Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 25 (1969)

Artikel: Über die Synthese der Ribonukleinsäuren

Autor: Weissmann, C.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307756

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Institut für Molekularbiologie der Universität Zürich

Über die Synthese der Ribonukleinsäuren

Ch. Weissmann

Die Desoxyribonukleinsäure, deren Entdeckung wir heute feiern, ist ein hochspezialisiertes Makromolekül, das vorwiegend wenn nicht ausschließlich als Speicher genetischer Information dient. Ribonukleinsäuren hingegen übernehmen eine Vielfalt von Funktionen, unter anderen die eines Informationsspeichers (Genom, im Fall bestimmter Viren), eines strukturellen und eventuell auch funktionellen Elements (als 5S, 16S und 23S RNA im Ribosom), eines Intermediärprodukts bei der Proteinsynthese (als Aminoacyl-tRNA) oder eines Informationsüberträgers bei der Proteinsynthese (als Messenger-RNA), um bloß einige der besser bekannten Beispiele zu nennen (Abb. 1).

Ribonukleinsäuren sind lange Ketten, bestehend aus vier verschiedenen Nukleotiden (Adenylat, Guanylat, Uridylat und Cytidylat), die in spezi-

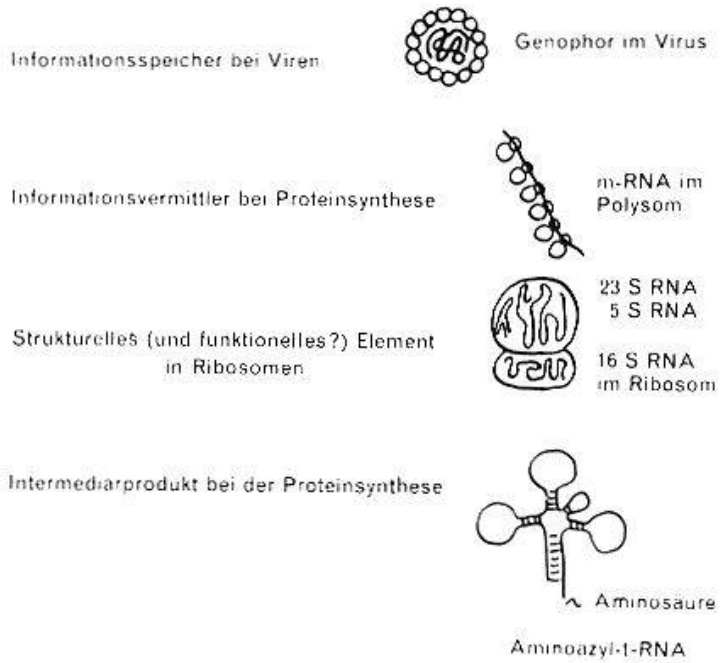

Abb. 1. Verschiedene Funktionen der RNA.

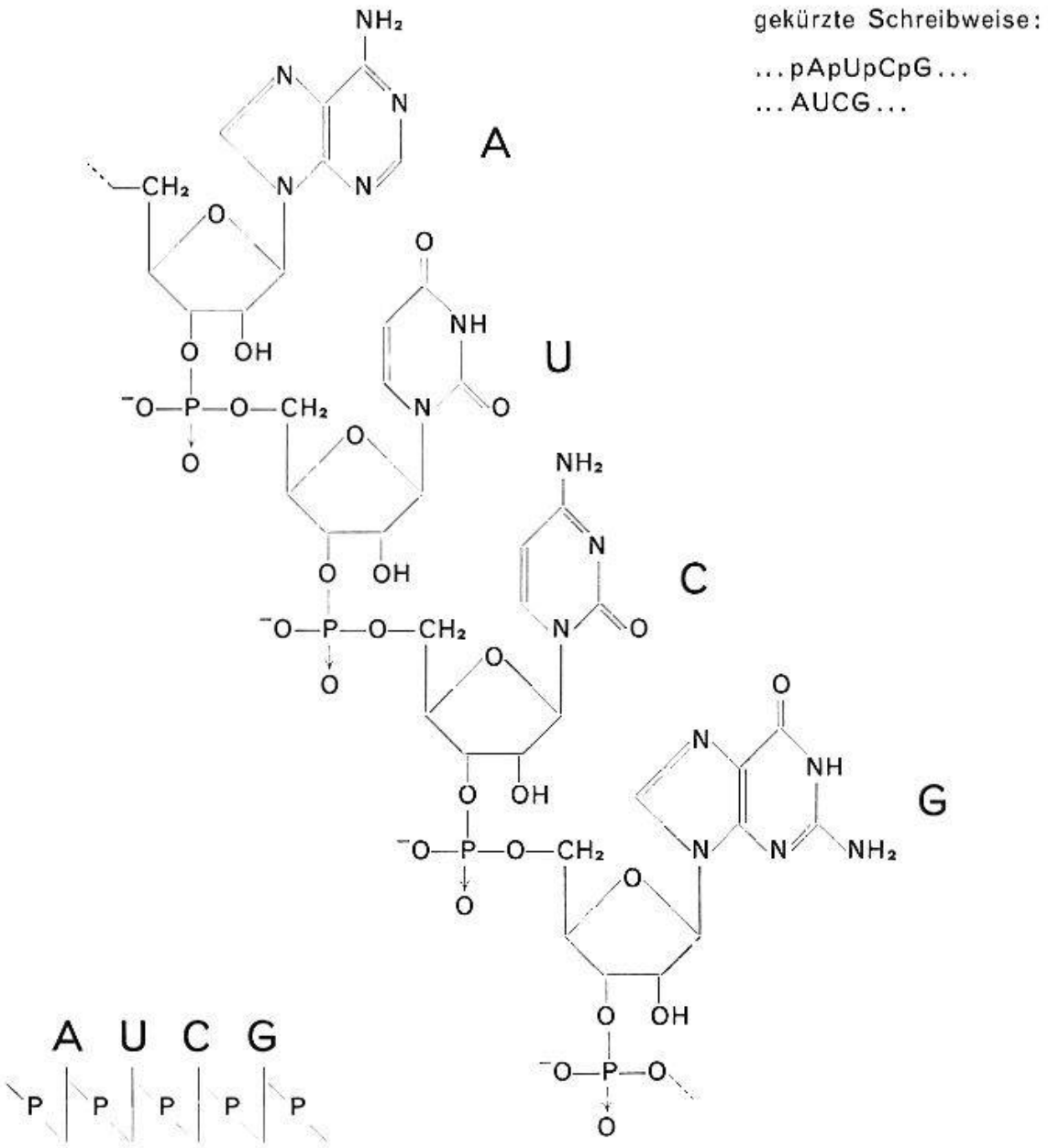

Abb. 2. Chemische Struktur der Ribonukleinsäure. A = Adenin, U = Uracil, G = Guanin und C = Cytosin.

fischer Reihenfolge angeordnet sind (Abb. 2). Dreidimensionale Struktur und Funktion der Ribonukleinsäure werden auf eindeutige Weise von deren Nukleotidsequenz bestimmt. Von besonderem Interesse ist die Biosynthese der Ribonukleinsäuren, insbesondere der Mechanismus, der die erforderliche Nukleotidsequenz korrekt zustandebringt. In jedem bisher bekannten Fall spielt eine Matrize die dirigierende Rolle: Jedes Element der Matrize bestimmt auf eindeutige Weise ein Element des Produktes. Bei der Synthese aller Ribonukleinsäuren der Zelle (vom Bakterium bis zum Säugetier) dient die Desoxyribonukleinsäure als Matrize; bei der Replikation RNA-haltiger Viren hingegen übernimmt eine einsträngige RNA die dirigierende Funktion.

Die RNA-Synthese in der Zelle (Transkription)

Die RNA-Synthese in der Zelle wird durch die sogenannte DNA-abhängige RNA-Polymerase ausgeführt. Dieses Enzym ist in hochgereinigtem Zustand gewonnen und im Reagensglas studiert worden. Es ist befähigt, in Gegenwart von Mg^{++} die vier Ribonukleosidtriphosphate ATP, GTP, UTP und CTP (Adenosin-, Guanosin-, Uridin- bzw. Cytidintriphosphat) unter Abspaltung von Pyrophosphat zur Ribonukleinsäure zu kondensieren (Abb. 3). Diese Reaktion findet nur statt, wenn dem Inkubationsgemisch DNA zugegeben wird. Diese dient als Matrize für die RNA-Synthese, wie in Abb. 4 angedeutet: die DNA-Doppelhelix wird im Bereich der Polymerase aufgewunden und die exponierten Basen des einen DNA-Strangs dienen dazu, die zu kondensierenden Ribonukleosidtriphosphate in bestimmter Reihenfolge auszuwählen. Die Auswahlregeln sind durch die Watson-Crick-Beziehung gegeben: Thymin in der DNA bestimmt den Einbau eines Adenylatrests; Guanin, den von Cytidylat; Cytosin, den von Guanylat und Adenin, den von Uridylat.

Die Zelle benötigt einige hundert *verschiedenartige* RNA-Stränge; diese entsprechen bestimmten Abschnitten der DNA, die (im Falle von Bakterien) als ein Riesenmolekül vorliegt. Es müssen daher auf der DNA bestimmte Signale vorliegen, die der RNA-Polymerase anzeigen, wo die Synthese jeweils zu beginnen und wo sie zu enden hat. Die Startsignale werden als «Promotoren» bezeichnet; über ihre chemischen Eigenschaften ist noch nichts Sicheres bekannt. Wie oben erwähnt, dient in einem bestimmten DNA-Bereich jeweils nur einer der beiden Stränge als Matrize; vermutlich ist das Startsignal auf dem entsprechenden Strang signalisiert. Es ist ferner bekannt, daß von manchen RNA-Spezies stets sehr viele Exemplare benötigt werden (z. B. ribosomale RNA), von anderen (bestimmten Messenger-RNA-Arten) nur wenige (Abb. 5). Die Häufigkeit, mit der die einzelnen Abschnitte der DNA in RNA umgeschrieben werden, schwankt dementsprechend von eins bis zu einigen hundert pro Zellgeneration. Es scheint, daß in der Zelle gewisse Proteinfaktoren auftreten (z. B. der sogenannte σ-Faktor), die die RNA-Polymerase an bestimmte Startsignale zu binden

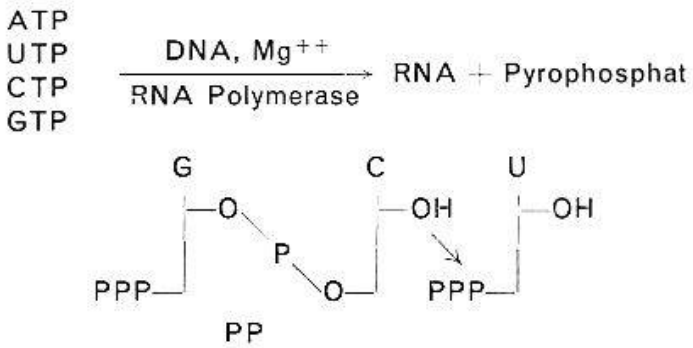

Abb. 3. RNA-Synthese durch DNA-abhängige RNA-Polymerase. Das erste in die RNA-Kette eingebaute Ribonukleosidtriphosphat behält den Triphosphatrest (PPP); bei den nachfolgenden wird ein Pyrophosphatrest abgespalten.

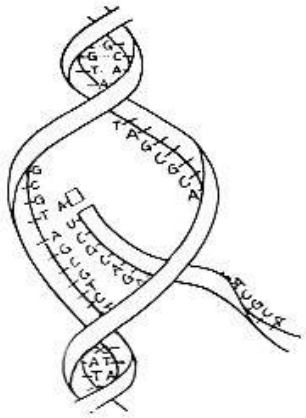

Abb. 4. Zum Mechanismus der RNA-Synthese durch DNA-abhängige RNA-Polymerase. – Die DNA-Doppelhelix wird durch die Polymerase teilweise auseinandergewunden. Nur einer der DNA-Stränge dient als Matrize, wobei A, T, G und C (= Cytosin) im DNA-Strang jeweils den Einbau von U, A, C bzw. G in den RNA-Strang bedingen.

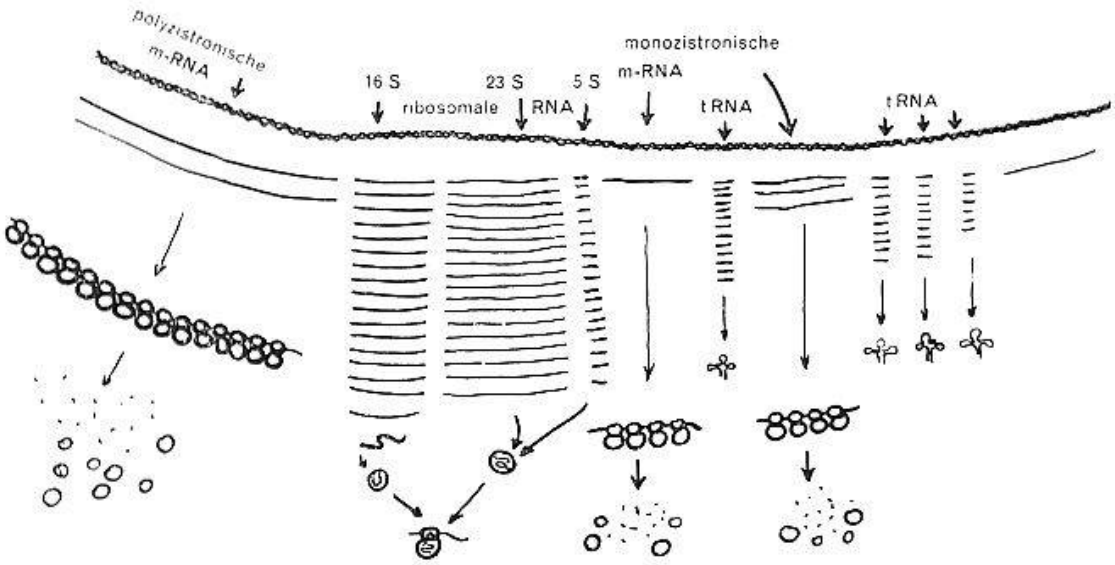

Abb. 5. Transkription eines Abschnittes des E.-coli-Genoms. Das Genom von E. coli besteht aus einer einzigen, etwa 1,5 mm langen, zirkulären DNA-Doppelhelix (die Abbildung zeigt nur einen Ausschnitt). Es ist funktionell in etwa tausend Cistrons gegliedert, von denen manche einzeln (monocistronisch), andere in Gruppen (polycistronisch) in RNA «umgeschrieben» werden. Die Cistrons werden verschieden häufig umgeschrieben und die Häufigkeit der Transkription ist den Bedürfnissen des Stoffwechsels angepaßt. Die entstehende RNA ist teils stabil (z. B. ribosomale oder tRNA), teils wird sie kurz nach der Verwendung abgebaut (mRNA).

vermögen, nicht aber an andere. Ferner müssen einzelne Messenger-RNAs je nach der Stoffwechsellage manchmal selten und manchmal häufig synthetisiert werden. Diese, mit dem Stoffwechsel gekoppelten Regelvorgänge beruhen wahrscheinlich letzten Endes darauf, daß spezifische Eiweißmoleküle, Repressoren genannt, sich mit bestimmten Abschnitten der DNA verbinden und den Durchgang der RNA-Polymerase verhindern. Erst wenn die betreffenden RNA-Moleküle benötigt werden, werden die Repressoren abgelöst und die Transkription ermöglicht.

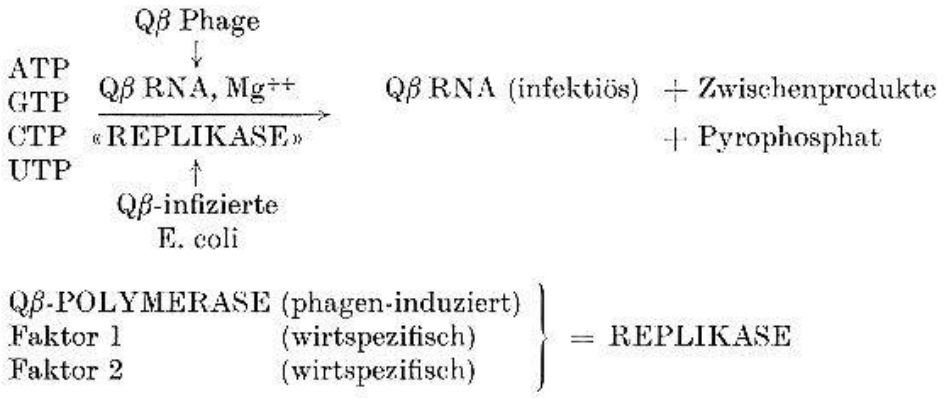

Abb. 6. Virus-RNA-Synthese durch RNA-Replikase. – Das Replikasesystem des Phagen Qβ besteht aus einem Polymerasemolekül und zweier «Faktoren», die für die Initiation der Synthese benötigt werden. Das System produziert infektiöse Virus-RNA aus den vier Ribonukleosidtriphosphaten, unter Verwendung von Virus-RNA als Matrize. Als Zwischenprodukte treten unter anderm Minusstränge auf.

Die Regelvorgänge bei höheren Organismen dürften noch wesentlich komplizierter sein, sind aber bisher weitgehend unbekannt.

Die Replikation RNA-haltiger Viren

Die Replikation RNA-haltiger Viren ist am eingehendsten am Beispiel des Bakteriophagen Qβ studiert worden. Dieser enthält als Genom eine einzelsträngige RNA, die aus etwa 3500 Nukleotiden besteht und von einer Schale von etwa 180 Hüllproteinmolekülen umgeben ist; dazu kommt noch ein Molekül des sogenannten A-Proteins, das bei der Bindung des Virusteilchens an die Wirtszelle eine Rolle spielt. Dringt die Virus-RNA in die Wirtszelle ein (im Falle des Phagen Qβ ist der Wirt E. coli), so wird der Stoffwechsel des Wirtes weitgehend in den Dienst des Parasiten gestellt, und schon innert 30–40 min birst der Wirt und setzt 20 000–40 000 Virusteilchen frei. Dabei ist es von Interesse festzuhalten, daß die isolierte RNA, ohne Proteinhülle, völlig genügt, um den Infektionsablauf auszulösen, sofern man mit Hilfe gewisser Kunstgriffe die Nukleinsäure in die Wirtszelle einführt. Eines der ersten Ereignisse nach der Infektion ist das Auftreten eines sogenannten RNA-Replikasesystems, dessen Aufgabe es ist, die Virus-RNA zu vermehren. Dieses Enzymsystem ist in gereinigtem Zustand isoliert worden und ist befähigt, Ribonukleosidtriphosphate unter Verwendung von Qβ-RNA als Matrize zu polykondensieren (Abb. 6). Dabei entsteht unter anderem RNA, mit denselben physikalisch-chemischen und biologischen Eigenschaften (insbesondere Infektiosität!) wie die als Matrize verwendete Qβ-RNA. Das Qβ-Replikasesystem besteht aus mindestens drei Komponenten: aus einer Polymerase, deren Synthese im Wirt vom Phagengenom diktiert wird, und zwei eiweißartigen Faktoren, die auch normalerweise im Wirt vorkommen und deren genaue Wirkungsweise nicht bekannt ist.

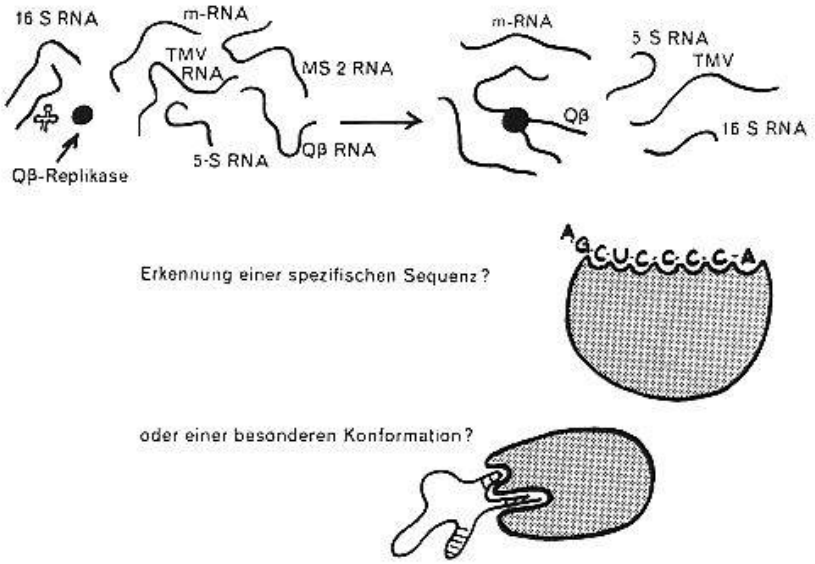

Abb. 7. Selektivität der Qβ Replikase für ihre Matrize. – Aus einem Gemisch verschiedenster RNA-Moleküle wird von der Qβ-Replikase spezifisch Qβ RNA als Matrize auserwählt. Es ist nicht bekannt, ob das Enzym eine bestimmte Basensequenz oder die Tertiärstruktur der RNA erkennt.

Das Replikasesystem weist eine außergewöhnliche Eigenschaft auf: es verwendet nur die homologe RNA als Matrize, d. h Qβ-Replikase erkennt nur Qβ-RNA, und nicht die RNA anderer, ähnlicher Viren. Ob diese Spezifität darauf beruht, daß das Enzym eine besondere Basensequenz erkennt, oder ob die dreidimensionale Struktur der RNA als solche zur Erkennung dient, ist bisher nicht bekannt (Abb. 7).

Wie wird eine einsträngige RNA kopiert? Die Analyse der Replikasereaktion in vitro zeigt, daß als erstes Produkt ein RNA-Strang entsteht, der zur Qβ-RNA komplementär ist (Abb. 8) (Qβ-RNA und der dazu komplementäre Strang werden auch als Plus- bzw. Minusstrang bezeichnet). Die neuentstehenden Minusstränge fallen wahrscheinlich vorwiegend als Einzelstränge an, sie verbinden sich aber leicht mit Plussträngen zu doppelsträngiger RNA. Die neuentstehenden einzelsträngigen Minusstränge werden ihrerseits vom Replikasesystem als Matrize verwendet, wobei nun Plusstränge synthetisiert werden (Abb. 9). Bemerkenswerterweise dienen nur einzelsträngige Minusstränge als Matrize: Doppelsträngige RNA ist inaktiv. Der Nachweis, daß einzelsträngige Minusstränge als Matrize für die zweite Reaktionsphase dienen, wurde folgendermassen erbracht. Minusstränge wurden aus infizierten Zellen gereinigt und völlig von Plussträngen abgetrennt. Diese sind, im Gegensatz zu Plussträngen, nicht-infektiös (Grund hierfür ist, daß nur der Plus-, nicht aber der komplementäre Minusstrang als Messenger für die virusspezifische Proteinsynthese dienen kann). Setzt man Minus- anstelle von Plussträngen in die Replikasereaktion ein, so erweisen sie sich als ausgezeichnete Matrize, wobei ein Überschuß an infektiöser Qβ-RNA entsteht.

Der zeitliche Verlauf der Synthese infektiöser Virus-RNA unter Verwendung von Minussträngen ist im Versuch der Abb. 10 dargestellt. Dem Repli-

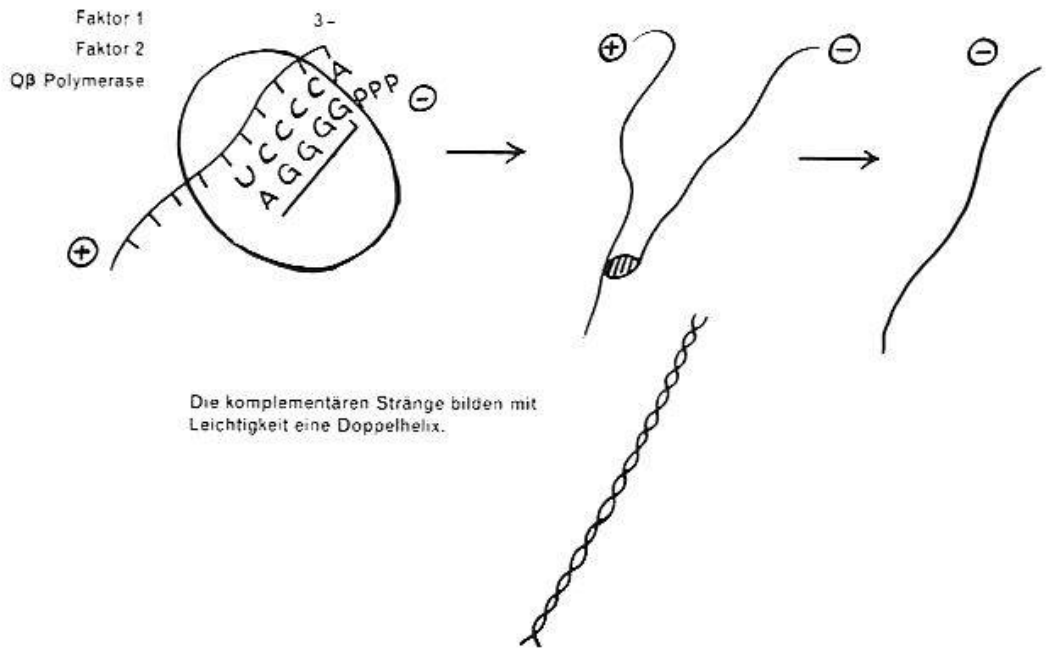

Abb. 8. Der erste Schritt der Replikation von Virus-RNA durch Qβ-Replikase. – Die Polymerase setzt sich am 3'-Ende des als Matrize dienenden Plusstrangs fest und beginnt die Synthese des komplementären Minusstrangs (zu diesem Schritt werden zwei zusätzliche Faktoren benötigt). Der Minusstrang bildet mit Plussträngen leicht eine Doppelhelix. Nur einsträngige Minusstränge dienen als Matrize für den nächsten Syntheseschritt (Abb. 9).

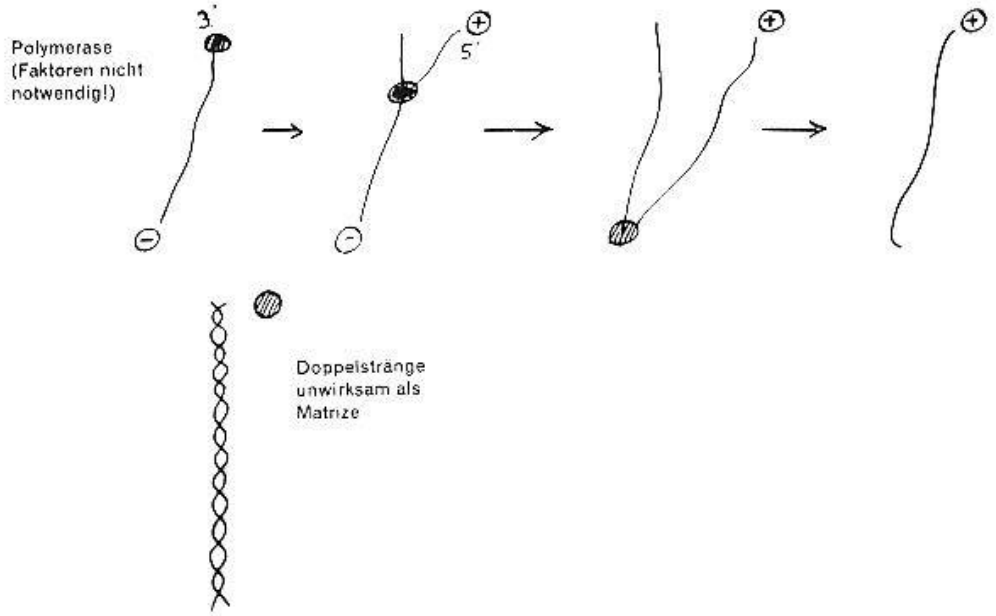

Abb. 9. Der zweite Schritt der Replikation von Virus-RNA durch Qβ-Replikase. – Die Polymerase synthetisiert einen Plusstrang, beginnend am 3'-Ende des Minusstrangs.

kasesystem werden als Matrize nicht-infektiöse Minusstränge und radioaktive Ribonukleosidtriphosphate zugesetzt. Man erwartet nun (Abb. 10a), daß bei der Synthese vorerst radioaktive RNA entsteht, ohne daß Infektiosität im Reaktionsansatz nachzuweisen ist. Erst wenn Plusstränge vollendet

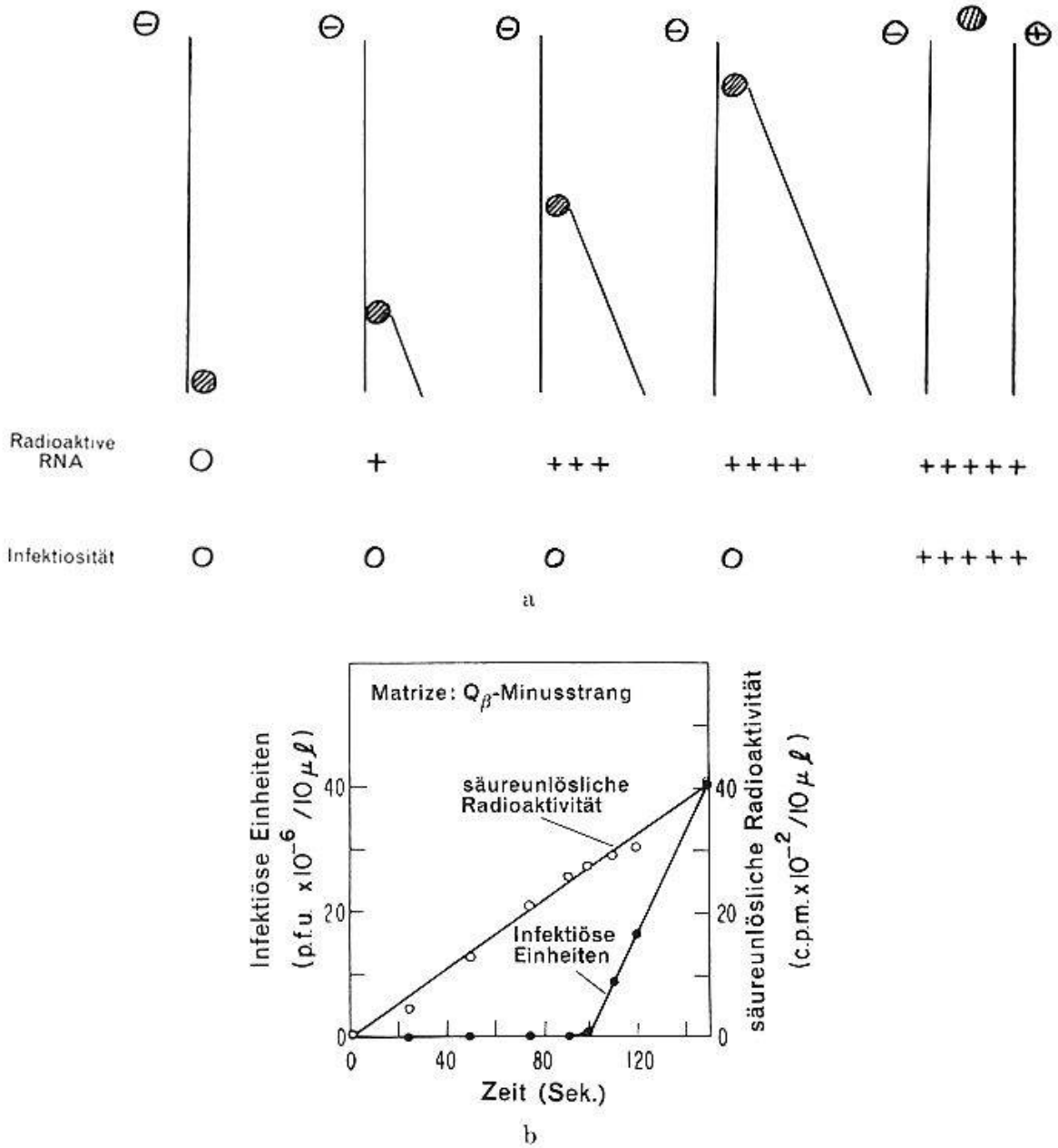

Abb. 10. In-vitro-Synthese infektiöser Virus-RNA mit nicht-infektiösen Minussträngen als Matrize. – a) Schematische Darstellung des Versuchs. Qβ-Replikase wird mit radioaktiven Ribonukleosidtriphosphaten und Minussträngen inkubiert. Sukzessive Proben werden auf Synthese radioaktiver RNA und Infektiösität untersucht. Da erst fertige RNA infektiös ist, wird erwartet, daß die RNA-Synthese kontinuierlich verläuft, daß aber Infektiösität erst nach einer gewissen Latenzzeit auftritt. – b) Der Versuchsverlauf. Während der Inkubation bei 37° findet lineare Synthese von radioaktiver RNA statt; Infektiosität tritt erst nach 100 sec auf. Dies ist die Zeit, die benötigt wird, um die 3500 Nukleotide der Qβ-RNA aneinanderzuknüpfen. Die Synthesegeschwindigkeit beträgt demnach 35 Nukleotide/sec.

werden tritt Infektiosität auf, denn nur ein vollständiger RNA-Strang enthält die gesamte genetische Information (es erwies sich allerdings, daß das letzte der ca. 3500 Nukleotide fehlen darf). In der Tat zeigt das Versuchsergebnis von Abb. 10b, daß der Einbau von Radioaktivität vom Anfang

der Inkubation an linear verläuft, daß dagegen erst nach 100 sec (bei 37°) infektiöse RNA nachweisbar wird.

Dieser Versuch zeigt nicht nur, daß unter Verwendung von Minussträngen infektiöse RNA de novo im Reagensglas erzeugt werden kann, sondern er erlaubt es auch, die Synthesegeschwindigkeit zu bestimmen: 3500 Nukleotide wurden in 100 sec aneinandergereiht, oder 35 Nukleotide pro sec, ein Wert der den in vivo Verhältnissen durchaus entspricht.

Der vorangehende Überblick soll zeigen, daß die in den letzten Jahren entwickelten In-vitro-Systeme Einblick in die Einzelheiten der Synthesemechanismen gewähren. Ist es bisher gelungen, die Synthese natürlich vorkommender, biologisch aktiver Nukleinsäuren im Reagensglas zu vollziehen, so liegt es nun nahe, diese Synthesen gerichtet abzuändern, um Nukleinsäuren mit veränderten genetischen Eigenschaften zu erzeugen. Solche Bestrebungen sind in mehreren Laboratorien im Gange und versprechen ein neues Kapitel in der biologischen Forschung zu eröffnen.

Zusammenfassung

Die Desoxyribonukleinsäure ist ein hochspezialisiertes Makromolekül, das vorwiegend wenn nicht ausschließlich als Speicher genetischer Information dient. Ribonukleinsäuren hingegen übernehmen eine Vielfalt von Funktionen, unter anderen die eines Informationsspeichers (Genom, im Fall bestimmter Viren), eines strukturellen und eventuell auch funktionellen Elements (als 5S, 16S und 23S RNA im Ribosom), eines Intermediärproduktes bei der Proteinsynthese (als Aminoacyl-tRNA) oder eines Informationsüberträgers bei der Proteinsynthese (als Messenger-RNA), um bloß einige der besser bekannten Beispiele zu nennen.

Der Autor erläutert sodann die Struktur und Funktion der Ribonukleinsäure, gibt eine Darstellung der RNA-Synthese in der Zelle (Transkription) und schildert die Replikation RNA-haltiger Viren am Beispiel des Bakteriophagen Qβ.

Er will damit zeigen, daß die in den letzten Jahren entwickelten in vitro Systeme Einblicke in die Einzelheiten der Synthesemechanismen gewähren. Ist es bisher gelungen, die Synthese natürlich vorkommender, biologisch aktiver Nukleinsäuren im Reagensglas zu vollziehen, so liegt es nun nahe, diese Synthesen gerichtet abzuändern, um Nukleinsäuren mit veränderten genetischen Eigenschaften zu erzeugen. Solche Bestrebungen sind in mehreren Laboratorien im Gange und versprechen eine neues Kapitel in der biologischen Forschung zu eröffnen.

Résumé

L'acide désoxyribonucléique est une macromolécule hautement spécialisée qui sert surtout, sinon exclusivement, de dépôt d'information génétique. Les acides ribonucléiques par contre ont des fonctions multiples; ils ont, entre autres, les fonctions de dépôt d'informations (génome, en cas de

virus déterminé), d'élément structurel et peut-être également fonctionnel (tel que RNA 5S, 16S et 23S dans le ribosome), de produit intermédiaire dans la synthèse des protéines (tel que l'aminoacyl-tRNA) ou de messager d'information dans la synthèse des protéines (tel que le messenger RNA), pour énumérer quelques-uns des exemples bien connus.

L'auteur explique enfin la structure et la fonction de l'acide ribonucléique, décrit la synthèse RNA dans la cellule (transcription) et dépeint, à l'aide de l'exemple des bactériophages $Q\beta$, la réplication de virus contenant du RNA.

Il cherche ainsi à démontrer que les systèmes in vitro développés au cours des dernières années permettent de reconnaître les particularités des mécanismes de synthèse. Si, jusqu'à présent, on a réussi à synthétiser, dans le tube à essais, des acides nucléiques existant dans la nature et qui sont biologiquement actifs, il semble naturel d'essayer de modifier la synthèse dans une direction voulue, afin de créer des acides nucléiques montrant des propriétés génétiques mutuées. De telles expériences sont en cours dans divers laboratoires et promettent d'ouvrir un nouveau chapitre dans la recherche biologique.

Riassunto

L'acido desossiribonucleico è una macromolecola altamente specifica che serve prevalentemente, se non esclusivamente, quale deposito dell'informazione genetica. Gli acidi ribonucleici invece, hanno delle funzioni molto diverse, tra l'altro quella di un deposito dell'informazione (genoma, nel caso di determinati virus), di un elemento strutturale ed eventualmente anche funzionale (quale RNA 5 S, 16 S e 23 S nel ribosoma), di un prodotto intermediario nella sintesi delle proteine (come aminoacyl-tRNA) o di un trasmettitore di informazioni nella sintesi delle proteine (quale messenger-RNA), per elencare soltanto alcuni degli esempi meglio conosciuti.

L'autore definisce in seguito struttura e funzione dell'acido ribonucleico, tratta della sintesi di RNA nella cellula (trascrizione) e spiega la replicazione dei virus contenenti l'RNA, servendosi come esempio dei batteriofagi del tipo $Q\beta$.

Cerca così di dimostrare che i sistemi in vitro sviluppati negli ultimi anni, permettono di farsi un'idea di certi particolari riguardanti i meccanismi di sintesi. Se fino ad oggi si è riusciti a sintetizzare in provetta gli acidi nucleici provenienti in natura e biologicamente attivi, è ovvio che si cerchi ora di modificare specificamente tali sintesi, per generare degli acidi nucleici con delle proprietà genetiche mutate. Tali sforzi si stanno producendo in diversi laboratori e promettono di iniziare un nuovo capitolo nella ricerca biologica.

Summary

Deoxyribonucleic acid is a highly specialised macromolecule which serves mainly, if not exclusively, as a repository of genetic information. Ribonucleic acid, on the other hand, assumes a number of functions, amongst others

that of storing information (genome in the case of certain viruses), of structural and possibly also functional element (as 5S, 16S and 23S RNA in ribosome), of intermediary product in protein synthesis (as aminoacyl-tRNA) or of information carrier in protein synthesis (as messenger RNA), to mention only a few of the better known examples.

The author then describes the structure and function of ribonucleic acid, gives a picture of the RNA synthesis in the cell (transcription) and considers the replication of RNA-containing viruses, using as an example the bacteriophage Qβ.

The intention is to show that the in vitro systems developed in recent years provide some insight into the details of the mechanism of synthesis. Since it has become possible to carry out in the test-tube the synthesis of biologically active nucleic acids, it would seem possible to change such syntheses to produce nucleic acids with altered genetic properties. Attempts to do this are being made in several laboratories, and promise to open a new chapter in biological research.

Adresse des Autors: Prof. Dr. Ch. Weissmann, Institut für Molekularbiologie, Winterthurerstraße 260, 8057 Zürich.

Diskussion

P. Hösli (Basel): Inwiefern kann eine quantitativ gesteigerte Transkription eines spezifischen Messengers durch eine zeitlich beschleunigte Transkription und inwiefern durch eine Redundanz des Cistrons erklärt werden?

Ch. Weissmann (Zürich): In Bakterien ist gesteigerte Transkription auf eine Erhöhung der Initiationsfrequenz zurückzuführen, die eigentliche Polymerisationsrate ist stets etwa dieselbe. Redundanz des Messenger Cistrons kommt selten vor.

H. P. von Hahn (Basel): Von J. Bonner ist 1965 eine «chromosomale RNA» beschrieben worden, die aus ca. 40 Nukleotiden bestehen soll, und in Chromosomen die Spezifität der Histone als Genrepressoren bewirken soll. Ist diese RNA von unabhängiger Seite bestätigt worden?

Ch. Weissmann (Zürich): Meines Wissens ist die von Bonner gefundene «chromosomale RNA» (mit hohem Dihydrouracilgehalt) bisher nur von Bonner selbst bzw. von seinen Schülern beschrieben worden.