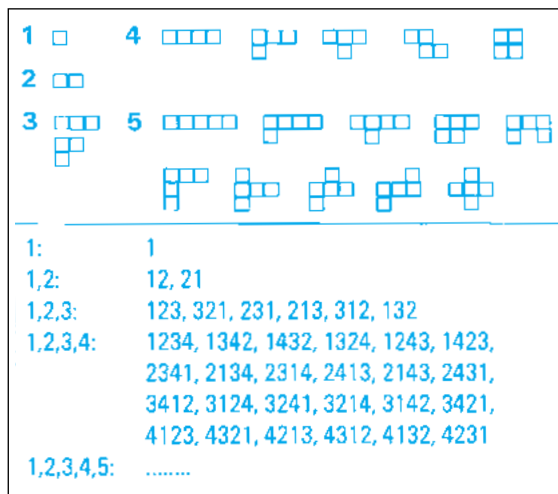


Abb. 1: Beispiele zur Veranschaulichung für das im Text erwähnte Komplexitätsproblem.

Sowohl bei den Zahlenkombinationen als auch bei den Quadraten steigt die Zahl der Kombinationsmöglichkeiten mit der Anzahl der eingesetzten Elemente exponentiell. (Verändert nach SCHUSTER 2000)



treter des Citrat-Zyklus. Damit ist zumindest theoretisch gezeigt, daß eine chemisch „unfruchtbare“ Fülle von Verbindungen vermieden werden kann und daß die verbleibenden den Aufbau des Citrat-Zyklus ermöglichen könnten.

So spekulieren MOROWITZ et al. (2000) über die Entstehung des Citrat-Zyklus als einem ersten anabolischen Stoffwechselkreislauf – entsprechend dem Kernstück des Metabolismus von chemoautotrophen Mikroorganismen – ausgehend von den Elementen des Periodensystems. Sie legen ein Konzept vor, nach dem auf der Basis von einigen Molekülen aus C, H, und O unter Beteiligung von Thioestern und Polyphosphaten (Verbindungen zur Aktivierung von sonst wenig reaktiven Molekülen, die auch Bestandteil anderer Modelle der präbiotischen Chemie sind) erste Stoffwechselkreisläufe entstehen. Die dabei angenommene Tendenz verläuft von einfachen Verhältnissen zu solchen mit größerer Komplexität, von niedriger freier Energie zu höherer und von Autotrophie zu Heterotrophie.

Für eine Bewertung dieses Ansatzes ist festzuhalten, daß die einzelnen Reaktionsschritte des reduktiven Citrat-Zyklus in chemoautotrophen Mikroorganismen alle durch Enzyme katalysiert sind. Enzyme sind komplexe Moleküle und gehören nicht zum Bestand des oben skizzierten Ensembles von 153 Verbindungen. In den verschiedenen Modellen zur präbiotischen Chemie treten diese katalysierenden Moleküle typischerweise erst später auf.

Die Autoren äußern sich nicht dazu, welche Einflüsse die notwendigen Synthesereaktionen steuern könnten.

Ob und unter welchen Bedingungen die einzelnen Reaktionen auch ohne Enzymkatalyse ablaufen, muß allerdings erst noch gezeigt werden. Vor allem aber steht noch der Nachweis aus, daß die für den Kreislauf benötigten verschiedenen Verbindungen unter ähnlichen präbiotischen Bedingungen synthetisiert werden können. Wenn tatsächlich alle Komponenten synthetisiert wären, müßten sie noch in sinnvoller Weise gekoppelt werden. Ob und wie das unter unspezifischen, präbiotischen Bedingungen möglich ist, muß noch demonstriert werden.

Schließlich erhebt sich die Frage, ob der wesentliche Aspekt dieser Arbeit wirklich darin besteht, daß damit die kombinatorische Explosion gezähmt worden sei, wie SCHUSTER (2000) seinen einleitenden Kommentar überschrieben hat („Taming combinatorial explosion“).

Die unspezifischen, nicht katalysierten präbiotischen Synthesereaktionen, die die theoretische Vielfalt an Molekülen hervorbringen, sind im Labor noch nicht experimentell nachvollzogen. Die mögliche Vielfalt provoziert für die präbiotische Chemie nämlich auch noch insofern ein grundsätzliches Problem, als daß dann die einzelne Molekularart nur in verschwindend kleinen Mengen zur Verfügung gestellt werden könnte und damit weitere Syntheseschritte aufgrund zu geringen Ausgangsmaterials nicht realisiert werden können.

Es ist nach wie vor experimentell nicht geklärt, ob das Problem nicht vor allem darin besteht, den kritischen Punkt zur Auslösung der Explosion (des exponentiellen Wachstums) überhaupt erst zu erreichen.

Harald Binder

Literatur

- MOROWITZ HJ, KOSTELNIK JD, YANG J & CODY GD (2000) The origin of intermediary metabolism. Proc. Natl. Acad. Sci. 97, 7704-7708.
 SCHUSTER P (2000) Taming combinatorial explosion. Proc. Natl. Acad. Sci. 97, 7678-7680.

Neues aus dem Ribozym-Labor

Ribonukleinsäuren (RNA), die enzymatische Aktivitäten zeigen (welche typischerweise vorher nur von Proteinen bekannt waren), sind von CECHE & ALTMAN und ihren Mitarbeitern beschrieben worden; beide wurden für ihre Arbeiten 1989 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Aufgrund dieser spek-

takulären und weiterer darauf gründender Befunde wurde das Modell der „RNA-Welt“ entwickelt, eine hypothetische frühe Etappe im Zusammenhang mit Vorstellungen zur Lebensentstehung.

Jetzt haben SCHULTES & BARTEL (2000) auf der Basis eines synthetischen und in Evolutionsexpe-

rimenten selektierten Ribozyms mit Ligaseaktivität (verknüpft Oligonukleotide mit dem eigenen 5'-Ende) und einem selbstspleißenden Ribozym aus Hepatitis Delta Viren (HDV) ein Experiment konzipiert, in dem sie zeigen, daß ein und dieselbe Primärstruktur (Sequenz) von Polynukleotiden verschiedene Sekundärstrukturen ausbilden und damit unterschiedliche enzymatische Aktivitäten entfalten kann. Die beiden als Ausgangsverbindungen für das Experiment gewählten Ribozyme katalysieren ganz unterschiedliche Reaktionen: die Ligase die Bildung einer 2'5'-Phosphodiesterbindung, während das HDV-Ribozym 3'5'-Phosphodiesterbindungen spaltet. Der Sequenzvergleich beider Ribozyme ergibt eine Übereinstimmung < 25 %. Das entspricht einem zufälligen Ergebnis.

Eine auf der Basis dieser beiden Sequenzen neukonstruierte Sequenz, eine „Schnittsequenz“ („intersection sequence“), konnte in zwei verschiedenen Sekundärstrukturen erzeugt werden, nämlich einer der Ligase und eine dem HDV-Ribozym entsprechenden. Die beiden Ribozyme mit identischer Sequenz katalysieren tatsächlich die Ligase- und die Spleißreaktion. Die Spaltungsreaktion war ca. 70fach, die Bindungsknüpfung ca. 460fach schneller im Vergleich zur jeweils unkatalysierten Reaktion. Das neue Ribozym mit der „Schnittsequenz“ mit seiner Fähigkeit, zwei unterschiedliche Sekundärstrukturen auszubilden, liegt sozusagen auf einer Kreuzung zwischen zwei Ribozymfaltungen. Es zeigt zwar geringere Aktivität als die spezialisierten Prototypen, aber es katalysiert beide Reaktionen.

Des weiteren konnten die Autoren zeigen, daß aus dem neukonstruierten Ribozym in 42 Mutationsschritten (39 Basensubstitutionen, eine Einpunkt-Deletion und zwei Einbasen-Insertionen) die Ligase, bzw. in 44 Mutationsschritten (40 Substitutionen, eine Deletion und drei Insertionen) die Prototypen (die beiden Ausgangs-Ribozyme) erzeugt werden können und zwar so, daß nach jeweils einem Mutationsschritt eine nachweisbar erhöhte enzymatische Aktivität nachweisbar ist. Jede der gewählten Mutanten ist aktiv, Varianten ohne bzw. mit geringer Aktivität wurden ausgeschlossen. SCHULTES & BARTEL haben einen Weg von der „Schnittsequenz“ zu den Prototypen gefunden, indem sie je Schritt maximal zwei Mutationen ausgeführt haben. Dabei wurde fast die Hälfte der Nukleotide ausgetauscht. Nach jeweils 3 Mutationen – ausgehend von der „Schnittsequenz“ – finden sich für beide Ribozyme immer Varianten, die $\pm 10\%$ von der Aktivität der Prototypen abweichen. Die Aktivität für die jeweils andere Reaktion ist bereits nach dem ersten Mutationsschritt unter der Nachweisgrenze.

Mit diesen Experimenten ist demonstriert worden, daß bei Nukleotidsequenzen mit einer gegebenen Primärstruktur unterschiedliche Sekundärstrukturen mit jeweils unterschiedlicher enzymatischer Aktivität ausgeprägt werden können. Bei

Proteinen mit den 20 verschiedenen proteinogenen α -Aminosäuren ist dieses Phänomen im Prinzip auch bekannt, nämlich bei Prionen (PRUSINER 1999). Allerdings scheint dort das Phänomen aufgrund der charakteristischen Eigenschaften der Aminosäuren deutlich weniger ausgeprägt zu sein (d.h. der Freiheitsgrad ist bei Proteinen geringer).

Die Autoren haben mit dieser Arbeit einen ersten experimentellen Beleg für einen theoretischen Ansatz von FONTANA & SCHUSTER (1998) geliefert. Dieser geht von der Existenz verschiedener, miteinander verwobener Netzwerke aus, die in diesem Fall durch Sequenzräume repräsentiert sind. Das Ribozym mit einer Primärstruktur und zwei verschiedenen enzymatischen Aktivitäten stellt einen solchen Schnittpunkt zwischen solchen Netzwerken dar.

SCHULTES & BARTEL sehen in dieser Flexibilität der RNA und dem von ihnen demonstrierten Schnittpunkt von Ribozym-Netzwerken einen Hinweis darauf, daß RNA ein attraktives Biopolymer für die Entstehung neuer funktioneller Faltungen in der ersten Evolutionsphase darstellt.

Bewertung. Diese Experimente demonstrieren sehr eindrucksvoll das vermutlich noch lange nicht ausgeschöpfte Potential von Nukleinsäuresystemen. Solche faszinierenden Erkenntnisse können allerdings nicht darüber hinwegtäuschen, daß bevor Ribozyme im Zusammenhang mit Modellen zur Lebensentstehung wirksam werden können, diese bzw. weniger komplex strukturierte Analoga zuvor synthetisiert werden müssen. Bis heute liegt kein plausibles, durch Experimente gestütztes Konzept für eine Synthese unter unspezifischen, präbiotischen Bedingungen vor. In den von SCHULTES & BARTEL beschriebenen Experimenten ist für die Etablierung und Selektion der geeigneten Ribozyme umfangreiches Vorwissen und ein System mit fein abgestimmten Randbedingungen vonnöten. Die Autoren machen keine Aussagen darüber, wie Aktivitätstests, die Bewertung der Resultate und deren Umsetzung in der Selektion in einer präbiotischen Situation funktioniert haben sollen. Es bleiben also bei aller Faszination viele entscheidende Fragen offen.

Harald Binder

Literatur

- FONTANA W & SCHUSTER P (1998) Continuity in Evolution: On the nature of transitions. *Science*, 280, 1451-1455. (s. auch dort zitierte Literatur)
- PRUSINER SB (1997) Prion diseases and the BSE crisis. *Science* 278, 245-251.
- SCHULTES EA & BARTEL DP (2000) One sequence, two ribozymes: implications for the emergence of new ribozyme folds. *Science* 289, 448-452. (s. auch den einführenden Kommentar: JOYCE GF (2000) Ribozyme evolution at the crossroads. *Science* 289, 401-402.)