



© MRC LMB

F. Sanger

## Frederick Sanger (1918–2013)

Frederick (Fred) Sanger starb am 19. November 2013 im Alter von 95 Jahren. Er hat als einziger zweimal den Chemie-Nobelpreis erhalten, 1958 und 1980 (*Angew. Chem.* **1981**, 93, 127), für die Entwicklung von Methoden zur Sequenzierung von Proteinen bzw. Nucleinsäuren. Er war äußerst bescheiden und unaufdringlich und dabei dennoch enorm inspirierend und einflussreich. Er war eine Schlüsselfigur in der Wissenschaft des 20. Jahrhunderts, und die Anwendungen dessen, was er möglich gemacht hat, in der Medizin stehen noch ganz am Anfang.

Fred Sanger wurde in Rendcomb in Gloucestershire in eine Arztfamilie hineingeboren. Nach der Schule, an der sein Interesse für die praktische Chemie erwachte, ging er ans St John's College, Cambridge, und schloss dort 1940 das Biochemiestudium mit einem „first-class BA“ ab. Als Quaker und Kriegsdienstverweigerer konnte er bei Albert Neuberger am Department of Biochemistry in Cambridge sofort mit seiner Forschung (über den Lysinmetabolismus) anfangen. Sein gesamtes Forscherleben verbrachte er in Cambridge.

1943 begann er, angeregt von Albert Chibnall, mit seiner unabhängigen Forschung. Sein erstes Ziel war, die aminoterminalen Gruppen von Insulin zu bestimmen; dessen vollständige Sequenzierung führte dann zum ersten Nobelpreis. Für die Sequenzierung musste ein neuartiges Reagens, Fluordinitrobenzol (Sanger-Reagens), entwickelt und eine Strategie zur partiellen Hydrolyse eingeführt werden, um (durch Elektrophorese und Chromatographie) trennbare überlappende Fragmente zu erhalten – ein Thema, das sich durch viele seiner späteren Arbeiten zieht.

1962 fing Sanger am neu gegründeten Medical Research Council (MRC) Laboratory of Molecular Biology mit der Entwicklung von Methoden zur RNA-Sequenzierung an, die auf der Markierung von Nucleotiden mit  $^{32}\text{P}$  beruhten. Gemeinsam mit seinem Assistenten Bart Barrell entwickelte er Methoden zur enzymatischen Fragmentierung und analytischen elektrophoretischen 2D-Fraktionierung. Die Sequenz der 120 Nucleotide umfassenden 5S-rRNA aus *E. coli* klärte er 1967 zusammen mit Barrell und George Brownlee auf. Die Sequenzierung längerer RNA, Teile des 3300 Nucleotide langen Genoms des Bakteriophagen R17, belegte erstmals direkt den Zusammenhang zwischen dem genetischen Code und einer Aminosäuresequenz (hier des zuvor sequenzierten Hüllproteins).

In den späten 1960er Jahren begann Sanger mit der Entwicklung von Methoden zur DNA-Sequenzierung. Die Verlängerung eines kurzen Oligonucleotid-Primers an einem Einzelstrang-DNA-Templat durch Polymerase – ein in Strategien zur

DNA-Sequenzierung inzwischen allgegenwärtiges Vorgehen – war eine frühe Entwicklung. Auf diese Art wurden 50 Nucleotide der Bakteriophagen- $\phi$ 1-DNA sequenziert. Die Analyse wurde durch das Einfügen von Ribonucleotiden bei der DNA-Verlängerung vereinfacht, weil so Fragmentierung und zweidimensionale chromatographische oder elektrophoretische Analyse möglich waren. Dieses Verfahren war extrem aufwendig, doch die Möglichkeit für eine viel schnellere Sequenzierung wurde erkennbar, als man entdeckte, dass die denaturierende Polyacrylamidgel-Elektrophorese in der Lage ist, Unterschiede von nur einem Nucleotid selbst in relativ langen Oligonucleotiden aufzulösen. Fred dazu: „the best idea I ever had“.

Die erste von Sanger entwickelte Methode, um Fragmente für das „1D-Sequenzieren“ auf Polyacrylamidgelen zu erzeugen, war die „Plus-Minus“-Methode: Gereinigte  $^{32}\text{P}$ -markierte Fragmente aus einer Primerverlängerung werden in Reaktionen mit oder ohne einem der vier Triphosphate ein zweites Mal verlängert. Dank dieses Fortschritts konnte die Gruppe von Sanger 1977 die Sequenz des gesamten 5386 Nucleotide umfassenden Genoms des Bakteriophagen  $\Phi$ X174 veröffentlichen. Anschließend entwickelte Sanger als Ersatz für die sehr aufwendige „Plus-Minus“-Sequenz die Methode, für die er vermutlich am bekanntesten ist – die Kettenabbruch-Sequenzierung; bei ihr wird eines der Nucleosidtriphosphate in jeder der vier Polymerisationen teilweise durch sein 2',3'-Dideoxy-Derivat ersetzt. Nachdem die prinzipielle Eignung der Methode mit dem verfügbaren DideoxyT bewiesen war, mussten Fred und ich die Dideoxy-Derivate von A, C und G selbst synthetisieren. Diese „Sanger-Dideoxy-Sequenzierung“ wurde von der Sanger-Gruppe für eine erneute Sequenzierung des  $\Phi$ X174-Genoms sowie für die Sequenzierung der menschlichen Mitochondrien-DNA (16589 Nucleotide) und des Genoms des Bakteriophagen  $\lambda$  (48502 Nucleotide) genutzt. Dafür erhielt Sanger (zusammen mit Walter Gilbert und Paul Berg) seinen zweiten Nobelpreis. Mithilfe der Dideoxy-Sequenzierung konnte die Sequenz vieler Genome, einschließlich des menschlichen Genoms, bestimmt werden, und Modifikationen dieser Methode sind die Grundlage für heute verwendete Verfahren. Das Genom-Forschungszentrum in Cambridge, das Sanger Institute, wurde nach ihm benannt.

Für viele überraschend ging Fred 1984 in den Ruhestand, vor allem um Zeit in seinem großen Garten auf dem Land in der Nähe von Cambridge zu verbringen. Er war 72 Jahre mit der 2012 verstorbenen Joan verheiratet und hinterlässt drei Kinder und zwei Enkelkinder.

Alan Coulson

DOI: 10.1002/ange.201310781