

artigen Auf-und-ab-Bewegung auch eine Bewegungsrichtung nach vorne und hinten zuließ. Daraufhin rekonstruierte GOMANI (1997) die Kiefermuskulatur von *Malawisuchus* derart, daß die Autorin auf ein Beutespektrum aus Insekten, Amphibien und Schnecken folgte.

Weiterhin weist der schlanke Bau der Extremitäten laut GOMANI (1997) auf eine rein terrestrische (landlebende) Lebensart hin, also entgegen vieler heutiger amphibisch lebender Krokodile.

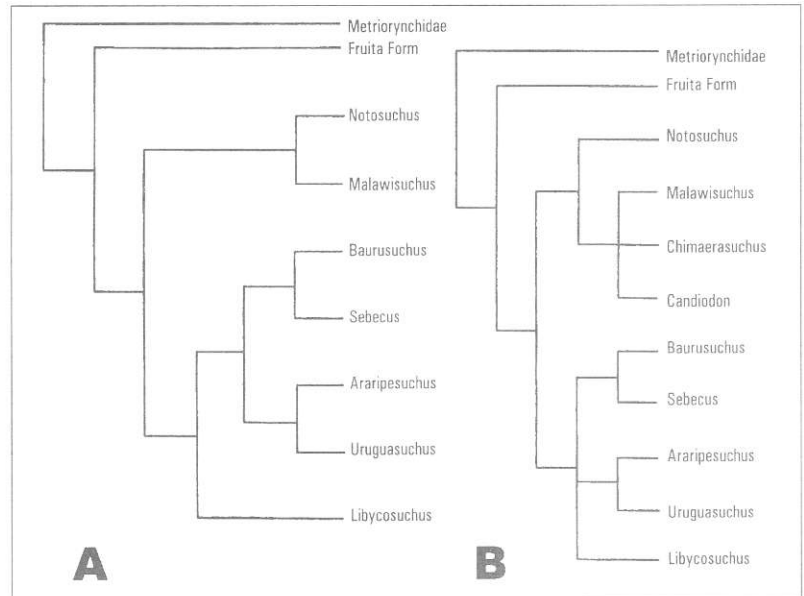
Eine besondere Annahme lieferte GOMANI (1997) mit der Vorstellung, daß *Malawisuchus* eine grabende Lebensweise besessen haben soll. Hinweise dafür sah sie im Bau der Hals- und Schädelregion, welche die Rekonstruktion einer kräftigen Halsmuskulatur zuließ. Außerdem sollen die sedimentären Strukturen der Fundschicht und die Lage der Fossil Exemplare verschüttete Grabgänge belegen. Damit wäre *Malawisuchus* eine kleinwüchsige, kurzschnauzige Krokodilform, die vorwiegend mit dem Kopf vorwärts grabend in der Nähe von Flussläufen lebte. Die Argumentation scheint auf den ersten Blick schlüssig, doch müssen die Ergebnisse durch zukünftige detailliertere Untersuchungen zur Biomechanik dieser Krokodil-Konstruktion noch abgesichert werden.

Malawisuchus erweist sich morphologisch einer anderen fossilen Reptil-Gruppe sehr ähnlich – der säugetierähnlichen Reptilien oder Therapsiden. Mit dem erdgeschichtlich älteren *Thrinaxodon*, einem postulierten Vorläuferstadium der Säugetiere, gibt es einige oberflächliche Gemeinsamkeiten, wie z.B. die Gebißspezialisierung, die geringe Körpergröße und die kurze Schnauze (Abb. 2). Vielleicht weist dies jedoch nur auf eine übereinstimmende Lebensweise hin, die sich in der Morphologie manifestierte, ohne einen Hinweis auf stammesgeschichtliche Zusammenhänge zu liefern.

Wie ist aber zu erklären, daß in einer Krokodilfamilie wie den Notosuchiden, die gemeinhin als ein Zweig der „primitiven“ Vorkrokodile betrachtet wird (BENTON & CLARK 1988, CLARK 1994) so spezialisierte und – nach der Argumentation der Kladisten – fortschrittliche Formen entstanden sind? Die von CLARK et al. 1989, WU et al. 1995 und GOMANI 1997 angefertigten kladistischen Analysen zum Aufzeigen von „Verwandtschaften“ zwischen *Malawisuchus* und ähnlichen Krokodilen verwirren in dieser Hinsicht angesichts der Vielzahl an vorgestellten „Stammbäumen“ (Kladogrammen) nur (Abb. 3). Leider wird methodisch auch in diesen wichtigen Arbeiten der Schwerpunkt auf die phylogenetisch-systematische Interpretation gelegt, wobei stets das Ziel war, Verwandtschaftsbeziehungen zu ermitteln. Nach HERKNER (1999) und ROSSMANN (in Vorbereitung) ist diese Interpretation methodisch stark zu hinterfragen. Die Frage nach den Zusammenhängen zwischen den verschiedenen Krokodiltypen der Kreidezeit bleibt letztlich ungeklärt, wie auch der Grund nach dem offen-

Kladismus: Eine Methode, die aufgrund einer Merkmalsanalyse und einer anschließenden Wertung der Merkmale in „ursprünglich“ und „abgeleitet“ die stammesgeschichtliche Position des untersuchten Naturgegenstandes im System der Organismen herausfinden möchte. Gemein-

hin wird dies mit dem Verwandtschaftsbegriff in Zusammenhang gebracht. Grundannahme ist die Vorstellung, daß sich aus einer Ursprungsart zwei Folgearten entwickeln. Hierbei kann die Ursprungsart aussterben, muß aber nicht.



sichtlichen Verschwinden dieser interessanten Gruppe zum Ende der Unteren Kreide hin.

Torsten Rossmann

Literatur

- BENTON MJ & CLARK JM (1988) Archosaur phylogeny and relationships of the Crocodylia. In: BENTON MJ (ed.) The phylogeny and classification of tetrapods. Vol. 1, pp. 295-338; Oxford (Clarendon Press).
- CARROLL RL (1988) Vertebrate Paleontology and evolution. 698 S.; New York (Freeman & Co.).
- CLARK JM (1994) Patterns of evolution in Mesozoic Crocodyliformes. In: FRASER NC & SUES H-D (eds) In the shadow of the dinosaurs: Early Mesozoic tetrapods, pp. 84-97, Cambridge (Cambridge Univ. Press).
- CLARK JM, JACOBS LL & DOWN WR (1989) Mammal-like dentition in a Mesozoic crocodylian. Science 244, 1064-1066.
- GOMANI EM (1997) A crocodyliform from the Early Cretaceous Dinosaur Beds, Northern Malawi. J. Vert. Paleont. 17, 280-294.
- HERKNER B (1999) Über die evolutionäre Entstehung des tetrapoden Lokomotionsapparates der Landwirbeltiere. Ein konstruktionsmorphologisches Transformationsmodell auf evolutionstheoretischer Grundlage. Carolina, Beih. 13, 1-353.
- ROSSMANN T (in Vorbereitung) Grundprobleme der Taxonomie, Systematik und Phylogenie aus der Sicht eines paläontologisch arbeitenden Biologen. Studium Integrale Journal 7.

Abb. 3: Zwei kladistische Ordnungsschemata (A, B) zur Einordnung von *Malawisuchus* nach Ähnlichkeiten und Un-Ähnlichkeiten. Gemeinhin verstehen Anwender diese phylogenetisch-systematische (kladistische) Methode als Schlüssel, natürliche Verwandtschaften zwischen Tierarten oder -gruppen feststellen zu können, was de facto nicht möglich ist (ROSSMANN in Vorbereitung). (Verändert nach GOMANI 1997)

TRUTNAU L (1994) Krokodile: Alligatoren, Kaimane, echte Krokodile und Gaviale. 270 S.; Magdeburg (Westarp Wiss.).
WETTSTEIN O von (1937) Crocodilia. In: KÜKENTHAL W & KRUMBACH T (Hrsg.) Handbuch der Zoologie; Sauropsi-

da. 7 (1. Hälfte), 3. Lieferung, pp. 236-320; Berlin.
WU XC, SUES H-D & SUN A (1995) A plant-eating crocodyli-form reptile from the Cretaceous of China. *Nature* 376, 678-680.

Konstitution von Nucleinsäuren: Hinweise auf funktionelle Optimierung

Zu den bedeutsamsten Makromolekülen in lebenden Zellen gehören die Nucleinsäuren (DNA und RNA). Sie sind Träger der Erbinformation und bilden lange Ketten, die aus einem Zucker, einer Phosphorgruppe und aus vier verschiedenen Stickstoffbasen zusammengesetzt sind (Abb. 1).

In den letzten Jahren wurden eine Reihe derivatisierter bzw. nicht-natürlicher Nucleinsäure-Analoga synthetisiert und getestet. Zweck dieser Synthesen war die Erprobung ihres Einsatzes in der Therapie von Krankheiten.¹

Diese Modifikationen umfassen u. a.:

- Veränderung der Internucleosidbrücken: Phosphodiester → Methylphosphonate, Phosphoramidate, Phosphorothioate, Hydroxylamine;
- Veränderung der Zuckerkomponenten: Ribo-

se → diverse Hexo- bzw. Pentopyranosen; 3'-5'-carbocyclisch verbrückte Derivate der 2'-Deoxyribose (STEFFENS & LEUMANN 1997);

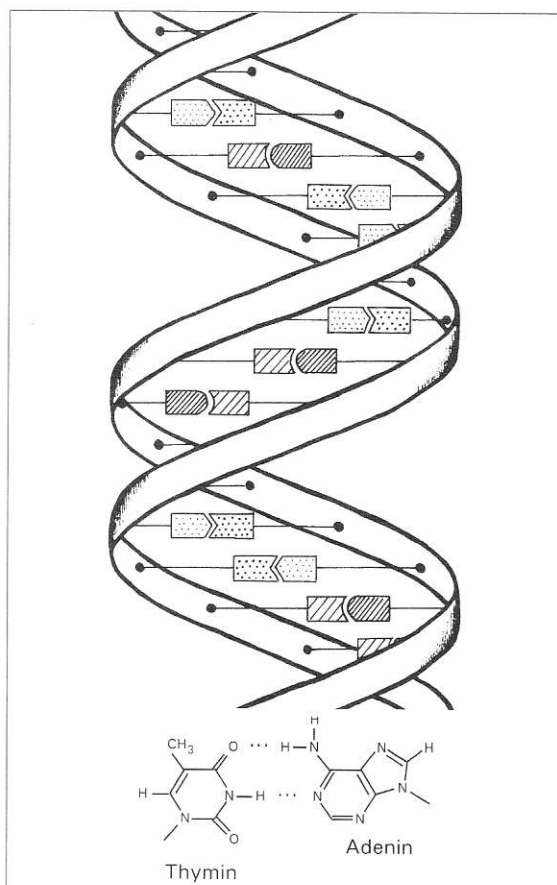
• Austausch des Strangrückgrats: Polyesterketten auf Basis von Zucker-Phosphat-Einheiten → Carboxamidketten auf Basis von Aminosäurederivaten wie N-(2-Aminoethyl)-glycin-Einheiten. (Zur Orientierung s. Abb. 3)

Damit erfolgt ein kompletter Wechsel der zugrundeliegenden präparativen Arbeiten weg von Nucleosidchemie und hin zu Peptidchemie.²

In diesem Beitrag soll der Frage nachgegangen werden, ob und ggf. inwiefern die künstlich hergestellten Nucleinsäuren den natürlich vorkommenden überlegen sind. Dazu wird zunächst dargestellt, welche Umbauten an der natürlichen DNA bzw. RNA vorgenommen werden und in welcher Weise sich deren chemische Eigenschaften verändern. Diese Änderungen werden anschließend daraufhin bewertet, ob sie im Zellbetrieb gegenüber den natürlichen Nucleinsäuren vorteilhaft wären.

PNA-Chemie. Im Falle des Austausches des Strangrückgrats handelt es sich um nicht-natürliche Peptid- oder Polyamid-Nucleinsäuren (PNA), deren Nucleobasen-tragendes Peptid-Rückgrat jedoch strukturell dem Nucleobasen-tragenden Zucker-Phosphat-Rückgrat natürlicher Polynucleotide ähnlich sein muß (NIELSEN et al. 1991; EGHOLM et al. 1993). Der Strukturvergleich zwischen beiden Nucleinsäure-Arten ist in Abb. 2 dargestellt. Es konnte gezeigt werden, daß PNA:DNA- und PNA:RNA-Wechselwirkungen auf der H-Brücken-vermittelten Basenpaarung nach Watson-Crick beruhen (A::T; G::C). CD-Spektren (CD = Circular-Dichroismus = Drehung der Schwingungsebene von eingestrahltm polarisiertem Licht durch optisch aktive Makromoleküle von planar zu zirkulär oder elliptisch) weisen auf ähnliche Paarungsstrukturen bei antiparalleler Basenpaarung hin. Während die Geschwindigkeit für PNA:DNA-Hybridisierungen (Doppelstrangbildungen) der von reinen DNA:DNA-Hybridisierungen vergleichbar ist (ca. $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$), ist die Stabilität von PNA:DNA- bzw. PNA:RNA-Hybriden (Doppelstränge) größer als die korrespondierender

Abb. 1: Schematisierter Ausschnitt aus der Doppelhelix der DNA (oben). Die vier Stickstoffbasen sind durch vier verschiedene Kastensymbole dargestellt. Je zwei sind durch Wasserstoffbrücken verbunden (unten für Thymin und Adenin gezeigt: Punktierung) und bilden eine Sprosse der „DNA-Leiter“. Das Strangrückgrat (abwechselnd aus einem Zucker und einer Phosphorgruppe bestehend) ist bandförmig dargestellt. Der Zucker wird durch Punkte am Strangrückgrat symbolisiert, dazwischen sind die Phosphorgruppen zu denken. Diese Teile wurden experimentell durch andere Verbindungen ersetzt und die chemischen Eigenschaften der Produkte mit natürlicher DNA verglichen.



DNA:DNA- bzw. DNA:RNA-Hybride (EGHOLM et al. 1993). Dies belegen Schmelzpunktbestimmungen (T_m) mit verschiedenen Oligomeren (T_m = melting temperature, Schmelzpunkt = die Temperatur, bei der 50% der Hybride in Einzelstränge dissoziiert sind). Dabei wird die Absorptionsänderung bei 260 nm in Abhängigkeit von der Temperatur gemessen. So lauten die experimentell bei pH 7 und 0,11 M $\text{Na}^{(+)}$ -Ionen ermittelten Daten für die komplementär-antiparallele Hybridi-sierung des 15-mers TGTACGTCACAATA (Orientierung: PNA = $\text{N} \rightarrow \text{C}$, entspricht DNA/RNA = $5' \rightarrow 3'$) mit dem korrespondierenden Gegenstrang bei 4 $\mu\text{mol/l}$ für jeweils beide Bindepartner:

- 69,5 °C (PNA:DNA),
- 72,3 °C (PNA:RNA),
- 53,3 °C (DNA:DNA) und
- 50,6 °C (DNA:RNA).

Je höher der Schmelzpunkt T_m liegt, desto stabiler ist der Doppelstrang.

Für die 10-mer-Oligonucleotide GTAGATCACT bzw. AGTGATCTAC (die PNA endet hier C-terminal mit einem Lysinamid) wurden für die komplementär-antiparallele Doppelstrangbildung mit dem jeweiligen Gegenstrang folgende T_m -Werte ermittelt:

- 51,0 bzw. 49,0 °C (PNA:DNA) und
- 33,5 bzw. 33,5 °C (DNA:DNA).

Andererseits ist aber die Abnahme an Stabilität der Hybride (Doppelstränge) im Falle von Fehlpaarungen in der Oligomer-Sequenz, erkennbar am Absinken der Schmelztemperatur T_m , bei PNA:DNA-Hybriden stärker ausgeprägt als bei DNA:DNA-Hybriden, d.h. die Unterscheidungsmöglichkeit zwischen korrekten und fehlerhaften Basenpaarungen (Diskriminierungsschärfe) ist bei PNA-DNA-Hybriden besser. So sinkt z.B. T_m für das Hybrid aus TGTACGTCACAATA ($5' \rightarrow 3'$ bzw. $\text{N} \rightarrow \text{C}$) und ACATGCAGTTTGAT ($3' \rightarrow 5'$) im Falle von PNA um 10-12 °C, wenn A gegen G, C, oder T ausgetauscht wird, im Falle von DNA hingegen nur um 5-11 °C (EGHOLM et al. 1993).³

PNA-Chemie findet auch Beachtung bei Fragen zum Ursprung der genetischen Information (NIELSEN 1999), da (1) Aminosäuren in Ursuppen-Simulationsexperimenten verhältnismäßig einfach synthetisiert werden, insbesondere auch Glycin (ZUBAY 1983), die einfachste in Proteinen vorkommende Aminosäure. (2) Daraus könnte durch Polykondensation ein achirales (d.h. ohne optisch aktive Asymmetriezentren) und somit stereochemisch weniger anspruchsvolles Rückgrat entstehen. (3) Dieses weist gegenüber RNA eine erhöhte chemische Stabilität auf, und dies (4) bei hoher Affinität und Spezifität der Basenpaarung. Die präbiotische Synthese von PNA ist wie die Synthese von RNA mit offenen Fragen verbunden, auf die in diesem Beitrag jedoch nicht eingegangen wird.

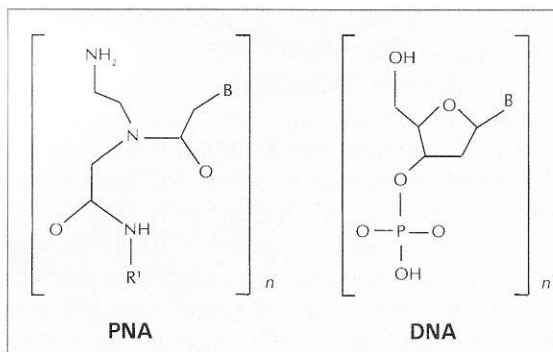


Abb. 2: Strukturvergleich von PNA und DNA (verändert nach EGHOLM et al. 1993)

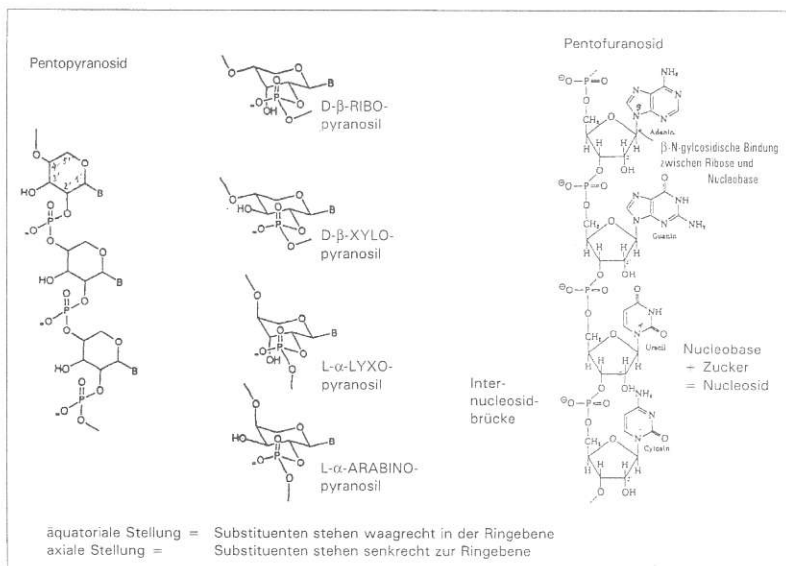
Basenpaarungsstärken bei anderen DNA-Derivaten.

Überraschenderweise findet man gegenüber RNA erhöhte Basenpaarungsstärke auch mit Derivaten, die viel näher am Naturstoff sind als PNA (STEFFENS & LEUMANN 1997; BEIER et al. 1999).

So fanden BEIER et al., daß Vertreter der Pentopyranosyl-(2'→4')-Oligonucleotidfamilie (d.h. die Pyranosyl-Isomere der RNA, in denen der offenkettige Pentosezucker nicht zu einem 5-gliedrigen [Furan-Derivat], sondern 6-gliedrigen [Pyran-Derivat] Sauerstoff-Heterocyclus kondensiert ist) eine stärkere Watson-Crick-Basenpaarung mit antiparalleler Orientierung erlauben als die natürlich vorkommenden Ribofuranosyl-(3'→5')-Oligonucleotide, d. h. RNA. Diese in Abb. 3 dargestellte Familie enthält alle Pentopyranosyl-(2'→4')-Oligonucleotide, welche die Nucleobase in äquatorialer Stellung relativ zum Pyranosering tragen; es sind dies Oligo-β-Ribo-pyranoside, Oligo-β-Xylo-pyranoside, Oligo-α-Lyx-pyranoside, und Oligo-α-Arabi-pyranoside. Alle sind stärker basenpaarend (d.h. haben eine höhere Affinität) als das natürliche Oligo-β-Ribo-furanosid. Am stärksten sind Oligo-α-Arabi-pyranoside, was mit den folgenden Strukturmerkmalen erklärt werden kann:

- stark eingeschränkte Konformationsfreiheitsgrade der Phosphodiesterbrücke, da beidseits flän-

Abb. 3: Strukturvergleich der betrachteten Pentopyranosyl-(2'→4')-Oligonucleotide untereinander und mit natürlichem D-Ribofuranosyl-(3'→5')-Oligonucleotid (verändert nach BEIER et al. 1999).



kiert durch Substituenten in äquatorialer Stellung (Nucleobase und 3'-Hydroxylgruppe),

- die Rigidität (Steifheit) des Pyranoseringes in Sesselkonformation,

- in Verbindung damit die axiale Stellung der Phosphodiesterbrücke zwischen den Nucleosiden, an den 2'- bzw. 4'-OH-Gruppen ansetzend.

All dies unterstützt eine für Basenpaarungen günstige Konformation, was wiederum deutlich wird an den experimentell ermittelten T_m -Daten (0,15 M NaCl, pH 7,0, 10 μ mol/l für die jeweils komplementären Stränge). Stellvertretend sind 2 Datensätze herausgegriffen:

Octamer-Hybrid	Pentopyranosylsystem	T_m [°C]
4'-AAAAAAA-2'	Oligo- β -Ribo-pyranosid	40,0
2'-TTTTTTT-4'	Oligo- β -Xylo-pyranosid	47,0
	Oligo- α -Lyxo-pyranosid	35,4
	Oligo- α -Arabino-pyranosid	71,1
4'-ATATATAT-2'	Oligo- β -Ribo-pyranosid	38,0
2'-TATATATA-4'	Oligo- β -Xylo-pyranosid	38,3
	Oligo- α -Lyxo-pyranosid	28,6
	Oligo- α -Arabino-pyranosid	60,0

Nun sind aber weder PNA noch Pyranosyl-RNA, noch Oligo- α -Arabino-pyranosid-Nucleotide im besonderen in der Natur zu finden, obwohl sie bezüglich bestimmter Aspekte wie Bindestärke der Basenpaarung (= Affinität) oder Erkennungsschärfe von Fehlpaarungen (= Spezifität) durchaus attraktiv erscheinen. Dies ist umso bemerkenswerter, als Aminosäuren in Ursuppen-Simulationsexperimenten synthetisiert worden sind (z. B.: Glycin 2,1% Ausbeute bezüglich des eingesetzten Kohlenstoffs), und in der für die Anlieferung von Zuckerkomponenten diskutierten sog. Formose-Reaktion (Zuckerbildung aus mehrfachen Reaktionen von Formaldehyd und Glycoaldehyd) z. B. Arabinose und Ribose mit ca. derselben Wahrscheinlichkeit gebildet werden können. Das heißt: Von hypothetischen Ursuppen ausgehend könnte man eine PNA-Chemie (oder eine nicht auf Ribose basierende RNA-Chemie) durchaus erwarten, sie ist aber nicht realisiert worden.

Schlußfolgerungen. Unter der Annahme eines komplexen Synthesegemisches („Ursuppe“) mit nachfolgender Auswahl von Bausteinen für Polymersynthesen nach funktionellen Kriterien bedeuten diese Befunde, daß *nicht die Maximierung eines bestimmten physikochemischen Kriteriums* die Triebfeder sein konnte, sondern vielmehr die *Optimierung* hin auf eine biochemische Funktion. So verlangen die biochemischen Prozesse von Informationsspeicherung und Informationsweitergabe (DNA-Replikation, DNA-Transkription in RNA) nicht eine maximale, sondern optimale Bindestärke der Basenpaarung, welche je nach Bedarf dynamische Assoziationsprozesse von Einzelsträngen

(Doppelstrangbildung) oder Dissoziationsprozesse von Doppelsträngen (Trennung) erlaubt.

Optimierungsprozesse bedingen aber eine *Zielvorgabe*, davon abgeleitete Konzepte bzw. Programme, sowie geeignete Mechanismen und Werkzeuge zur Umsetzung derselben. All dies beinhaltet *konzeptionelle Intelligenz* („Design“), und das ist das exakte Gegenteil von reinen Zufallsereignissen und Veränderungen, angestoßen durch ungerichtete energetische Schwankungen von Atomen und Molekülen.

Optimierungsprozesse bedingen eine Zielvorgabe und davon abgeleitete Konzepte bzw. Programme

Somit weist die Konstitution von Nucleinsäuren mindestens 3 Merkmale auf, die auf ein planvolles, konzeptionell sinnvolles Vorgehen deuten:

→ die *absolute Selektivität bezüglich optisch aktiver Bausteine* (hier D-(+)-Ribose), die schon Louis PASTEUR Mitte des letzten Jahrhunderts als ein untrügliches Kennzeichen belebter Natur erkannte und den Polymerketten die helikale Verwindung und damit ihre biospezifische 3D-Konformation verleiht,

→ die statistische Co-polykondensation (Kettenbildung) von 4 verschiedenen Nucleosidphosphaten zu *linearen Ketten* mit trivalenter Phosphorsäure als Internucleosidbrücke, was ohne eine ausgefeilte und optimierte Synthesestrategie zu biochemisch unbrauchbaren Netzwerken und ohne präzise Reaktionskontrolle nicht zu biologisch sinnvollen Nucleobasensequenzen führt, sowie

→ die hier angesprochene *Baustein-Auswahl nach biochemisch-molekularbiologischen Zielen*, obwohl gerade die in lebenden Zellen vorkommenden chiralen linearen Ribofuranosyl-phosphodiester-Polymere präparativ außerordentlich anspruchsvoll sind.

Diese Befunde sind eine konkrete Anfrage, ob Hypothesen über eine spontane Entstehung einfacher Bausteine und daraus abgeleiteter Makromoleküle unter dem Regime rein physiko-chemischer Gesetzmäßigkeiten geeignet sind, um Entstehung und Erhalt der komplexen, hoch effizienten und zugleich fein ausbalancierten biochemischen Prozesse lebender Organismen zu erklären.

Kurt Weindel

Anmerkungen

¹ Die Bemühungen zielen vor allem darauf ab, hochaffine Oligonucleotid-Therapeutica bereitzustellen (HÉLÈNE & TOULMÉ 1990) wie z. B. Antisense-Sonden, Genblocker, oder Triplexing-Agentien; die Affinität ist ein Maß für die Bestän-