

5-27-61, 03 a.m.:UUUUUUUUUUUUUUUU...=> Phe-Phe-Phe-Phe-Phe... TO\_Bio und TG12\_Bio



Am 27. Mai 1961 in den frühen Morgenstunden wurde die Tür aufgestoßen zur Entzifferung des genetischen Codes. Es dauerte nur wenige Jahre, um den Code dann vollständig zu knacken. Schon 1968 erhielt MARSHALL NIRENBERG und Kollegen hierfür den Nobelpreis für Physiologie und Medizin. Den ersten Versuch im Mai 1961 führte ein deutscher Kollege NIRENBERGS durch, HEINRICH MATTHAEI: Das Poly-U-Experiment und der Code des Lebens.

27-Q incub. 5-27-61, 3 a.m. for 60' at 36°, 10% O<sub>2</sub>. (see p. 78)

#	System	Special treatment	min for 10, 240 ct.	CPM (± 6σ)
1	Complete with 4 Phe, 78 3 27.15.30 15.1 20.15 - Phe.		640	50.53
2	25.2 Phe-C <sup>14</sup> 10.2 N <sup>15</sup> 2M		640	48.69
3		+ 10μ Poly-U	500	2.69

Abb. 1: Der original-Auszug des entscheidenden Experiments (27-Q) aus dem Laborjournal von MATTHAEI: Man achte auf die erste Zeile und das „Poly-U“. PD

1. Der Stand des Wissens und die Problemstellung

Im Jahr 1961 wusste man, dass die Proteinbiosynthese an den **Ribosomen** abläuft. Es war allerdings nicht mal bekannt, ob DNA oder RNA dort als Matrize für die Synthese genutzt wurde. Durch Analyse der DNA und RNA wusste man jedoch, dass die genetischen Alphabete von DNA und auch von RNA in jedem Fall nur 4 Basen (≙ „Buchstaben“) kennen. Die Code musste so gestaltet sein, dass eine bestimmte Basenabfolge (≙ „Wort“), fachsprachlich auch **Codon** genannt, eindeutig für eine bestimmte Aminosäure steht. Es musste also mindestens

20 „Worte“ (Codons) geben, denn Proteine bestehen aus mindestens 20 verschiedenen Aminosäuren. Über die „Wortlänge“ (**Codonlänge**), also wie viel aufeinander folgende „Buchstaben“ (Basen) für eine Aminosäure stehen, konnte nur spekuliert werden:

1. Wie viel Aminosäuren lassen sich theoretisch durch eine Codonlänge von..... a) einer, b) .....von zwei, c) ..... von drei und d) ..... von vier Basen codieren?

2. Proteinsynthese im zellfreien System: Das Poly-U-Experiment

Im Jahr 1961 konnte man schon RNA-Nucleotide (Phosphat-Ribose-Nucleinbase-Baueinheit) im Reagenzglas zu einem RNA-Strang verknüpfen lassen. Da aber eine gezielte Synthese mit festgelegter Basenabfolge nicht möglich war nutzte man zu Beginn dabei nur einzelne Ribonucleotid-Sorten. Die synthetisierte RNA enthielt also nur einen Buchstaben, z.B. **UUUUUUUU... (Poly-U)**.

jeweils eine andere der Aminosäuresorten radioaktiv markiert.

Die experimentelle Proteinsynthese erfolgte in einem **zellfreien System**, also **in vitro**. MATTHAEI und NIRENBERG nutzten Extrakte von Bakterien, die Ribosomen und alle Enzyme enthielten, aber deren Bakterien-DNA und Bakterien-RNA zerstört wurde. Solche Extrakte mischte man in den Reagenzgläsern einer **Versuchsreihe** mit synthetischer **Poly-U-RNA** und einem Gemisch aller zwanzig proteino-genen Aminosäuren. Von Ansatz zu Ansatz war dabei

Nachdem einer Einwirkzeit, z.B. 60 Minuten (vgl. *Laborjournal oben*), wurde das Gemisch jeden Ansatzes auf einen Filter gegeben, der größere Moleküle und Partikel zurückhielt: Ribosomen, RNA, Enzyme und eventuell neu entstandene Proteine. Die kleinen freien Aminosäuren konnten den Filter passieren. Es wurde dann jeweils untersucht, ob sich die im Ansatz verwendete radioaktive Aminosäuresorte im Filtrat befand oder auf dem Filter zurückgehalten wurde, weil sie etwa in ein Protein eingebaut wurde. In neunzehn der zwanzig Ansätze wurde die Radioaktivität im Filtrat detektiert; konnte also den Filter passieren. Nur im Ansatz mit dem radioaktivem Phenylalanin, fand sich die Radioaktivität auf dem Filter.

2. Welche Schlussfolgerungen konnte man daraus ziehen? Kreuzen Sie alle eindeutigen Schlussfolgerungen an:

<input type="checkbox"/> U codiert für Phenylalanin	<input type="checkbox"/> (U) <sub>x</sub> codiert für Phenylalanin. x ist unbekannt	<input type="checkbox"/> RNA dient als Matrize der Proteinbiosynthese
<input type="checkbox"/> UU codiert für Phenylalanin	<input type="checkbox"/> UUU codiert für Phenylalanin	<input type="checkbox"/> DNA dient als Matrize der Proteinbiosynthese

Mit der gleichen Methode konnte Poly-A dem Lysin (Lys) und Poly-C Prolin (Pro) zugeordnet werden.

**Folgeexperimente mit gemischten Basensequenzen**

In einem weiteren Versuch wurde synthetische RNA hergestellt, die 2 Basensorten in Zufallsabfolge enthielt. Mischt man bei der RNA-Synthese die Ribonucleotide U und C im Verhältnis 2:1, fand sich dieses Verhältnis auch in der Basensequenz. Beispiel:

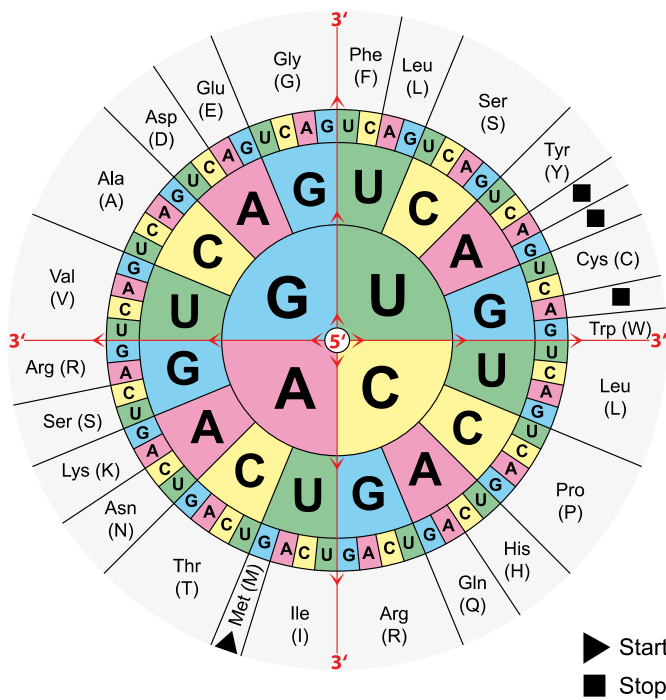
CUUCUUCUCCUUCUUCUUCUUUCUCUUCUU.

Die dazugehörigen Proteine bestanden aus den vier Aminosäuren Phe (Phenylalanin), Pro (Prolin), Ser (Serin) und Leucin (Leu).

3. Deutet das Ergebnis auf Basendoublets (2 Basen) und/oder auf Basetriplets (3 Basen) als Codonlänge hin?

Genauere Erkenntnisse, welches Codon für welche Aminosäure steht, erhielt man, indem man die RNA-Formen mit Enzymen in kleinere Bruchstücke spaltete und anschließend isolierte. Man erkannte, dass Nucleotid-Doublets nicht in der Lage waren, radioaktiv markierte Aminosäuren an die Ribosomen zu lagern. Nucleotid-Triplets waren dazu in der Lage. So konnte dem Codon UCU zum Beispiel die Aminosäure Serin (Ser) zugeordnet werden. Die Entzifferung des gesamten Codes war im Jahr 1966 abgeschlossen.

3. Der genetische Code



**Die Universalität des genetischen Codes**

Bemerkenswert ist, dass der genetische Code für alle Lebewesen gleich ist, alle Lebewesen sich also der gleichen *genetischen Sprache* bedienen. Bis auf wenige Ausnahmen steht ein bestimmtes Codon jeweils immer für dieselbe Aminosäure. Daher ist es möglich, in der Gentechnik z. B. das Gen für menschliches Insulin in Bakterien einzuschleusen, damit diese dann das Hormonprotein Insulin produzieren. Kleine Variationen in wenigen Details, die einzelne Triplets betreffen finden sich häufig bei niederen Lebensformen und bei Bakterien. Auch die Mitochondrien-mRNA und Plastiden-mRNA unterscheiden sich geringfügig. Der genetische Code muss also ziemlich früh in der Evolution entstanden sein. Ein sehr wichtiges Indiz für die Verwandtschaft aller Lebewesen und die moderne Evolutionstheorie.

Abb. 2: Der genetische Code in Form der Codesonne (Quelle: commons.wikimedia. Auot: Mouagip)

- 4. Der genetische Code wird manchmal als „degeneriert“ bezeichnet. Ihm wird deshalb aber auch eine gewisse Fehlertoleranz zugesprochen. Was ist damit gemeint?
- 5. Die erste Aminosäure frisch synthetisierter Aminosäuren ist stets Methionin. Beispiel: Met - Lys - Ala- Gly - Ala - Phe - ..... Begründen Sie!

Zum Weiterlesen



- DER SPIEGEL 1/2012: „Des ganzen Wirklichkeit“. Biographie und Porträt von HEINRICH MATTHAEI. <http://magazin.spiegel.de/EpubDelivery/spiegel/pdf/83422554>
- Youtube-Video mit Nirenberg über die Experimente (ab 6.37 Min): <https://youtu.be/fODwXbtysqQ?t=397>

