die Symmetrie durch Mutationen in der Nähe der 5'- und 3'-Enden der Ribozyme gebrochen, ohne die katalytische Einheit zu verändern.

Rebek und Mitarbeiter beobachteten einen reziproken Templateffekt in einem System mit abiotischen Arenen als Produkten und Bisadeninderivaten als Templaten.^[16] Erst kürzlich wurde von Kassianidis und Philp ein System mit zwei komplementären Templaten aus abiotischen organischen Verbindungen beschrieben, die sich durch Diels-Alder-Reaktionen replizieren (Abbildung 4).^[17] Ähnlich wie bei dem ursprünglichen selbstdreplizierenden Molekül in dem einfacheren System^[7c] können von jedem der beiden Templaten zwei Diastereomere gebildet werden, nämlich die *endo*- und *exo*-Isomere von T_1 und die *cis*- und *trans*-Isomere von T_2 . Daher konnte die Informationsübertragung zwischen den Templaten aus dem Unterschied der Diastereoselektivität der templatfreien bimolekularen und der templatgekennzeichneten Reaktion bestimmt werden. Die Autoren vermuteten nach Rechnungen zur elektronischen Struktur – und konnten anschließend auch experimentell belegen –, dass ein Templat eine maßgebliche Komplementarität für den Übergangszustand aufweist, sodass nur ein Diastereomer des Partners entsteht (Abbildung 4).

Bei einer Untersuchung der gegenseitigen Replikation von zwei DNA-Molekülen mit RNA-Spaltungsaktivität wählten Levy und Ellington einen anderen Ansatz.^[11] In ihrem System kann jedes Molekül in einer aktiven linearen Form (L_A, L_B) und einer inaktiven zirkularen Form (C_A, C_B) vorliegen (Abbildung 5). Die linearen DNA-Moleküle spalteten die zirkulare Form des jeweils anderen Moleküls an einer spezifischen Stelle und erzeugten so eine neue aktive

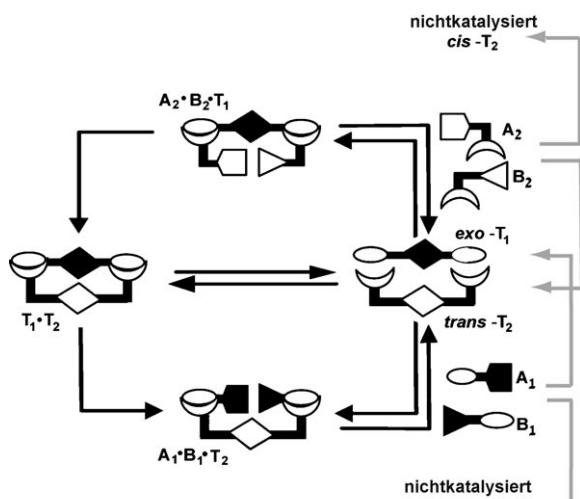


Abbildung 4. Reziproke Replikation durch zwei komplementäre Tempolate.^[17] Das System ist so aufgebaut, dass das *exo*-T₁-Isomer im Wesentlichen komplementär mit dem Übergangszustand ist, wodurch das *trans*-T₂-Isomer erhalten wird, und umgekehrt. Daher wird die Bildung dieser Diastereomere zu Lasten der anderen Diastereomere – *endo*-T₁ und *cis*-T₂ – verstärkt und zur Informationsübertragung verwendet. Durch Hintergrundreaktionen gebildetes *endo*-T₁ und *cis*-T₂ sind katalytisch inaktiv (oder weniger aktiv), tragen aber zum beobachteten Gesamtverhalten bei.

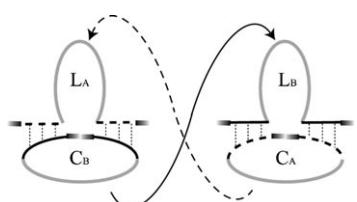


Abbildung 5. Reziproke Replikation von DNA-Molekülen in einem Spaltungszyklus.^[11] Die Spaltung von inaktivem C_B durch aktives L_A erzeugt aktives L_B, das seinerseits inaktives C_A zu aktivem L_A spaltet.

Spezies, die wiederum eine weitere katalytisch aktive Spezies der ersten Verbindung bildet. Nach dem Spaltungsschritt wurde das Produkt leicht freigegeben. Durch Zusatz der linearen Katalysatoren wurde eine wesentliche Verstärkung erreicht, und für das System wurden eine Reaktionsordnung von 1.0 und eine katalytische Leistung über 10⁹ berechnet.

2.2. Gleichzeitige Autokatalyse und Kreuzkatalyse in binären Systemen

Ein kleines Netzwerk aus zwei Molekülen, die sich jeweils sowohl über autokatalytische als auch über reziproke kreuzkatalytische Wege replizieren (Abbildung 3a), wurde mit zwei Coiled-Coil-Peptiden verwirklicht.^[18] Die Peptide be-ruhten auf zwei ursprünglich selbstreplizierenden Molekülen, die sich voneinander durch die Hydrophobiemuster ihrer Erkennungsflächen unterschieden. Durch den Umstand, dass ein Coiled-Coil-Verband verschiedene Reste in seinem hydrophoben Kern aufnehmen kann,^[19] können gemischte Oligomere entstehen, und tatsächlich wurde die Bildung jedes

Peptids auch in Gegenwart des anderen katalysiert. Ghadiri und Mitarbeiter schlugen daher vor, dass zwei solche Moleküle ein Unternetzwerk in größeren Systemen bilden und durch gegenseitige Replikation besser um verfügbare Quellen konkurrieren können. Ein solches Verhalten konnte später durch die Analyse von größeren molekularen Netzwerken überprüft werden (Abschnitt 3).

2.3. Asymmetrische Beziehungen zwischen Templaten in binären Systemen

Man kann sich eine Situation vorstellen, in der zwei Moleküle in einem Netzwerk verschiedene autokatalytische oder kreuzkatalytische Eigenschaften aufweisen. Solche Unterschiede bedingen große Konformations- und Topologieräume und stellen daher zentrale Gesichtspunkte beim Entwurf von Systemen mit komplexen Funktionen dar. Die Abbildungen 3d und e beschreiben Szenarien, bei denen ein Molekül als Katalysator für die Bildung eines anderen Moleküls des Netzwerks dient, während der umgekehrte Vorgang nicht stattfindet oder weniger wirkungsvoll ist. Im Zusammenhang der im vorigen Abschnitt beschriebenen Systeme mit gegenseitiger Replikation ist gezeigt worden, dass die beiden replizierenden Moleküle in ihren autokatalytischen Eigenschaften und ihrer Fähigkeit, die Bildung des jeweils anderen zu katalysieren, abweichen.^[18] Diese Unterschiede wurden dem Umstand zugeschrieben, dass die katalytische Leistungsfähigkeit des templatunterstützten Verknüpfungsvorgangs auf Peptidbasis direkt mit der Stabilität der Coiled-Coil-Konformation korreliert, entweder jener der Zwischenstufe T-A-B oder der des Produkt-Katalysator-Komplexes T-T'. Später wurde vorgeschlagen, dass in diese und ähnliche Systeme eine Asymmetrie eingeführt werden kann, da Homodimerkomplexe und nicht monomere Helices als Template dienen.^[20,21] Nichtsymmetrische Beziehungen zwischen Knoten von nichtenzymatischen Netzwerken wurden auch im Zusammenhang der Unternetzwerke von größeren Systemen untersucht (siehe Abbildung 8, 9 und 11).

2.4. Ternäre Systeme

Die Topologie von Netzwerken mit drei Komponenten kann verschiedene Funktionsmotive aufweisen. In den letzten Jahren sind solche Motive im Zusammenhang mit regulatorischen Netzwerken intensiv untersucht worden.^[16,22] Ternäre Netzwerke umfassen einen viel breiteren Bereich von intermolekularen Wechselwirkungen als binäre Systeme. Der Hauptunterschied liegt darin, dass die Funktionalität eines bestimmten Moleküls in einem ternären Netzwerk von den beiden anderen Molekülen, die unabhängig oder auch gemeinsam wirken können, verstärkt oder gehemmt werden kann.

Ein Beispiel eines ternären replizierenden Netzwerks auf Peptidbasis wurde aus einem ursprünglichen Replikator und zwei Mutanten mit jeweils einer einzelnen Leu → Ala-Mutation im hydrophoben Kern hergestellt.^[23] Da die Seitenkette von Ala kleiner ist als diejenige von Leu, sind die Coiled-Coil-

Verbände mit den Ala-Mutanten weniger dicht gepackt und weniger stabil. Daher ist zu erwarten, dass die templatunterstützten Verknüpfungsvorgänge mit den Ala-Mutanten als Templanten oder Substraten weniger wirkungsvoll sind. In mehreren Experimenten wurde das System mit jeder der drei Komponenten geimpft, und man kam zu dem Schluss, dass sich die ursprüngliche Sequenz – also die Leu-Mutante – selbst replizieren kann, nicht aber die Bildung ihrer Mutanten katalysiert. Andererseits replizieren sich die Ala-Mutanten nicht, während jede davon die Bildung der ursprünglichen Sequenz verstärkt. Es ist faszinierend, dass die intermolekularen Beziehungen in einem so einfachen chemischen System (Abbildung 6a) zu einem Szenario führen, das einer evolutionären Fehlerkorrektur ähnelt, wie sie nach der Zunahme von Mutationen einer produktiven Spezies in der Zelle abläuft.

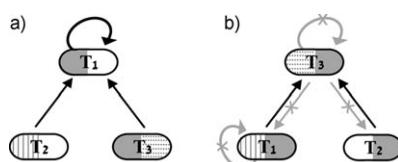


Abbildung 6. Organisationsmotive in ternären Peptidnetzwerken. a) Ternäres System als Modell von dynamischen Fehlerkorrekturvorgängen. Das Netzwerk besteht aus einem leistungsstarken Autokatalysator (T_1) und zwei seiner Mutanten (T_2 und T_3), die durch Austausch von Leu gegen Ala gebildet wurden. Die beiden Mutanten sind wenig wirkungsvolle Autokatalysatoren, sie katalysieren aber die Bildung von T_1 .^[23] b) Ternäres Netzwerk zur Herstellung des Peptids T_3 mit einer logischen OR-Operation unter Einbeziehung der beiden anderen Komponenten des Netzwerks. Das System verwendet nichtsymmetrische kreuzkatalytische Vorgänge, um konkurrierende Wege des Netzwerks „abzuschalten“ (graue Pfeile).^[24]

Bei der Suche nach logischen Operationen in solchen Netzwerken wurde einige Jahre später ein weiteres ternäres Netzwerk mit einer ähnlichen Topologie beschrieben.^[24] Das in Abbildung 6b gezeigte ternäre System ermöglicht die Herstellung eines Moleküls (T_3) durch ein logisches OR-Operationsmotiv von zwei anderen Molekülen. Der Aufbau des Systems verwendet nichtsymmetrische templatunterstützte Verknüpfungsvorgänge. Dabei wurde experimentell gefunden, dass das Motiv nur im chemischen Gemisch des gesamten Netzwerks aktiv ist, nicht jedoch, wenn die Komponenten einzeln eingesetzt werden, um die Wege isoliert zu betrachten. Dieses „Netzwerkverhalten“, das mehrere katalytische Wege abschaltet (z. B. die autokatalytische Bildung von T_3 , die bei der isolierten Untersuchung beobachtet wurde), wurde der Vorherrschaft von bestimmten Wegen über andere „latente“ Wege zugeschrieben, die in Abbildung 6b als inaktiv dargestellt sind.

2.5. Analytische Berechnung von einfachen nichtenzymatischen Netzwerken

Minimale selbstreplizierende Systeme sowie autokatalytische und kreuzkatalytische Netzwerke mit monomeren und

dimeren Katalysatoren sind mathematisch behandelt und numerisch berechnet worden. Zur Beschreibung der Konzentrations-Zeit-Profile von minimalen Selbstreplikatoren wurde schon früh ein empirisches Geschwindigkeitsgesetz verwendet.^[8] Die Differentialgleichung wurde analytisch (mit bestimmten Näherungen) und numerisch gelöst, um parabolische und exponentielle Wachstumskurven sowie Oberflächenkonturen der Reaktionsordnung p als Funktion der Gleichgewichtskonstanten des Systems zu erhalten. Systeme mit Nucleotiden^[3a] und Peptiden^[18] wurden modelliert, und die entsprechenden Differentialgleichungen wurden über eine Taylor-Reihen-Näherung gelöst.^[25] Durch Abgleich mit den experimentellen Daten für dieses Systeme wurden praktische Geschwindigkeitskonstanten erhalten. Reinhoudt et al.^[19] haben Systeme aus organischen Verbindungen modelliert und numerische Rechnungen auf der Grundlage von experimentellen Gleichgewichtskonstanten ausgeführt. Die gute Übereinstimmung zwischen den Vorhersagen und ihren Experimenten bestätigte ein umfassendes kinetisches Modell, das die Ergebnisse von Experimenten unter verschiedenen Bedingungen erklärte.^[26]

Wills et al. konnten ausführliche kinetische Ausdrücke für Einzeltemplat- und Mehrtemplat-Autokatalyse und Kreuzkatalyse unter Annahme stationärer Bedingungen analytisch lösen, wobei die Grenze zwischen Koexistenz und Konkurrenz in Systemen mit mehreren Templanten untersucht wurde.^[27a] Dieser Ansatz wurde in der Folge auf Replikationsreaktionen höherer Ordnung angewendet (in denen Dimere als Katalysator wirken). Dabei wurden Fixpunkte, Gabelungen und „Hyperzyklen“ beobachtet.^[27b]

Experimentelle Ergebnisse von autokatalytischen und kreuzkatalytischen Replikationen in Nucleotid-Netzwerken sind mit dem Programm SimFit kinetisch modelliert und durch Anpassung von Parametern numerisch berechnet worden.^[13] Für ein Modell eines experimentellen chiroselektiven Peptidnetzwerks (siehe Abschnitt 3.1)^[28] wurden die entsprechenden Differentialgleichungen numerisch gelöst, um den heterochiralen^[29a] und den homochiralen^[29b] Fall zu beleuchten.^[29c] Erst kürzlich haben Peacock-Lopez et al. die Reaktionskinetik von autokatalytischen und kreuzkatalytischen Selbstreplikationssystemen mit einem Satz von dimensionslosen Differentialgleichungen modelliert.^[30] Die numerische Lösung der Gleichungen führte zu zeitlichen und räumlichen Mustern mit Gabelungen und Oszillationen.

3. Netzwerke mit mehreren katalytischen Wegen

Die Erzeugung molekularer Systeme mit mehr als zwei oder drei Komponenten und einer vorgegebenen Funktion stellt eine Herausforderung dar. Die Hauptschwierigkeit liegt im Steuern der zahlreichen Vorgänge, die gleichzeitig stattfinden, wobei die Moleküle an mehr als einem Gleichgewicht beteiligt sind. Die Untersuchung solcher Systeme ermöglicht es aber, Vorgänge zu analysieren, wie sie üblicherweise nur in weitaus komplizierteren Systemen gefunden werden (z. B. in Zellen). In den folgenden Abschnitten beschreiben wir synthetische molekulare Systeme aus vier oder mehr Verbindungen, die ein „Netzwerkverhalten“ zeigen. Dieser Begriff

bezieht sich auf Vorgänge, die nur in solchen Gemischen auftreten und die gesamte Netzwerktopologie betreffen oder einzelne Wege über mehrfache Vorgaben steuern.

Abbildung 7 zeigt alle katalytischen Vorgänge, die in einem postulierten Netzwerk möglich sind. Jedes Molekül kann in dem Netzwerk prinzipiell auf vier verschiedene Weisen

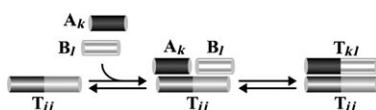


Abbildung 7. Allgemeine Darstellung der aktiven katalytischen Wege in Netzwerken. Wenn die Indices kl gleich ij sind, beschreibt die Gleichung einen autokatalytischen Vorgang, andernfalls beschreibt sie alle möglichen kreuzkatalytischen Vorgänge. In ihrer Gesamtheit beschreibt die Darstellung die größtmögliche Zahl von n^2 katalytischen Wegen in einem Netzwerk aus n Molekülarten.

wirken: autokatalytisch, kreuzkatalytisch, sowohl autokatalytisch als auch kreuzkatalytisch sowie nichtkatalytisch. Auch die unterschiedlich starke Wirkung für die einzelnen Vorgänge spielt eine wichtige Rolle. Außerdem sollten Moleküle, die nicht an katalytischen Wegen teilnehmen (weder als Templat noch als Produkt), aber mit anderen Molekülen um Ausgangsmaterialien konkurrieren, ebenfalls als Teil des Netzwerks angesehen werden.

Ein Beispiel eines Netzwerks mit sechs katalytischen Wegen wurde von Achilles und von Kiedrowski untersucht. Sie analysierten ein selbstreplizierendes System, das von den drei Bausteinen A, B und C ausgeht (Abbildung 8).^[31] In dem

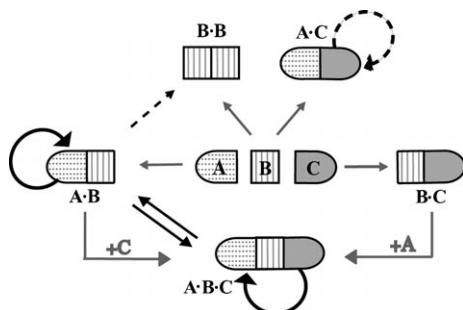
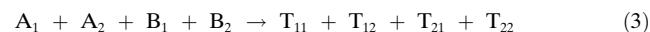


Abbildung 8. Netzwerk der DNA-Selbstreplikation mit den drei Baueinheiten A, B und C (Tri-, Di- bzw. Mononukleotide).^[31] Kondensationsprozesse sind als graue Pfeile gezeigt, templatunterstützte Reaktionen, die die Bildung eines Produkts durch ein anderes verstärken, als schwarze Pfeile. Gestrichelte Pfeile bezeichnen vergleichsweise schwache katalytische Wege.

Netzwerk wurde ein autokatalytisches Hexanukleotid (ABC) gebildet, das ein Kondensationsprodukt aller drei Fragmente darstellt. Außerdem wurden vier kleinere Spezies aus jeweils zwei Fragmenten gebildet, von denen drei an autokatalytischen oder kreuzkatalytischen Vorgängen beteiligt waren. Durch Zusatz zuvor hergestellten Analoga der einzelnen Produkte zum System konnten die Autoren alle katalytischen Wege aufdecken und die Mindestlänge von DNA-Moleküle ermitteln, die als Templat wirken.

3.1. Quaternäre Systeme

Synthetische Netzwerke mit vier Templat/Produkt-Molekülen sind gemäß Gleichung (3) aus zwei Molekülarten hergestellt worden.



Die Ausgangsverbindungen wurden so gewählt, dass sich Moleküle der Art A (z. B. Elektrophile) nur mit Molekülen der Art B (z. B. Nukleophile) umsetzen. Solche Netzwerke können bis zu 16 verschiedene katalytische Wege enthalten, wenn berücksichtigt wird, dass T als monomeres Templat für seine eigene Bildung oder als Katalysator für die Bildung eines anderen Moleküls dienen kann.

Ein quaternäres System auf der Grundlage von Hexadesoxyribonukleotid-Analoga wurde von Sievers und von Kiedrowski untersucht. Sie wiesen anhand dieses Systems nach, dass in templatgeleiteten Reaktionssystemen eine kreuzkatalytische Replikation beobachtet werden kann, wenn die reziproken Templatwirkungen ähnlich wirksam sind und das System nicht von der autokatalytischen Synthese selbstkomplementärer Produkte, die zugleich auftritt, bestimmt wird.^[13,32] In diesem System kann die Nukleotidsequenz CCG als 1 bezeichnet werden, und die Sequenz CGG als 2. Diese Sequenzen können sich zu vier Templat/Produkt-Molekülen umsetzen: CCGCCG (T₁₁), CCGCGG (T₁₂), CGGCCG (T₂₁) und CGGCGG (T₂₂). Ohne Templat wurden alle vier Hexadesoxyribonukleotide ähnlich schnell gebildet. Die Kupplungen wurden in Gegenwart eines der Hexadesoxyribonukleotidtemplates verfolgt, und es konnte gezeigt werden, dass jedes Templat die Bildung der komplementären Sequenz als Reaktionsprodukt fördert. Dabei wirkte ein einzelnes nicht-selbstkomplementäres Templat, also T₁₁ oder T₂₂, stärker als ein einzelnes selbstkomplementäres Templat.

Die Fähigkeit eines Systems, die Produktion eines oder mehrerer Moleküle selektiv zu verstärken, ist ein wichtiges Thema. Chmielewski und Mitarbeiter haben ein Netzwerk aus vier Peptidkomponenten beschrieben, das zur Autokatalyse und zur Kreuzkatalyse fähig ist und die selektive Verstärkung der Produktbildung durch Anpassen der Reaktionsbedingungen ermöglicht (Abbildung 9).^[21] Das System beruht auf Coiled-Coil-Fragmenten, die entweder Polylysin- oder Polyglutaminreste in den e- oder g-Heptadenpositionen an den Seiten des hydrophoben Kerns tragen, ähnlich wie bei der ursprünglichen „Reißverschluss“-Anordnung.^[33] Die katalytischen Fähigkeiten der vier Produktpeptide wurden unter Bedingungen untersucht, die die Abstoßung zwischen den Coiled-Coil-Helices minimieren. Dabei bildeten sich die gemischten Glu-Lys-Peptide (T_{KE} und T_{EK}, Abbildung 9) unter physiologischen Bedingungen autokatalytisch, und Poly-Lys (T_{KK}) und Poly-Glu (T_{EE}) förderten die Bildung des jeweils anderen Fragments. Autokatalytische Vorgänge für T_{KK} und T_{EE} waren bei hohen Salzkonzentrationen bzw. bei niedrigen pH-Werten verfügbar. Mehrere Experimente zeigten, dass der Zusatz eines einzigen Templatpeptids zum Gemisch nicht die Produktion eines bestimmten Produkts förderte, sondern dass stattdessen mehrere unerwartete templatunterstützte

Vorgänge verstärkt wurden (gestrichelte Pfeile in Abbildung 9).

Die chiroselektive Replikation von Biopolymeren ist ein interessanter Vorgang, der die Homochiralität in der Natur

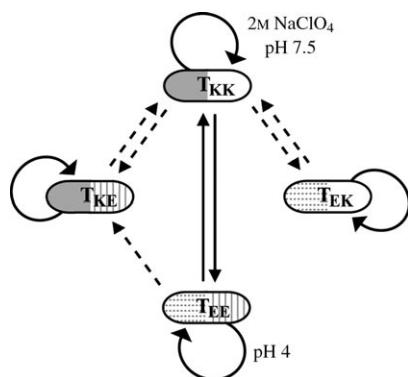


Abbildung 9. Ein quaternäres molekulares Netzwerk, das unter verschiedenen Bedingungen die Bildung von verschiedenen Molekülen selektiv verstärkt.^[21] T_{KE} und T_{EK} stellen Peptide mit Glu- und Lys-Resten an ihrer Erkennungsfläche dar, T_{KK} und T_{EE} dagegen solche mit nur Lys bzw. nur Glu. Die beste autokatalytische oder kreuzkatalytische Leistungsfähigkeit wurde unter Bedingungen beobachtet, bei denen die Abstoßung zwischen den Coiled-Coil-Helices des entsprechenden Wegs minimiert ist (siehe Text).

erklären könnte. In diesem Zusammenhang untersuchte die Arbeitsgruppe von Ghadiri ein System, das über einen chiroselektiven autokatalytischen Zyklus die Homochiralität wirkungsvoll verstärkt (Abbildung 10).^[28] Dabei wurden ein Elektrophil und ein Nucleophil aus L-Aminosäuren und ein zweites Elektrophil-Nucleophil-Paar aus D-Aminosäuren hergestellt. Bei der Verwendung eines „racemischen“ Ge-

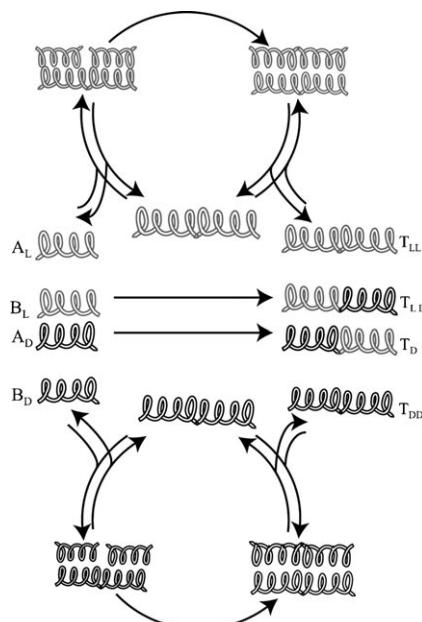


Abbildung 10. Chiroselektive Verstärkung der Produktbildung in einem quaternären Netzwerk von zwei homochiralen (T_{LL} und T_{DD}) und zwei heterochiralen Peptiden (T_{LD} und T_{DL}).^[28]

misches aus allen vier Fragmenten replizierten sich die beiden homochiralen Template T_{LL} und T_{DD} weitaus schneller als die heterochiralen Produkte T_{LD} und T_{DL} . Die heterochiralen Produkte entstanden templatunabhängig und hauptsächlich durch nichtkatalysierte Reaktionen. Durch eine Analyse der Auswirkungen von stereochemischen Mutationen einzelner Aminosäuren in sonst homochiralen Peptidfragmenten konnte gezeigt werden, dass die Chiroselektivität bei der Peptid-Selbstreplikation sehr robust ist und sogar Reaktanten benachteiligt sind, in denen nur eine von 15 oder 32 Aminosäuren stereochemisch abweicht.

3.2. Größere Netzwerke

Ghadiri und Mitarbeiter haben auch vergleichsweise große replizierende Netzwerke auf Peptidbasis untersucht.^[20] Ein Feld mit 81 Sequenzen von Coiled-Coil-Peptiden wurde rechnerisch nach leistungsfähigen templatunterstützten Reaktionen durchsucht. Bei den Berechnungen wurde die Bildung eines selbstorganisierten Netzwerks aus 25 Molekülen und einem Wechselwirkungsgraphen mit einer ähnlichen Topologie wie bei weitaus komplexeren Systemen vorhergesagt (Abbildung 11 a). Die Gültigkeit der Konstruktionsprinzipien wurde anhand der Fähigkeit von neun Knoten eines Hauptsegments des Graphen, die vorhergesagten Netzwerkverbindungen herzustellen, experimentell analysiert (Abbildung 11 b). Dabei wies das erhaltene selbstorganisierte chemische Netzwerk in guter Übereinstimmung mit Schätzungen der Graphenanalyse 25 gerichtete Kanten auf (einschließlich drei autokatalytische Vorgänge). Das Netzwerk wurde weiterhin unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Senkung des pH-Werts unter

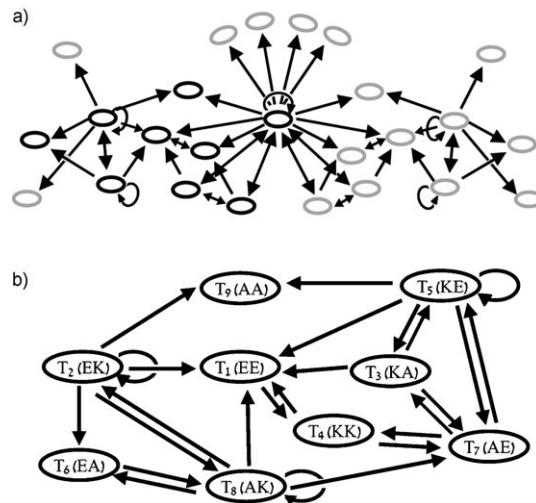


Abbildung 11. a) Berechnete Graphenarchitektur eines selbstorganisierten Peptidnetzwerks mit 25 Knoten, die durch 53 Vektorkanten verbunden sind. Grau dargestellte Knoten sind bezüglich ihrer Fähigkeit, diesen Teil des Graphen zu bilden, experimentell geprüft worden. b) Die experimentell bestimmte Netzwerkarchitektur.^[20] Es waren zwei Versuchsreihen notwendig, um sowohl die starken als auch die latenten katalytischen Wege aufzudecken, wobei die Ergebnisse gut mit dem vorhergesagten Graphen übereinstimmen.

5 oder der Zusatz von Metallsalzen – zwei Vorgänge, die unvermeidlich die Freie Energie der Ionenpaarwechselwirkungen und die Coiled-Coil-Stabilität beeinträchtigen^[34] – zu wesentlichen Änderungen des Verknüpfungsmusters führten. Das Netzwerk bildete andere Sätze von Verknüpfungen, die neue Zentralknoten und funktionale Unternetzwerke ergaben.^[35]

Es wurde ferner untersucht, ob ausgewählte Segmente dieses einfachen Netzwerks zu einfachen logischen Operationen fähig sind (beispielsweise zu einer OR-Funktion, siehe Abbildung 6b).^[24] Dabei wurde experimentell gefunden, dass sich die Produktbildungsgeschwindigkeiten im Netzwerk wesentlich von denjenigen bei isolierten Reaktionen unterscheiden, da die Menge von bestimmten Knoten von der Konkurrenz zwischen den anderen Knoten und/oder der Integration ihrer Vorgaben abhängt. Ein Segment des Netzwerks, dessen Graphenstruktur aus fünf Knoten und fünfzehn gerichteten Kanten besteht, wurde für OR-, NOR- und NOT-Operationen verwendet. Dieses Verhalten ähnelt seinem Konzept nach dem Weg, auf dem Zellen mehrere externe Eingangssignale über komplexe Netzwerke von Biomolekülwechselwirkungen und chemischen Umwandlungen schnell und parallel verarbeiten.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Wir haben aktuelle Fortschritte bei der Umwandlung von minimalen selbstreplizierenden Systemen zu kleinen Netzwerken von dynamisch wechselwirkenden Molekülen beschrieben. Solche Umwandlungen haben möglicherweise in den frühen Stadien der molekularen Evolution stattgefunden und könnten an der Entstehung lebender Systeme beteiligt gewesen sein. Zur Beschreibung dieser Erscheinung sind Begriffe vorgeschlagen worden wie „RNA-Welt“, „Hyperzyklen“ und „Chemie der Systeme“.^[7b,36] In jedem Fall lassen die Ergebnisse der theoretischen und experimentellen Arbeiten vermuten, dass die synthetischen Systeme noch viel wirkungsvoller, selektiver und vielseitiger gestaltet werden können.

In Netzwerken mit immer leistungsfähigeren templatgeleiteten Vorgängen sollte die Differenzierung zwischen langsamem und schnellen Prozessen und folglich die Selektivität der Produktbildung verbessert sein. Die Ausweitung der Netzwerke auf größere topologische Räume und somit zu neuen Funktionalitäten kann mit den gegenwärtig verwendeten Baueinheiten gelingen, wenn sie auf den Einsatz in Reaktionen hoher Ordnung abgestimmt werden. Beispielsweise können sowohl DNA als auch Peptide so modifiziert werden, dass Dimere oder Trimere anstelle von monomeren Einheiten als Katalysatoren wirken. Die Netzwerktopologie kann durch die Verwendung von mehr als einer Verbindungsklasse (etwa in einem Netzwerk aus DNA- und Proteinmolekülen) oder von Molekülen mit dualen Merkmalen (z.B. DNA-Protein-Konjugaten) ausgeweitet werden, wodurch Informationsübertragung und Katalyse getrennt würden. Es sollte jedoch beachtet werden, dass eine Zunahme der Netzwerkgröße nach neuen Analysetechniken verlangt, insbesondere wenn jeder Weg in dem Netzwerk verfolgt werden

soll, wie es gegenwärtig bei der Untersuchung kleiner Systeme verwirklicht wird. Die interessanteste Entwicklung läge schließlich im Entwurf von Netzwerken, die eine komplexe Funktion ausüben, etwa harmonische Oszillationen bei der Produktbildung.

G.A. dankt dem Human Frontier Science Program für einen Career Development Award.

Eingegangen am 12. Juni 2007
Online veröffentlicht am 9. Juli 2008

Übersetzt von Dr. Thomas Steiner, Neu-Ulm

- [1] Ausgewählte Veröffentlichungen: a) D. J. Watts, S. H. Strogatz, *Nature* **1998**, 393, 440–442; b) L. H. Hartwell, J. J. Hopfield, S. Leibler, A. W. Murray, *Nature* **1999**, 402, C47–C52; c) H. Jeong, B. Tombor, R. Albert, Z. N. Oltval, A. L. Barabasi, *Nature* **2000**, 407, 651–654; d) N. Guelzim, S. Bottani, P. Bourgine, F. Kepes, *Nat. Genet.* **2002**, 31, 60–63; e) E. Ravasz, A. L. Somera, D. A. Mongru, Z. N. Oltvai, A. L. Barabasi, *Science* **2002**, 297, 1551–1555; f) R. Milo, S. Shen-Orr, S. Itzkovitz, N. Kashtan, D. Chklovskii, U. Alon, *Science* **2002**, 298, 824–827; g) J.-D. J. Han, N. Bertin, T. Hao, D. S. Goldberg, G. F. Berriz, L. V. Zhang, D. Dupuy, A. J. M. Walhout, M. E. Cusick, F. P. Roth, M. Vidal, *Nature* **2004**, 430, 88–93; h) R. Albert, *J. Cell Sci.* **2005**, 118, 4947–4957; i) U. Stelzl, E. E. Wanker, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, 10, 551–558; j) T. O. Yeates, M. Beeby, *Science* **2006**, 314, 1882–1883.
- [2] a) B. G. Bag, G. von Kiedrowski, *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 2145–2152; b) E. A. Wintner, J. Rebek, Jr., *Acta Chem. Scand.* **1996**, 50, 469–485; c) D. H. Lee, K. Severin, M. R. Ghadiri, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, 1, 491–496; d) A. Robertson, A. J. Sinclair, D. Philp, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 141–152; e) R. Issac, Y. W. Ham, J. Chmielewski, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2001**, 11, 458–463; f) X. Li, J. Chmielewski, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 901–904; g) N. Paul, G. F. Joyce, *Curr. Biol.* **2003**, 13, R46; h) I. Ghosh, J. Chmielewski, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, 8, 640–644; i) N. Paul, G. F. Joyce, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, 8, 634–639.
- [3] a) G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 932–934; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 932–934; b) W. S. Zielinski, L. E. Orgel, *Nature* **1987**, 327, 346–347; c) L. E. Orgel, *Nature* **1992**, 358, 203–209; d) T. Li, K. C. Nicolaou, *Nature* **1994**, 369, 218–221.
- [4] N. Paul, G. F. Joyce, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 12733–12740.
- [5] a) D. H. Lee, J. R. Granja, J. A. Martinez, K. Severin, M. R. Ghadiri, *Nature* **1996**, 382, 525–528; b) K. Severin, D. H. Lee, J. A. Martinez, M. R. Ghadiri, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1017–1024; c) S. Yao, I. Ghosh, R. Zutshi, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 10559–10560; d) S. Yao, I. Ghosh, R. Zutshi, J. Chmielewski, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 489–492; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 478–481.
- [6] M. Levy, A. D. Ellington, *J. Mol. Evol.* **2003**, 56, 607–615.
- [7] a) B. Wang, I. O. Sutherland, *Chem. Commun.* **1997**, 1495–1496; b) M. Kindermann, I. Stahl, M. Reimold, W. M. Pankau, G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 6908–6913; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 6750–6755; c) E. Kassianidis, D. Philp, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 6492–6496; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 6344–6348; d) E. Kassianidis, R. J. Pearson, D. Philp, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8798–8812.
- [8] G. von Kiedrowski, *Bioorg. Chem. Front.* **1993**, 3, 113–146.
- [9] D. N. Reinhoudt, D. M. Rudkevich, F. de Jong, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6880–6889.

- [10] a) R. Issac, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6808–6809; b) X. Li, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11820–11821; c) A. Luther, R. Brandsch, G. von Kiedrowski, *Nature* **1998**, *396*, 245–248.
- [11] M. Levy, A. D. Ellington, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6416–6421.
- [12] a) K. Severin, D. H. Lee, A. J. Kennan, M. R. Ghadiri, *Nature* **1997**, *389*, 706–709; b) A. J. Kennan, V. Haridas, K. Severin, D. H. Lee, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1797–1803.
- [13] D. Sievers, G. von Kiedrowski, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 629–641.
- [14] a) G. F. Joyce, L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* **1986**, *188*, 433–441; b) G. F. Joyce, L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* **1988**, *202*, 677–681.
- [15] D.-E. Kim, G. F. Joyce, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1505–1512.
- [16] R. J. Pieters, I. Huc, J. Rebek, Jr., *Tetrahedron* **1995**, *51*, 485–498.
- [17] E. Kassianidis, D. Philp, *Chem. Commun.* **2006**, 4072–4074.
- [18] D. H. Lee, K. Severin, Y. Yokobayashi, M. R. Ghadiri, *Nature* **1997**, *390*, 591–594.
- [19] P. B. Harbury, T. Zhang, P. S. Kim, T. Alber, *Science* **1993**, *262*, 1401–1407.
- [20] G. Ashkenasy, R. Jagasia, M. Yadav, M. R. Ghadiri, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 10872–10877.
- [21] S. Yao, I. Ghosh, R. Zutshi, J. Chmielewski, *Nature* **1998**, *396*, 447–450.
- [22] E. Yeger-Lotem, S. Sattath, N. Kashtan, S. Itzkovitz, R. Milo, R. Y. Pinter, U. Alon, H. Margalit, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 5934–5939.
- [23] K. Severin, D. H. Lee, J. A. Martinez, M. Vieth, M. R. Ghadiri, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 133–135; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 126–128.
- [24] G. Ashkenasy, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11140–11141.
- [25] S. Assouline, S. Nir, N. Lahav, *J. Theor. Biol.* **2001**, *208*, 117–125.
- [26] a) T. Tjivikua, P. Ballester, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1249–1250; b) F. M. Menger, A. V. Eliseev, N. A. Khanjin, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3613–3614.
- [27] a) P. R. Wills, S. A. Kauffman, B. M. R. Stadler, P. F. Stadler, *Bull. Math. Biol.* **1998**, *60*, 1073–1098; b) B. M. R. Stadler, P. F. Stadler, P. Schuster, *Bull. Math. Biol.* **2000**, *62*, 1061–1086.
- [28] A. Saghafelian, Y. Yokobayashi, K. Soltani, M. R. Ghadiri, *Nature* **2001**, *409*, 797–801.
- [29] a) J. Rivera Islas, V. Pimienta, J.-C. Micheau, T. Buhse, *Biophys. Chem.* **2003**, *103*, 201–211; b) J. Rivera Islas, V. Pimienta, J.-C. Micheau, T. Buhse, *Biophys. Chem.* **2003**, *103*, 191–200; c) J. Rivera Islas, J.-C. Micheau, T. Buhse, *Origins Life Evol. Biosphere* **2004**, *34*, 497–512.
- [30] a) E. Peacock-López, D. B. Radov, C. S. Flesner, *Biophys. Chem.* **1997**, *65*, 171–178; b) K. M. Beutel, E. Peacock-López, *J. Chem. Phys.* **2006**, *125*, 024908; c) K. M. Beutel, E. Peacock-López, *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 125104.
- [31] T. Achilles, G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1225–1228; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1198–1201.
- [32] D. Sievers, G. von Kiedrowski, *Nature* **1994**, *369*, 221–224.
- [33] E. K. O’Shea, K. J. Lumb, P. S. Kim, *Curr. Biol.* **1993**, *3*, 658–667.
- [34] N. E. Zhou, C. M. Kay, R. S. Hodges, *J. Mol. Biol.* **1994**, *237*, 500–512.
- [35] Erste Ergebnisse: G. Ashkenasy, M. R. Ghadiri, *Understanding Biology Using Peptides: Proceedings of the 19th American Peptide Symposium*, **2006**, S. 645–647.
- [36] a) S. Kauffman, *Origin of Order: Self-Organization and Selection in Evolution*, Oxford University Press, NY, **1993**; b) L. E. Orgel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 12503–12507; c) G. F. Joyce, L. E. Orgel, *Cold Spring Harbor Monogr. Ser.* **2006**, *43*, 23–56; d) G. F. Joyce, L. E. Orgel, *Cold Spring Harbor Monogr. Ser.* **1999**, *37*, 49–77.