

2011: 50 Jahre Entdeckung des genetischen Codes

Volker A. Erdmann* und Jan Barciszewski

Genetischer Code · Molekularbiologie · Wissenschaftsgeschichte

Professor Alexander Rich gewidmet

1. Einführung

In diesem Jahr feiern wir den 50. Jahrestag der Entdeckung des genetischen Codes, welcher sich als universell für alle Lebewesen auf der Erde herausgestellt hat. 1961 entwarfen Marshall Warren Nirenberg und Johann Heinrich Matthaei ein In-vitro-Translationssystem bestehend aus gereinigten bakteriellen Ribosomen und einer Fraktion niedermolekularer RNA und demonstrierten damit, dass Polyuridylsäure für Polyphenylalanin kodiert. Dies war der Beginn der Erschließung des genetischen Codes. In diesem Essay fassen wir folgende Aspekte zusammen: 1) Ergebnisse, die zur Entdeckung des genetischen Codes geführt haben; 2) Schlüsselexperimente bei der Entdeckung des genetischen Codes; 3) Entwicklungen nach der Entdeckung des genetischen Codes; 4) Schlussfolgerungen, einschließlich der Auswirkungen der Entdeckung des genetischen Codes auf die gegenwärtige Molekularbiologie und Medizin.

2. Ergebnisse, die zur Entdeckung des genetischen Codes geführt haben

Die Frage nach dem Mechanismus, nach dem Organismen ihre Wesenszüge (Eigenschaften) von einer Generation zur nächsten vererben, war in der Biologie immer von großem Interesse. Dieses Interesse geht bis ins 19. Jahrhundert zurück, als Gregor Mendel seine Grundregeln der Vererbung aufstellte, die später von E. Tschermak, H. de Vries und C. Correns bestätigt wurden. Mendel demonstrierte, dass bestimmte, heute als Gene bezeichnete Faktoren an der Vererbung beteiligt sind, und definierte die Begriffe der rezessiven und dominanten Eigenschaften. In der Tat markierte jene Zeit die Geburtsstunde der Genetik. Es ist die Mendelsche Genetik, die es z. B. Pflanzenzüchtern erlaubt, stärkere, unkraut- und schädlingsresistente Kreuzungen zu züchten.^[1]

1913 konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Genen um irreduzible Informationseinheiten handelt, die auf den Chromosomen, den fadenartigen Körpern innerhalb der

Zellkerne, aufgereiht sind.^[2] In den folgenden Jahren wurden dann weitere Informationen über die Gene und ihre Rolle für lebende Organismen zusammengetragen.^[2]

Ein wichtiger Schritt auf dem Weg zur Entdeckung des genetischen Codes war die Identifizierung der Desoxyribonucleinsäure (DNA) als Träger aller genetischen Information. Es war Oswald Avery, der erstmals entdeckte, dass die entscheidende Substanz, die zu erblichen Veränderungen in krankheitsauslösenden Bakterien führte, DNA war. Zusammen mit Colin MacLeod und Maclyn McCarty schlug er vor, dass DNA und nicht etwa Proteine für die Übertragung der genetischen Information verantwortlich sei. Tatsächlich zeigten sie, dass DNA das Molekül der Vererbung war.

Nach der Veröffentlichung der Ergebnisse von Avery, MacLeod und McCarty richteten viele Wissenschaftler ihre Forschung auf diese neue Klasse von Molekülen, nämlich die Nukleinsäuren.^[3] In den 50er Jahren bestätigten Alfred Hershey und Martha Chase, dass DNA tatsächlich das genetische Material ist,^[4] und es war Erwin Chargaff,^[5] der feststellte, dass das Verhältnis der Basen A zu T und G zu C, die die vier Grundbausteine der DNA sind, in allen Lebewesen 1:1 ist.

1953 beschrieben James D. Watson und Francis Crick in ihrer berühmten Veröffentlichung die Struktur der DNA als eine Doppelhelix^[6] bestehend aus zwei langen, schraubenförmig gewundenen Phosphat-Zucker-Ketten, die über die heute als Watson-Crick-Basenpaare bekannten Basen A-T und G-C miteinander verbunden sind. Watson und Crick schlugen schon damals vor, dass die Basen einen Code beinhalten könnten, der die Reihenfolge der Aminosäuren für den Proteinaufbau vorgibt. Auch erklärten sie in dieser Arbeit, dass die spezifische Basenpaarung, wie sie sie sich vorgestellt hatten, sofort auf einen möglichen Kopiermechanismus für die genetische Information hindeutete.^[6]

Nachdem das Modell für die DNA-Struktur vorgeschlagen war, verblieb als ein zentrales Problem der Molekularbiologie, die Natur des genetischen Codes zu verstehen. Wie konnte Information, die in nur vier DNA-Nukleotiden enthalten waren, in eine funktionelle Sequenz der 20 unterschiedlichen Aminosäuren in Proteinen umgewandelt werden?^[7]

1954 begannen Marianne Grunberg-Manago und Severo Ochoa mit Arbeiten an einem Enzym, das an der Nukleinsäuresynthese beteiligt ist. Das Enzym, die Polynukleotidphosphorylase, erlaubte die erste In-vitro-Synthese höhermolekularer biologischer Nukleinsäuren.^[8] Zur selben Zeit befasste sich Paul Zamecnik mit der Identifizierung der für die Proteinbiosynthese benötigten Komponenten. Schon 1953

[*] Prof. Dr. V. A. Erdmann

Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Thielallee 63, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: erdmann@chemie.fu-berlin.de

Prof. Dr. J. Barciszewski

Institute of Bioorganic Chemistry of the Polish Academy of Sciences
Noskowskiego 12, 61-704 Poznań (Polen)

hatte er das erste zellfreie System entwickelt, das Peptidbindungen bilden konnte (mit ^{14}C -markierten Aminosäuren). Zusammen mit Elizabeth Keller und Mahlon Hoagland zeigte Zamecnik, dass der erste Schritt der Proteinsynthese die Aktivierung der Aminosäuren durch die Bildung von Aminoacyladenylaten aus der Aminosäure und ATP ist.^[9]

Mithilfe des zellfreien Systems fanden Zamecnik und Hoagland heraus, dass die RNA in einer bestimmten zytoplasmatischen Fraktion mit ^{14}C -Aminosäuren markiert wurde, und dass die markierte RNA daraufhin in der Lage war, diese Aminosäuren auf mikrosomale Proteine zu übertragen. Die Übertragung war außerdem abhängig von Guanosintriphosphat (GTP). Aus diesen Ergebnissen zogen sie den Schluss, dass diese RNA, die später Transfer-RNA (tRNA) genannt wurde, als ein intermediärer Träger von Aminosäuren in der Proteinsynthese fungiert.^[9]

In anderen, äußerst wichtigen Experimenten konnten Alexander Rich und Robert Davies bereits 1956 zeigen, dass sich RNA-Einzelstränge zu doppelsträngiger RNA verbinden (hybridisieren) können.^[10,11] Diese Entdeckung kam nur drei Jahre, nachdem James Watson und Francis Crick die Struktur der DNA als Doppelhelix beschrieben und Vermutungen darüber angestellt hatten, wie vererbte genetische Information gespeichert und von einer Generation zur nächsten übertragen werden könnte.^[6]



Volker A. Erdmann, geboren 1941 in Stettin, erhielt seinen BA (1963) und MSc in Biochemie (1966) an der University of New Hampshire in Durham (USA) und promovierte 1968 am Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin in Göttingen und an der Universität Braunschweig bei Friedrich Cramer. Nach Postdoktoraten in Göttingen (1968–1969) und an der University of Wisconsin, Madison, bei Masayasu Nomura (1969–1971) wurde er Arbeitsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin in der Abteilung von Heinz-Günter Wittmann (1971–1980). Von 1980 bis 2009 war er Professor für Biochemie an der Freien Universität Berlin. Seine Forschungsinteressen gelten der Proteinsynthese, Strukturen und Funktionen der RNA sowie der Entwicklung von RNA-Technologien für die Biotechnologie und molekulare Medizin.



Jan Barciszewski promovierte 1974 in organischer Chemie an der Adam-Mickiewicz-Universität in Posen, Polen. Seit 1993 ist er Professor für Biologie am Institut für Bioorganische Chemie an der Polnischen Akademie der Wissenschaften. Er arbeitete im Ausland am Institut für Molekularbiologie in Moskau, an der Universität Aarhus (Dänemark), der Universität Zürich (Schweiz), dem Nationalen Krebszentrum in Tokio (Japan), dem Institut für Molekular- und Zellbiologie in Straßburg (Frankreich) sowie an der Freien Universität Berlin zusammen mit Volker A. Erdmann. Seine Forschungen gelten der Struktur und Funktion von Nukleinsäuren und deren Wechselwirkungen mit Proteinen, katalytischen RNAs sowie der Entwicklung von Nukleinsäure-Wirkstoffen für die Behandlung von Hirntumoren und anderen Krankheiten.

Heutzutage werden die Methoden der Nukleinsäure-Hybridisierung routinemäßig zur Identifizierung, Isolierung, Manipulation, Ersetzung und Inhibierung von Genen in lebenden Organismen genutzt. In der Tat stellt der frühe Vorschlag von Alexander Rich, dass Nukleinsäuren hybridisieren können, die Schlüsseltechnik im Bereich der Gentechnik und Biotechnologie dar.

Nachdem die Struktur der DNA vorgeschlagen war, wurde die Entschlüsselung der genetischen Information zu einem sehr spannenden Thema der damaligen Zeit. Interessanterweise war es ein theoretischer Physiker, George Gamow, der den berühmten „Rnatie Club“ gründete (Slogan des Clubs: „Do or die, or don't try“), dessen Mitglieder Ideen einbrachten, wie die Nukleotidbasen in den Zellen letztendlich in Proteine übersetzt wurden.^[12] Der Club hatte zwanzig handverlesene Mitglieder, einen pro Aminosäure (z.B. Crick-Tyrosin, Watson-Prolin, Rich-Arginin, Chargaff-Lysin usw.), und jeder trug eine mit dem Symbol dieser Aminosäure bedruckte Krawatte. Neben anderen Dingen wurde diskutiert, wie viele Basen zur Aufstellung des genetischen Codes erforderlich waren.^[13]

Die Mitglieder des Rnatie Club wussten zu dieser Zeit, dass es vier Basen gab: Guanin, Cytosin, Adenin und Thymin. Mit zwei Basen pro Codon gäbe es demnach nur $4^2 = 16$ Basenkombinationen und folglich nur 16 Aminosäuren. Da aber damals bereits 20 Aminosäuren bekannt waren, mussten sie annehmen, dass es mindestens drei Basen pro Codon geben müsse, und diese Bedingung konnte nur durch $4^3 = 64$ mögliche Kombinationen erreicht werden. Der Club war in den 50er Jahren sehr aktiv, es gelang aber nicht, den Code zu knacken. Sonderbarerweise war Marshall Nirenberg kein Mitglied des Rnatie Club.

In seinem berühmten Brief, den er 1955 an den Club schickte, sagte Francis Crick die Existenz kleiner Adapter-RNA-Moleküle voraus, die ihre zugehörige Aminosäure tragen können und mit dem mRNA-Templat räumlich so interagieren, dass die Polymerisation des Proteins erlaubt ist. Diese Adapter, die tatsächlich größer sind als es Crick vorausgesagt hatte, sind die tRNAs, die 1958 von Zamecnik und Hoagland entdeckt wurden.^[14] Nach der Doppelhelix gingen das zentrale Dogma der Molekularbiologie^[15,16] und die semikonservative Replikation^[17] in das Vokabular der Molekularbiologen ein.

1958 entdeckte Georg E. Palade die Ribosomen.^[18] In Prokaryoten bestehen sie aus mehr als 50 individuellen Proteinen und drei großen ribosomalen RNAs. In der Zelle sind sie für den Aufbau der Peptidbindung zuständig, und außerdem sind sie der Angriffspunkt der meisten Antibiotika. Schon diese frühen biochemischen und physikalischen Untersuchungen lieferten ein recht vernünftiges Bild von der Gesamtstruktur, den biochemischen Reaktionen und den molekularen Wechselwirkungen, die während der Proteinsynthese an den Ribosomen stattfinden.^[19,20]

Es stellte sich heraus, dass die Synthese der Polypeptidkette ein äußerst komplexer Prozess ist, der aus drei verschiedenen Phasen besteht: der Initiation, der Elongation und der Termination. Diese wiederum erfordern mehrere kinetisch eigenständige Schritte, die gewöhnlich mit unterschiedlichen Konformationszuständen des Ribosoms assoziiert sind.

Konformationsänderungen des Ribosoms während der Proteinsynthese werden normalerweise durch Translationsfaktoren und die Hydrolyse von GTPs gesteuert. Vielversprechende Fortschritte wurden kürzlich in diesem Bereich durch eine Kombination aus Kryo-Elektronenmikroskopie und Kristallstrukturanalyse erzielt.^[21]

Einige Jahre nach Erscheinen des DNA-Strukturmodells von Watson und Crick entwickelten Matthew Meselson und Franklin Stahl eine einzigartige Methode zur Unterscheidung neuer und alter DNA während der Replikation.^[17] In ihrem Experiment züchteten sie zunächst *Escherichia coli*-Zellen in Kulturmedium, das nur das schwerere Stickstoffisotop ¹⁵N enthielt. Nach einer Generation wurden die Zellen in ein Nährmedium gebracht, das nur das leichtere ¹⁴N-Isotop enthielt. Anschließend isolierten Meselson und Stahl die DNA nach unterschiedlichen Zuchtgenerationen und analysierten ihr Zentrifugalverhalten in Caesiumchlorid-Zentrifugationsexperimenten. Anhand dieser Experimente konnten sie sehr überzeugend darlegen, dass die Replikation gemäß dem semikonservativen Mechanismus erfolgt, d.h., mit jeder Zellteilung empfängt die Zelle einen „alten“ und einen „neuen“ DNA-Strang in ihren Chromosomen.^[17]

Um 1960 war dann klar, dass die DNA selber nicht direkt an der Proteinsynthese beteiligt ist, und es war nun bekannt, wie die DNA in einzelsträngige Boten-RNA (mRNA) transkribiert (kopiert) wird.^[22] Die entscheidende Frage blieb aber damals ungelöst, nämlich welche Sequenz von Basen welche Aminosäure spezifiziert und was folglich der genetische Code war.

Die wichtige Rolle der mRNA wurde 1961 von François Jacob, Jacques Monod und Sydney Brenner aufgeklärt. In einem anderen berühmten Experiment beschrieben Jacob und Monod ebenfalls 1961 die regulatorischen Mechanismen, die an der Translation von mRNA in Proteine beteiligt sind, und sie formulierten das „zentrale Dogma der modernen Biologie“, das einfach besagt, dass die Information von der DNA zur RNA und dann zu den Proteinen fließt.^[23]

3. Schlüsselexperimente für die Entdeckung des genetischen Codes

1959 begann Marshall W. Nirenberg an den National Institutes of Health (NIH) mit Experimenten, die Aufschluss darüber geben sollten, wie DNA-Information in Form von Proteinen exprimiert wird. Seine Überlegung war, dass Aminosäuren mithilfe von Nukleinsäuren zu Proteinen kodiert werden, er wusste aber nicht, ob DNA oder RNA beteiligt waren oder ob ein Code überhaupt existiert. Die erste Frage war deshalb, ob DNA oder RNA in zellfreien Extraktten den Einbau von Aminosäuren in Proteine stimuliert.

Leon A. Heppel, Maxine Singer und andere^[24] hatten RNA bestehend aus Ketten einzelner, sich wiederholender Basen synthetisiert. Mithilfe von Polynukleotidphosphorylase hatten sie poly(U) synthetisiert, ein vollständig aus Uridin bestehendes RNA-Molekül. Dieses ursprünglich von Grunberg-Manago und Ochoa^[7] entdeckte Enzym spielte eine Schlüsselrolle bei der Beantwortung von Fragen bezüglich des genetischen Codes.^[24]

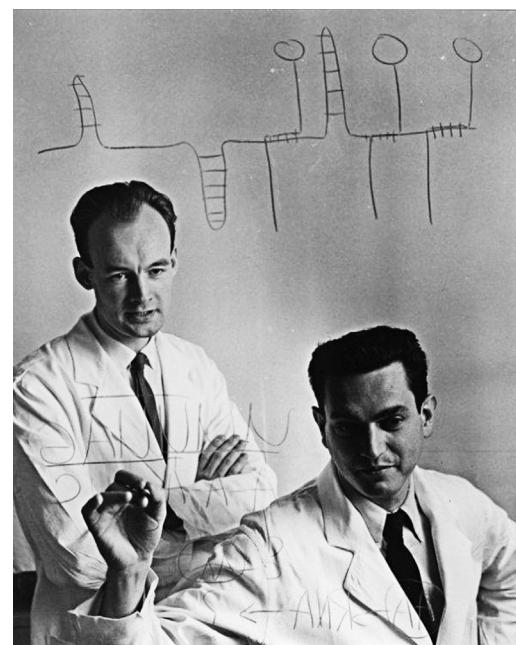


Abbildung 1. Marshall Warren Nirenberg (rechts) und Johann Heinrich Matthaei (links) bei der Planung ihrer In-vitro-Translationsexperimente zur Entschlüsselung des genetischen Codes. Das Photo wurde 1962 an den National Institutes of Health in Bethesda aufgenommen und von den NIH freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Im historischen poly(U)-Experiment, das Nirenberg und Matthaei (Abbildung 1) entworfen hatten und das Heinrich Matthaei an einem Samstag, dem 27. Mai 1961 um 3 Uhr morgens durchführte, wurde poly(U) mit einem *Escherichia coli*-Extrakt und ¹⁴C-markiertem Phenylalanin inkubiert. Die Ergebnisse waren eindeutig: poly(U) kodierte für Phenylalanin (Abbildung 2). Darauffolgende Experimente bestätigten, dass poly(U) die Synthese von Polyphenylalanin programmierte und dass der Code aus Triplets bestand, d.h., das

27.5.61 (5-27-61) 3 a.m. für 60' & 36', 10% Cphen, 10% UUU		Ges. M. 1079	
#	System	Spec. radioaktiv. (cpm)	CPM (cpm)
1	Complex 1/2, 20% Cphen, 20% UUU, 2M	60 50.53	2.02 >206 167
2	1/2, 20% Cphen, 2M	60 48.69	2.10 144
3	+ 10 μ g poly-U 5% ¹⁴ C	2.69	3810 3748 26X (23X)
4	+ 10 μ g poly-U 5% ¹⁴ C	261.73	39.2 >?
5	+ 0-t.	164.12	62.4
6	Complex 1/2, 20% Cphen, 2M	60 11.32	90 >92 36
7	Complex 1/2, 20% Cphen, 2M	60 108.39	94 0
8	+ 10 μ g poly-U 5% ¹⁴ C	94.81	108 108 52 145X
9	+ 10 μ g poly-U 5% ¹⁴ C	181.87	56 56 0
10	at 0-t.	184.48	55.5

Abbildung 2. Heinrich Matthaeis Laborbuchseite, auf der die experimentellen Bedingungen für das berühmte poly(U)-Experiment festgehalten sind, das Matthaei am 27. Mai 1961 um 3 Uhr morgens an den National Institutes of Health in Washington DC durchführte. Das Experiment führte zu dem Schluss, dass die Sequenz UUU in der ribosomalen Proteinsynthese die Aminosäure Phenylalanin kodiert. Die Abbildung wurde von Heinrich Matthaei, Göttingen, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Trinukleotid UUU war die Matrize für Phenylalanin. In ähnlicher Weise produziert poly(C) Polyprolin, und CCC ist der Code für diese Aminosäure. In Gegenwart des *E. coli*-Rohextrakts und aufgereinigter RNA wurden Aminosäuren, die durch Gruppen von Basen (Codons) spezifiziert waren, in Proteine eingebaut. Damit wurde die Beziehung zwischen der RNA und ihrer Nukleotidsequenz, die die Aminosäuresequenz des erzeugten Proteinprodukts kodierte, augenscheinlich.^[24,25]

Interessanterweise zeigten Nirenberg und Matthaei auch, dass nur einzelsträngige poly(U), nicht aber doppel- oder dreifachsträngige poly(U)-poly(A)-Helices als mRNA fungieren können. Diese Ergebnisse sowie die zuvor erwähnte Vorhersage von Alexander Rich waren die ersten RNA-Antisense-Experimente, die jemals durchgeführt wurden.

Der entscheidende Schritt bei der Entdeckung des Codes war die Ausfällung von Homopolypeptiden in Trichloressigsäure (TCA). Die geschieht mit Polyphenylalanin oder Polyprolin, die nicht in TCA löslich sind und als Niederschlag im Filter leicht zurückgewonnen werden können. Polylysin, das in TCA löslich ist, kann hingegen nur aus TCA-Wolframatlösungen (TCA/WO4) ausgefällt werden. Mit anderen Worten: In einem Experiment mit poly(A)-[¹⁴C]Lysin hätte TCA das Polylysin nicht ausgefällt, und die durch poly(A)-gesteuerte Polylysinsynthese wäre nicht entdeckt worden.

Bis 1966 waren 64 potentielle Trinukleotid-Codons identifiziert. Da RNA aus vier Arten von Nukleotiden aufgebaut ist, gibt es 64 mögliche Triplet-sequenzen ($4 \times 4 \times 4$). Drei dieser möglichen Codons spezifizieren den Abbruch der Polypeptidkette (Stopp-Codons). Somit bleiben 61 Codons für die Kodierung von nur 20 Aminosäuren übrig. Die meisten Aminosäuren sind deshalb durch mehr als ein Codon repräsentiert.^[18,24]

Es wurde gezeigt, dass die verbleibenden drei Codons „Satzzeichen“ darstellen, die das Ende einer Gens anzeigen (Abbildung 3). In späteren Experimenten zeigte M. Nirenberg, dass der gleiche Code in anderen Spezies verwendet wird, und schlug vor, dass der Code bei allen Lebewesen auf der Erde vorkommt.

Mit Unterstützung seiner NIH-Kollegen Merton Bernfield, Leon Heppel, Philip Leder und Maxine Singer war Nirenberg 1965 der erste, dem die vollständige Entschlüsselung des genetischen Codes gelang. Die Sprache der DNA war verstanden, und der genetische Code konnte in einem Diagramm ausgedrückt werden. Anhand der Nukleotidbasensequenz kann ein Leser die entsprechende Aminosäure identifizieren. Um den Code zu lesen, nimmt man einen Buchstaben aus der linken Spalte, der oberen Zeile und der rechten Spalte, und die Kombination zeigt dann ein mRNA-Codon an (Abbildung 3).

Anfang 1961 begannen Peter Lengyel und Joseph Speyer im Arbeitskreis von Severo Ochoa mit Arbeiten an zellfreien Proteinsynthesesystemen. Ihre Idee war, dass synthetische Polyrribonukleotide – mit bekannter Basenkombination und synthetisiert mittels Polynukleotidphosphorylase – als mRNAs wirken würden und den Einbau von Aminosäuren in Proteine entsprechend der Polyrribonukleotid-Basenkombination steuern.^[26] Die Hypothese hatte Erfolg, und die Gruppen von Ochoa und Nirenberg befanden sich in einem

Der genetische Code

Erste Position (5'-Ende)	Zweite Position				Dritte Position (3'-Ende)
	U	C	A	G	
U	Phenylalanin	Serin	Tyrosin	Cystein	U
	Phenylalanin	Serin	Tyrosin	Cystein	C
	Leucin	Serin	Stop	Stop	A
	Leucin	Serin	Stop	Tryptophan	G
C	Leucin	Prolin	Histidin	Arginin	U
	Leucin	Prolin	Histidin	Arginin	C
	Leucin	Prolin	Glutamin	Arginin	A
	Leucin	Prolin	Glutamin	Arginin	G
A	Isoleucin	Threonin	Asparagin	Serin	U
	Isoleucin	Threonin	Asparagin	Serin	C
	Isoleucin	Threonin	Lysin	Arginin	A
	Methionin	Threonin	Lysin	Arginin	G
G	Valin	Alanin	Asparaginsäure	Glycin	U
	Valin	Alanin	Asparaginsäure	Glycin	C
	Valin	Alanin	Glutaminsäure	Glycin	A
	Valin	Alanin	Glutaminsäure	Glycin	G

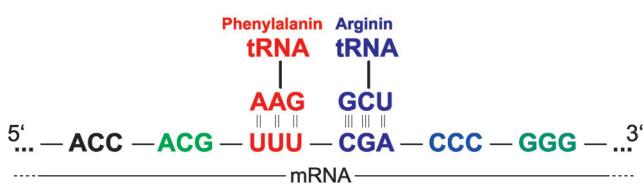


Abbildung 3. Tabelle des genetischen Codes, wie er in den 60er Jahren etabliert wurde. Unter der Tabelle findet sich ein Beispiel einer mRNA-Teilsequenz sowie einer Codon-Anticodon-Wechselwirkung einer Phenylalanin-tRNA^{Phe} und einer Alanin-tRNA^{Ala} mit mRNA. Die Tabelle wurde von Jörn V. Erdmann, Berlin, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

hart umkämpften Wettlauf um die Lösung des Geheimnisses des genetischen Codes.

In den frühen 60er Jahren bestätigte und erweiterte Har Gobind Khorana viele Aspekte des genetischen Codes durch die chemische Synthese von Desoxyribonukleotiden bekannter Basensequenz, und er zeigte, dass diese den Einbau spezifischer Aminosäuren in Proteine steuerten.^[27] Der genetische Code ist eindeutig, was bedeutet, dass jedes Codon nur für eine Aminosäure kodiert. Andererseits ist er auch degeneriert, d.h., eine Aminosäure kann durch mehr als ein Codon spezifiziert sein. In den meisten Fällen erfolgt eine ausreichende Kodierung durch die ersten beiden Basen, und die dritte Base (Wobble-Base) spielt nur eine untergeordnete Rolle. Beispielsweise beginnen alle vier Codons, die Glycin spezifizieren (GGU, GGC, GGA und GGG), mit GG (siehe Abbildung 3). Codons mit ähnlichen Sequenzen kodieren für Aminosäuren mit ähnlichen chemischen Eigenschaften. Die Threonin spezifizierenden Codons unterscheiden sich von den Serin spezifizierenden durch ihr 5'-Nukleotid. Die Codons für Aspartat und Glutamat unterscheiden sich nur in ihrer 3'-Position. Codons, die ein Pyrimidin in der Mitte haben, spezifizieren im Allgemeinen eine hydrophobe Aminosäure. Folglich führen Mutationen am 3'- oder 5'-Ende dieser Codons zur Substitution chemisch ähnlicher Aminosäuren. Die Stopp-Codons lösen den Abbruch der Translation durch das Ribosom aus. Das für Methionin spezifische Codon AUG kann auch als Start-Codon wirken.^[28]

Menschliche mitochondriale DNA verschlüsselt nur 22 tRNA-Arten, die für die Translation mitochondrialer mRNA gebraucht werden. Dies wird durch die Bildung von Wobble-Paaren erreicht, in denen das Uridin des Anticodons in der tRNA mit irgendeiner der vier Basen in der dritten Codon-Position der mRNA gepaart wird, sodass vier Codons in der mRNA von einer einzigen tRNA erkannt werden können.

Früher wurde angenommen, dass der genetische Code universell und unveränderlich ist, später wurden jedoch vielfältige Neuzuordnungen von Codons in Kern- und mitochondrialen Genomen entdeckt.^[29] Diese umfassen die Substitution von Stopp- gegen Sense, Sense- gegen Sense- und Sense- gegen Stopp-Codons. Eine weitreichende Neuzuordnung in Mitochondrien ist die Umkodierung von UGA zu Tryptophan, die durch eine tRNA^{Trp} mit einer Mutation im Anticodon implementiert wird. Durch die abnorme Erkennung von AUA durch tRNA^{Met} kodieren Mitochondrien mehrerer Hefearten das AUA-Codon von Isoleucin zu Methionin um.^[29]

Wie in Abbildung 4 zu sehen ist, wurden am genetischen Code eine Reihe von Erweiterungen vorgenommen.^[30,31] So hat die Entschlüsselung des genetischen Codes nicht nur den Weg zu Fortschritten in der Molekularbiologie geebnet, sondern führte letztlich auch zur modernen Biotechnologie, zum Humangenomprojekt und zu neuen Entdeckungen, die unser Verständnis vom Leben und der Vererbung vertieft haben.

4. Entwicklungen nach der Entschlüsselung des genetischen Codes

1962 führte Francois Chapeville das bahnbrechende Experiment durch, das die biologische Bedeutung der fehlerfreien tRNA-Aminoacylierung für die korrekte Translation des genetischen Codes belegte.^[32] In diesen Experimenten wurde gezeigt, dass die Kodierungseigenschaften des Adapters nicht durch die getragene Aminosäure, sondern durch die Interaktion der aminoacylierten tRNA mit der mRNA-Matrize bestimmt werden. Der Beweis hierfür war die Beobachtung, dass sowohl Cysteinyl-tRNA^{Cys} als auch Alanyl-tRNA^{Cys} (erhalten durch Reduktion des Cysteinylrestes von tRNA^{Cys} mit Raney-Nickel) als Aminosäuredonoren in einem mit poly(UG) für die Cysteineinbindung programmierten ribosomalen Polypeptidsynthesesystem fungieren.^[32]

1965 berichteten Robert Holley und Mitarbeiter über die erste sequenzierte tRNA, die für Alanin spezifische tRNA^{Ala}.^[33] Im Wettlauf um die erste sequenzierte tRNA errangen Hans Zachau und Mitarbeiter knapp den zweiten Platz, vermutlich weil ihre Sequenzierungsversuche durch die Tatsache behindert wurden, dass ihre tRNA^{Ser}-Präparation zwei spezifische tRNA-Sequenzen enthielt.^[34] Die dritte tRNA (tRNA^{Phe}) wurde 1967 von Tom RajBhandary sequenziert, der damals Postdoktorand im Arbeitskreis Khorana war.^[35] RajBhandarys Sequenzierungsarbeiten an der tRNA^{Phe} sind besonders erwähnenswert, weil es die erste tRNA war, deren dreidimensionale Struktur durch Kristallstrukturanalyse aufgeklärt wurde (durch Alexander Rich und Mitarbeiter^[36] in Cambridge, USA, sowie Aaron Klug und Mitarbeiter^[37] in Cambridge, England). Diese Studien deck-

ten auf, dass die Kleeblatt-förmige Sekundärstruktur der tRNA^{Phe} zu einer L-förmigen dreidimensionalen Struktur gefaltet ist. Spätere Strukturstudien mit anderen spezifischen tRNAs bestätigten den universellen Charakter dieser L-förmigen dreidimensionalen Struktur.

Erste Anzeichen, dass die Struktur von Ribosomen durch Röntgenkristallographie untersucht werden könnte, folgten 1980 aus den Arbeiten von Ada Yonath und Kooperationspartnern in Berlin, als diese zum ersten Mal Ribosomen kristallisierten.^[38] Die ersten erhaltenen Kristalle waren solche der ribosomalen 50S-Untereinheiten von *Bacillus stearothermophilus*, allerdings waren die Methoden zur Struktaufklärung eines so großen Ribonukleoprotein-Komplexes zu der Zeit noch nicht verfügbar.^[20] In der Tat dauerte es zwanzig Jahre, bis die Struktur des Ribosoms durch die Gruppen von A. Yonath,^[39] T. Steitz,^[40] V. Ramakrishnan^[41] und H. Noller aufgeklärt werden konnte.^[42] Die hochauflösten Strukturen liefern eine Fülle wertvoller Informationen, nicht nur bezüglich der Struktur, sondern auch der Funktion von Ribosomen. So ist es inzwischen möglich, die verschiedenen tRNAs an den ribosomalen A-, P- und E-Bindungsstellen, die von K. Nierhaus und Mitarbeitern entdeckt wurden,^[43] zu lokalisieren und ihre Interaktion mit den Codons der mRNAs zu verfolgen.^[44] Eine sehr detaillierte Übersicht über die Entwicklungen, die zur Entdeckung der Proteinsynthese führten, findet sich im Buch *Experimentalsysteme und epistemische Dinge* von Hans-Jörg Rheinberger.^[45]

5. Zusammenfassung

Die Entschlüsselung des genetischen Codes veränderte nicht nur die Molekularbiologie, sondern hat auch Auswirkungen auf unsere heutige Art zu leben und auf unsere Vorstellungen von der Zukunft. Die Kenntnis des genetischen Codes hat uns zweifellos dabei geholfen, die zellulären Abläufe in lebenden Zellen sowie die Mechanismen des Zellwachstums und der Vererbung besser zu verstehen. Für die Gesellschaft vielleicht von noch größerer Bedeutung ist die Tatsache, dass wir nun in eine neue Phase der molekularen Medizin eintreten, die wiederum in ihre nächste Phase des verheißungsvollen Gebiets der personalisierten Medizin führen wird.

Auch der ökonomische Einfluss eines Projekts wie dem Humangenomprojekt, das 1988 von den Vereinigten Staaten mit einer Finanzhilfe von 3.8 Milliarden US\$ initiiert wurde, hing von der Kenntnis des genetischen Codes ab. Wie aus dem jüngsten Barttelle-Bericht^[46] „Economic Impact of the Human Genome Project“ hervorgeht, hat sich die ursprüngliche Investition in die Sequenzierung des menschlichen Genoms für die amerikanische Gesellschaft mehr als bezahlt gemacht, denn 2011 wurden nahezu 800 Milliarden US\$ an Erlösen in den Bereichen Molekularbiologie, Biotechnologie und Medizin erwirtschaftet. Davon flossen rund 20 Milliarden US\$ Gehälter an die 310 000 Angestellten in diesem Sektor, sowie allein im Jahr 2010 3.7 Milliarden US\$ an Steuern an den amerikanischen Staat.

Die frühen Experimente, die Nirenberg und Mathaei vor 50 Jahren durchführten, sind es also ohne Zweifel wert, als

THE GENETIC CODE

Table of the genetic code. Initiation and termination codons are designated by green dots and STOP signs, respectively. Exceptions to the standard genetic code are shown in the right column in green (standard amino acids), orange (non-standard amino acids) and small symbols (initiation and termination codons). Yellow background indicates codons not used in some organisms. In the standard genetic code initiation and terminators codons are marked with large signs.

Amino acids: Ala-Alanine, Arg-Arginine, Asn-Asparagine, Asp-Aspartic acid, Cys-Cysteine, Glu-Glutamine, Glu-Glutamic acid, Gly-Glycine, His-Histidine, Ile-Isoleucine, Leu-Leucine, Lys-Lysine, Met-Methionine, Phe-Phenylalanine, Pro-Proline, Pys-Pyrolysine, Sec-Selenocysteine, Ser-Serine, Thr-Threonine, Trp-Tryptophan, Tyr-Tyrosine, Val-Valine.

GenBank translation table numbers. **1.** Standard code; **2.** Vertebrate mitochondrial code; **3.** Yeast mitochondrial code; **4.** Mold, protozoan, and coelenterate mitochondrial code and the Mycoplasma/Spiroplasma code; **5.** Invertebrate mitochondrial code; **6.** Ciliate, dasycladacean and hexamita nuclear code; **9.** Echinida mitochondrial code; **10.** Euplotid nuclear code; **11.** Bacterial and plant plastid code; **12.** Alternative yeast nuclear code; **13.** Ascidian mitochondrial code; **14.** Alternative flatworm mitochondrial code; **15.** *Blepharisma* nuclear code; **16.** Chlorophycean mitochondrial code; **22.** *Scenedesmus obliquus* mitochondrial code; **23.** *Thraustochytrium* mitochondrial code. (Source: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Utils/wprintgc.cgi>)

Abbildung 4: Die aktuelle Version der Tabelle des genetischen Codes, in der alle Varianten der bisher bestimmten Kodierungsregeln enthalten sind. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung von *Acta Biochimica Polonica*.^[3]

klassische Experimente in die Geschichte der Biologie einzugehen.

Eingegangen am 8. Juni 2011

Online veröffentlicht am 14. September 2011

-
- [1] V. Orel, R. J. Wood, *C. R. Acad. Sci. Ser. III* **2000**, 323, 1037.
 - [2] N. Roll-Hansen, *Biol. Philos.* **1989**, 4, 303.
 - [3] O. T. Avery, C. M. MacLeod, M. McCarty, *J. Exp. Med.* **1944**, 79, 137.
 - [4] A. D. Hershey, M. Chase, *J. Gen. Physiol.* **1952**, 36, 39.
 - [5] E. Chargaff, S. Zamenhof, C. Green, *Nature* **1950**, 165, 756.
 - [6] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, 171, 737.
 - [7] S. Ochoa, *Experientia* **1964**, 20, 57.
 - [8] I. A. Rose, M. Grunberg-Manago, S. R. Korey, S. Ochoa, *J. Biol. Chem.* **1954**, 211, 737.
 - [9] M. B. Hoagland, M. L. Stephenson, J. F. Scott, L. I. Hecht, P. C. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* **1958**, 231, 241.
 - [10] A. Rich, D. R. Davies, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 3548.
 - [11] A. Varshavsky, *Cell* **2005**, 127, 1295.
 - [12] G. Gamov, *Nature* **1954**, 173, 318.
 - [13] F. H. Crick, *Symp. Soc. Exp. Biol.* **1958**, 12, 138.
 - [14] M. B. Hoagland, M. L. Stephenson, J. F. Scott, L. I. Hecht, P. C. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* **1958**, 231, 241.
 - [15] F. H. C. Crick, *What Mad Pursuit. A Personal View of Scientific Discovery*, Weidenfeld and Nicol, London, **1988**, S. 67.
 - [16] F. Crick, *Nature* **1970**, 227, 561.
 - [17] M. S. Meselson, F. W. Stahl, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1958**, 44, 671.
 - [18] G. E. Palade, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **1955**, 1, 59.
 - [19] S. de Chadarevian, H. J. Rheinberger, *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* **2009**, 40, 4.
 - [20] M. Sprinzl, V. A. Erdmann, *ChemBioChem* **2009**, 10, 2851.
 - [21] K. H. Nierhaus, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9389; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 9225.
 - [22] F. H. Crick, L. Barnett, S. Brenner, R. J. Watts-Tobin, *Nature* **1961**, 192, 1227.
 - [23] F. Jacob, J. Monod, *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 318.
 - [24] M. Nirenberg, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, 29, 46.
 - [25] M. W. Nirenberg, J. H. Matthaei, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1961**, 47, 1588.
 - [26] P. Lengyel, J. F. Speyer, S. Ochoa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1961**, 47, 1936.
 - [27] H. G. Khorana, *Fed. Proc.* **1965**, 24, 1473.
 - [28] F. H. Crick, *J. Mol. Biol.* **1966**, 19, 548.
 - [29] S. Sengupta, X. Yang, P. G. Higgs, *J. Mol. Evol.* **2007**, 64, 662.
 - [30] Q. Wang, A. R. Parrish, L. Wang, *Chem. Biol.* **2009**, 16, 323.
 - [31] M. Szymanski, J. Barciszewski, *Acta Biochim. Pol.* **2007**, 54, 51.
 - [32] F. Chapeville, F. Lipmann, G. von Ehrenstein, B. Weisblum, W. J. Ray, Jr., S. Benzer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1962**, 48, 1086.
 - [33] R. W. Holley, J. Apgar, G. A. Everett, J. T. Madison, M. Marquisee, S. H. Merrill, J. R. Penswick, A. Zamir, *Science* **1965**, 147, 1462.
 - [34] H. G. Zachau, D. Dütting, H. Feldmann, *Angew. Chem.* **1996**, 78, 392; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1966**, 5, 422.
 - [35] U. L. Rajbhandary, S. H. Chang, A. Stuart, R. D. Faulkner, R. M. Hoskinson, H. G. Khorana, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1967**, 57, 751.
 - [36] S. H. Kim, F. L. Suddath, G. J. Quigley, A. McPherson, J. L. Sussman, A. H. Wang, N. C. Seeman, A. Rich, *Science* **1974**, 185, 435.
 - [37] J. D. Robertus, J. E. Ladner, J. T. Finch, D. Rhodes, R. S. Brown, B. F. Clark, A. Klug, *Nature* **1974**, 250, 546.
 - [38] A. Yonath, J. Muessig, B. Tesche, S. Lorenz, V. A. Erdmann, H. G. Wittmann, *Biochem. Int.* **1980**, 1, 428.
 - [39] A. Yonath, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 4438; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 4340.
 - [40] T. A. Steitz, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 4482; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 4381.
 - [41] V. Ramakrishnan, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 4454; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 4355.
 - [42] A. Korostelev, M. Laurberg, H. F. Noller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, 106, 18195.
 - [43] K. H. Nierhaus, R. Brimacombe, V. Nowotny, C. L. Pon, H. J. Rheinberger, B. Wittmann-Liebold, H. G. Wittmann, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1987**, 52, 665.
 - [44] V. Di Giacco, V. Márquez, Y. Qin, M. Pech, F. J. Triana-Alonso, D. N. Wilson, K. H. Nierhaus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105, 10715.
 - [45] H.-J. Rheinberger, *Experimentalsysteme und epistemische Dinge*, Suhrkamp, Wallenstein, Göttingen, **2006**.
 - [46] Bartelle, *Economic Impact of the Human Genome Project*, The Business of Innovation, Report, May **2011**.