

## 50 Jahre DNA-Doppelhelix und Miller-Experiment

*Das Thema Replikation verbindet Molekularbiologie und präbiotische Chemie. Die Suche nach den chemischen Wurzeln dieser Verbindung liefert eine Reihe von plausiblen Modellen, aber noch keine endgültigen Lösungen für Darwins Welträtzel. Eine Zukunftsperspektive ist die Zusammenführung von Replikation und Nanotechnologie – die in der DNA codierten Informationen sichern nicht nur die getreue Wiedergabe des Erbmaterials, sondern machen im Kontext der supramolekularen Chemie auch Komplexität bezahlbar.*

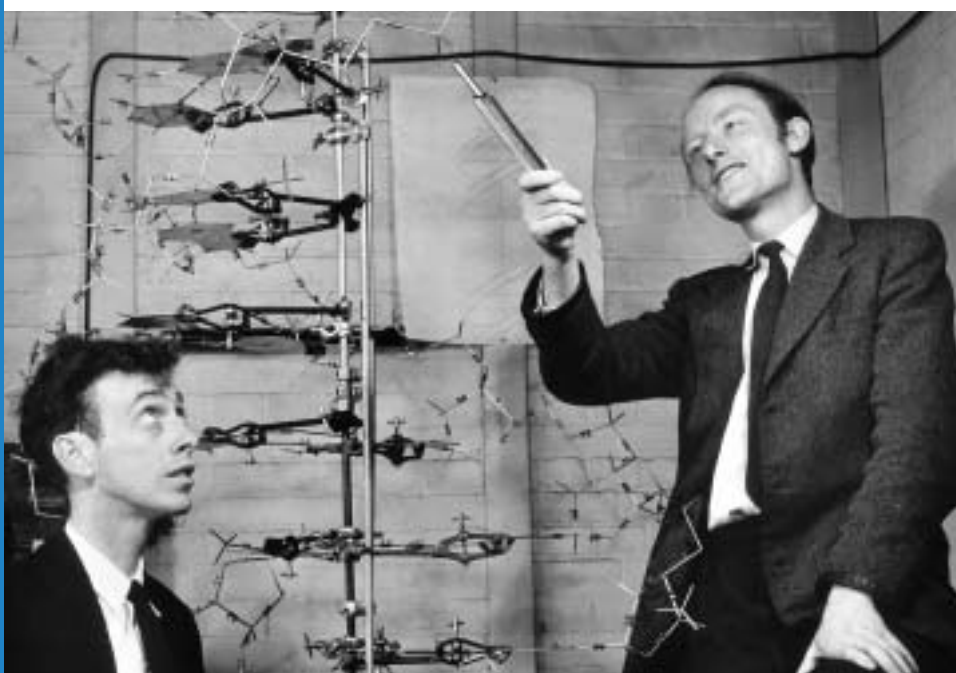


Abb. 1. Watson (links) und Crick an einem Modell der DNA-Doppelhelix, wie sie es in den 50er Jahren verwendeten.

(Photo: SPL/Agentur Focus)

◆ Im Jahr der Chemie feiern wir den 50. Geburtstag zweier Entdeckungen, die heute in fast jedem Lehrbuch der Molekularbiologie stehen. Es waren aber auch Chemiker, die zur Beantwortung der Frage „Wie funktioniert Leben?“ wichtige Beiträge geleistet haben. Bei der Frage „Wie entstand Leben?“ steht die Chemie zwar vor einer ihr nicht zugänglichen historischen Dimension,

trägt aber dazu bei, die Plausibilität möglicher Szenarien der Lebensentstehung auszuloten. Darüber hinaus gelingt es der Chemie, elementare Prinzipien des Lebens, wie das der Selbstreplikation, in einen artifiziellen Kontext zu setzen. Letzteres gilt auch für das Erbmolekül DNA selbst. So lassen sich zum Beispiel künstlich verzweigte DNA-Moleküle als Bausteine für eine nichtkovalen-

te, programmierte Synthese dreidimensional definierter Molekülgerüste einsetzen. Diese Gerüste könnten in Zukunft zur Erzeugung hochkomplexer Multifunktionsmaterialien führen, deren Replikation eine pragmatische Annäherung an die Vision von selbstreplizierenden Nanorobotern bedeuten würde.

### Ein Puzzle wird gelöst

◆ Am Freitag den 27. Februar 1953 wartete James D. Watson ungeduldig auf Basenmodelle aus der Werkstatt des Cavendish Laboratories in Cambridge. Um sich die Zeit zu verkürzen, schnitt er die Umrisse der Nucleobasen Adenin (A), Thymin (T), Cytosin (C) und Guanin (G) aus Pappe aus und begann damit, die Teile zusammenzuschieben. Die Kombinationen A+T und G+C führten zu Paaren gleicher Größe. Nach einer schlaflosen Nacht traf er sich am Samstagmorgen mit Francis Crick, um ein Puzzle zu diskutieren, dessen Lösung sowohl das Prinzip der komplementären Basenpaarung als auch die Einsicht hervorbrachte, dass sich die Basenpaare wie die Stufen einer doppelhelikal gewundenen Leiter anordnen müssen. Ein Puzzle,

das gleichermaßen die Regeln von Erwin Chargaff zur DNA-Zusammensetzung als auch die Röntgenbeugungsaufnahmen von Rosalind Franklin und Maurice Wilkins deutete sowie Linus Paulings Hypothese einer tripelhelikalen DNA-Struktur obsolet machte. Überdies ein Puzzle, das zwanglos die Selbstreplikation des genetischen Materials erklärte.<sup>1)</sup> Am Abend des 28. Februar verkündete Crick im Eagle-Pub, Cambridge, „We have found the secret of life“. Etwas ähnlich Erfreuliches, wenngleich weniger Bedeutsames wird auch mein Vater an diesem Samstagabend verkündet haben. Denn der Zufall will es, dass ich an besagtem Freitag auf die Welt gekommen war.

### 50 Jahre Doppelhelix-Struktur: die Rolle der Synthesechemie

◆ Vielleicht ist es kein reiner Zufall, dass das Jahr der Chemie mit dem 50. Geburtstag der DNA-Doppelhelix zusammenfällt. In Anbetracht dieser Koinzidenz fragt man sich allerdings unwillkürlich, was denn DNA mit Chemie im engeren Sinne zu tun hat, steht doch die DNA-Doppelhelix primär als Ikone der modernen Biologie (Abbildung 1). Blickt man auf diese 50 Jahre zurück, so erkennt man allerdings immer wieder, dass der rasche Fortschritt in der Molekularbiologie letztlich auf der Entwicklung chemischer Werkzeuge und insbesondere der chemischen Synthese von Nucleinsäuren basiert. Nachdem Lord Alexander Todd (Nobelpreis für Chemie 1957)<sup>2)</sup> die Grundlagen für eine synthetische Nucleotidchemie erarbeitet hatte, gelang es Gobind Khorana in den späten 50er Jahren mit seinem Phosphodiesterverfahren, definierte Trimerblöcke und davon abgeleitete kurze repetitive DNA-Sequenzen zu synthetisieren. Ohne sie wäre die Entzifferung des genetischen Codes nicht möglich gewesen. Khoranas Kombination aus chemischen und enzymatischen Syntheseverfahren führte später sogar zur ersten Totalsynthese eines funktionsfähigen Gens. Khorana, der ursprünglich

aus der organischen Chemie kam, wurde für seinen synthetischen Beitrag bei der Aufklärung des genetischen Codes 1968 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet<sup>3)</sup> (zusammen mit Robert W. Holley und Marshall W. Nirenberg). Heute hat Khoranas Phosphodiesterverfahren allerdings nur noch historischen Wert. Meilensteine in der Weiterentwicklung der chemischen Synthese von DNA und RNA sind das Phosphotriesterverfahren,<sup>4)</sup> das Chlorphosphitverfahren und die Entwicklung einer DNA-Festphasensynthese durch Robert Letsinger,<sup>5)</sup> die Einführung der heute allgemein gebräuchlichen Phosphoramiditbausteine durch Marvin H. Caruthers,<sup>6)</sup> sowie die von Steven Fodor Anfang der 90er Jahre beschriebene photolithographische Parallelsynthese von Oligonucleotidarrays (DNA-Chips).<sup>7)</sup>

Der riesige Bedarf für Oligonucleotide in Biologie und Medizin wird heute durch zahlreiche mittelständische Biotechnologieunternehmen gedeckt. Er rührt in erster Linie auf einer Reihe von Erfindungen mit genuin chemischen Charakter her. Fred Sanger aus Cambridge, der 1958 für die Aufklärung der Insulinstruktur mit dem Chemie-Nobelpreis ausgezeichnet worden war,



entwickelte das nach ihm benannte Verfahren zur Sequenzierung von DNA. Es basiert auf Oligonucleotid-Primern und synthetischen Nucleotidbausteinen (Didesoxynucleosid-Triphosphaten). Sanger erhielt dafür 1980 seinen zweiten Nobelpreis für Chemie.<sup>8)</sup> (Die andere Hälfte ging an Walter Gilbert, der ein alternatives – heute nicht mehr gebräuchliches – Sequenzierverfahren auf der Grundlage basenselektiver chemischer Reaktionen eingeführt hatte.)<sup>9)</sup> 1993 wurde der Preis für zwei weitere eminent wichtige Arbeiten verliehen, die im Kontext mit synthetischen Oligonucleotiden stehen. Kary B. Mullis hatte 1987 die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) beschrieben, das heutige Standardverfahren zur re-

Abb. 2. Miller mit seiner Umlaufapparatur zur Simulation einer „Ursuppe“; Aufnahme von 1997. (Photo: Kevin Walsh. UCSD)

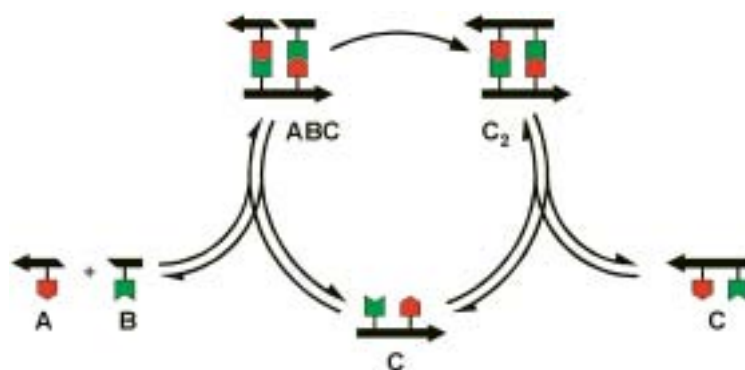


Abb. 3. Allgemeines Schema für ein selbstreplizierendes chemisches Minimalsystem. Zwei Bausteine A und B, die zur molekularen Erkennung befähigt sind, reagieren zu einem selbstkomplementären Templat C. Es handelt sich um eine templatgesteuerte Autokatalyse, da das Reaktionsprodukt C seine Bausteine zu einem termolekularen Komplex ABC zusammenführt. In diesem Komplex sind die reaktionsbeteiligten Enden der Bausteine unmittelbar benachbart, was ihre chemische Verknüpfung erleichtert. Infolge seiner geringeren Molekularität ist der Produktduplex C<sub>2</sub> in der Regel thermodynamisch stabiler als der termolekulare Komplex ABC, so dass Produktinhibition auftritt. Autokatalyse, die unter gleichzeitiger Produktinhibition stattfindet, liefert ein Konzentrationswachstum, das wir als parabolisch bezeichnen. Parabolisches Wachstum ist weniger „explosiv“ als exponentielles, aber „explosiver“ als lineares Wachstum.

plikativen Vervielfältigung von DNA.<sup>10)</sup> Auf Michael Smith gehen Arbeiten zurück, bei denen synthetische Oligonucleotide durch rekombinante Techniken zur gezielten Mutagenese von Proteinen verwendet werden.<sup>11)</sup>

### 50 Jahre Miller-Experimente: die Entwicklung der präbiotischen Chemie

◆ Zufall ist sicherlich, dass wir im Jahr der Chemie einen weiteren bedeutsamen 50. Geburtstag feiern können, bei dem die Verbindung zur Chemie allerdings unstrittig ist. Am 15. Mai 1953 erschien in *Science* die Arbeit eines zu diesem Zeitpunkt völlig unbekanntem jungen Studenten, der im Labor von Harold C. Urey (Chemie-Nobelpreis 1934) an der University of Chicago arbeitete.<sup>12)</sup> Stanley Miller hatte nachgewie-

sen, dass Aminosäuren entstehen, wenn man in einer Umlaufapparatur die Komponenten der damals vermuteten reduzierenden Uratmosphäre unseres Planeten, Methan, Wasserstoff, Ammoniak und Wasserdampf, einer elektrischen Funkenentladung aussetzt. Millers Apparat (Abbildung 2) wurde zur Ikone der präbiotischen Chemie, einer Forschungsrichtung, die sich bemüht, die Entstehung des Lebens schrittweise im Labor nachzuvollziehen. Das programmatische Ziel war zunächst die Identifizierung präbiotisch plausibler Entstehungswege für die Bausteine unserer Biopolymere. In Millers Experiment werden durch radikalische Prozesse in der Gasphase Blausäure, Formaldehyd und weitere Aldehyde als Primärprodukte gebildet. Aminosäuren entstehen als Sekundärpro-

dukte durch Strecker-Synthese in der wässrigen Phase.

Während Aminosäuren die unmittelbaren Bausteine für Proteine sind, setzen sich die Bausteine der Nucleinsäuren aus zwei organischen Komponenten zusammen, Zuckern vom Ribosetyp und Nucleobasen vom Purin- oder Pyrimidintyp. Ein potentiell präbiotischer Entstehungsweg für Zucker ist seit längerem bekannt. Butlerow hatte um 1860 entdeckt, dass verdünnte wässrige Lösungen von Formaldehyd, einem der Primärprodukte im Miller-Experiment, in Gegenwart von Kalklauge nach einiger Zeit einen süßlichen Geschmack hervorbringen. Aber erst Decker konnte um 1980 zeigen, welche Vielfalt an Zuckern bei der Formose-Reaktion entsteht.<sup>13)</sup> Ribose ist in diesem Produktspektrum nur in Spuren nachweisbar. Heute weiß man, dass sich hinter der Formose-Reaktion ein komplexes autokatalytisches Reaktionsnetz verbirgt, dessen „Steuerung“ interessante Perspektiven eröffnet. Geoffrey Zubay konnte z. B. nachweisen, dass der Ersatz von Kalklauge oder Calciumacetat durch Magnesiumoxid, welches durch Bleiacetat dotiert wurde, in einem weitaus höheren Maße Ribose entstehen lässt.<sup>14)</sup>

Nach präbiotischen Entstehungsweisen für Nucleobasen suchte man bereits in den 50er Jahren. 1961 zeigte Juan Oro in einem aufsehenerregenden Experiment, dass Adenin durch – wie Albert Eschenmoser später treffend formulierte – Selbstkonstituierung aus Blausäure entsteht.<sup>15,16)</sup> Aus Adenin und einfachen Ribosederivaten ließ sich später durch simples Eindampfen in Gegenwart von Magnesiumsalzen u. a. Adenosin erzeugen.<sup>17)</sup> Das Nucleosid Adenosin ergibt beim Eindampfen in Gegenwart von anorganischen Phosphaten und Harnstoff neben anderen Verbindungen das Nucleotid Adenosin-5'-phosphat. Nucleotide sind die eigentlichen Grundbausteine der Nucleinsäuren.

Wenngleich diese und spätere Ergebnisse der präbiotischen Chemie dazu beigetragen haben, dass

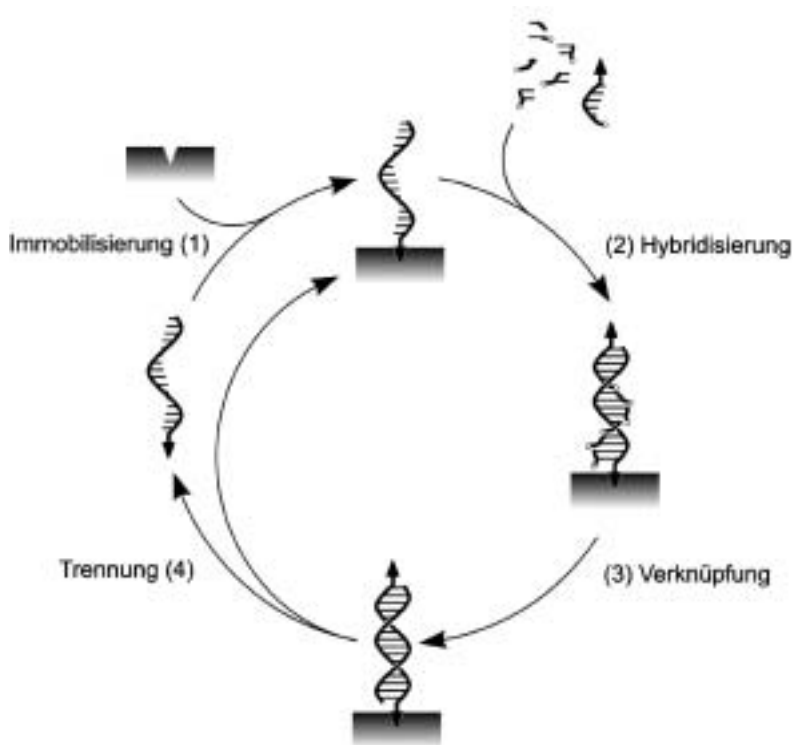


Abb. 4. Allgemeines Schema des SPREAD-Verfahrens („Surface Promoted Replication and Exponential Amplification of DNA analogues“). Ein Template wird kovalent immobilisiert (1). Das immobilisierte Template lagert Fragmente an (2), die durch chemische Reaktionen verknüpft werden (3). Unter denaturierenden Bedingungen wird die Kopie vom Original getrennt (4) und auf eine Trägeroberfläche gespült, was unter diesen Bedingungen erneut zur Immobilisierung führt (1). Aus einem Strang sind nun zwei geworden, und der Zyklus ist geschlossen. In patentierten Varianten des SPREAD-Verfahrens finden die einzelnen Schritte zwischen zwei planparallel angeordneten Elektroden statt, die zwei Permeationsschichten zugeordnet sind. Für die beiden Strangarten kommen orthogonale Immobilisierungsmethoden zum Einsatz. Der Transport der Produktstränge erfolgt durch Elektrophorese.

die Entstehung des Lebens als chemischer Evolutionsprozess vorstellbar wurde, ist man von einem kohärenten Bild des Lebensursprungs bis heute immer noch weit entfernt. Vielleicht bedarf es hier eines neuen Ansatzes, der über den hinter mehr oder minder bedeutsamen Einzelexperimenten stehenden reduktionistischen Ansatz hinausgeht.

### Replikation als Thema der präbiotischen Chemie

◆ Zwischen der Watson-Crick-Doppelhelix und Millers Apparat liegt irgendwo das Thema „Ursprung der Selbstreplikation“ in der Luft. Es ist bemerkenswert, dass dieses Thema bereits drei Jahre nach der Entdeckung der Doppelhelix als Perspektive einer zukünftigen organischen Chemie gesehen wurde. Der eingangs erwähnte Lord Alexander Todd schrieb 1956: „The use of one molecule as a template to guide and facilitate the synthesis of another ... has not hitherto been attempted in laboratory synthesis, although it seems probable that it is common in living systems. It represents a challenge which must, and surely can, be met by organic chemistry.“<sup>19)</sup>

Im gleichen Jahr hatte Crick sein zentrales Dogma aufgestellt, nach dem die Information in der DNA über damals noch nicht bekannte Mechanismen in Proteine übersetzt wird. Crick erkannte aber, dass an diesem Übersetzungsprozess mindestens zwei Arten von RNA-Molekülen beteiligt sein mussten.<sup>20)</sup> Die von Crick postulierten Adaptormoleküle wurden wenig später von Paul Zamecnik und Mahlon Hoagland entdeckt und als Transfer-RNA beschrieben.<sup>21)</sup> 1961 folgte der zweite Typ, der nach seiner Entdeckung durch Sidney Brenner (Medizin-Nobelpreis 2002) als Messenger-RNA bezeichnet wurde.<sup>22)</sup> Diese Zwischenstellung von RNA zwischen DNA und Proteinen deutete auf etwas Ursprüngliches hin. Vermutlich war der Übersetzungsprozess eine späte Erfindung der Evolution. Wenn es eine Evolution aber bereits vor der instruierten Synthese von

Proteinen gegeben hatte, dann musste in RNA nicht nur das Potential von DNA zur Weitergabe von Erbinformation stecken, sondern auch das katalytische Potential von Proteinen. Es blieb Tom Cech und Sidney Altman (Chemie-Nobelpreis 1989) vorbehalten, dieses katalytische Potential der RNA zwei Jahrzehnte später zu entdecken.<sup>23,24)</sup> Vor allem die von Cech beschriebenen Selbstpleißungsreaktionen, die Umesterungen am Phosphodiester-Rückgrat der RNA beinhalten, waren ein direktes Indiz dafür, dass es eine „RNA-Welt“ (der Begriff wurde Mitte der 80er Jahre von Walter Gilbert geprägt) gegeben haben muss, in der RNA in Abwesenheit von Proteinen die eigene Replikation katalysierte.

Das Postulat einer primordialen enzymfreien Selbstreplikation von Nucleinsäuren existierte indessen in den Köpfen der beteiligten Wissenschaftler schon lange Zeit zuvor. An Ursprungsfragen war man nämlich bereits im „RNA tie club“ interessiert, der 1954 von George Gamow, dem Vater der Urknallhypothese, gegründet worden war. Gamow war von der Doppelhelix fasziniert und hatte eine Idee, wie sich das genetische 4-Buchstaben-Alphabet mit einem Triplett-Code auf die 20 Aminosäuren abbilden ließ. Die Clubmitglieder, von denen es genau 24 gab (20 reguläre Mitglieder für die 20 Aminosäuren sowie 4 Ehrenmitglieder für die 4 Basen), trugen Wollkrawatten, in denen die Watson-Crick-Doppelhelix als Emblem eingestrickt war. Zu ihnen gehörte neben Watson und Crick auch Leslie Orgel, der als Mitarbeiter von Longuet-Higgins an der Entwicklung der Ligandenfeldtheorie beteiligt war und mit seinen „Orgel-Diagrammen“ frühe wissenschaftliche Anerkennung erlangt hatte. Auf die Diskussionen innerhalb des „RNA tie clubs“ ist es zurückzuführen, dass Leslie Orgel auf seinen Sprung aus der theoretischen anorganischen Chemie in die präbiotische Chemie vorbereitet wurde.

1962 konnte Gerhard Schramm aus Tübingen erstmalig nachweisen,



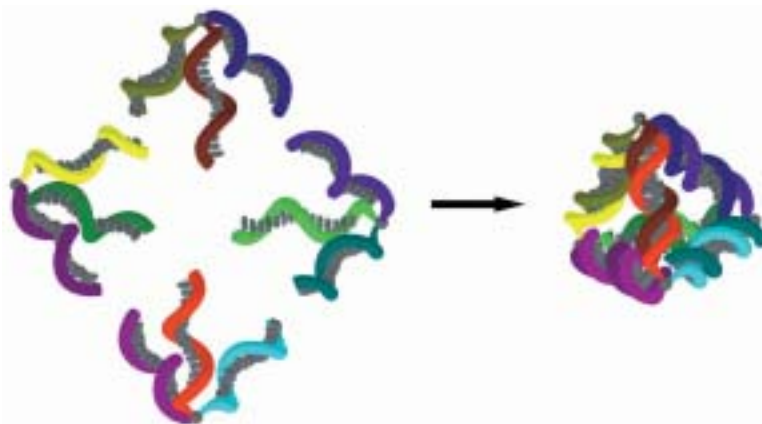


Abb. 5. Sequenzadressiertes, d.h. programmiertes Self-Assembly eines tetraedrischen Nanogerüsts. Ausgangsbausteine sind synthetische 3'-Trisilgonucleotide, d. h. Verbindungen, bei denen die 3'-Strangenden dreier Oligonucleotidsequenzen durch ein Linkerkonstrukt (kleine Kugel) verknüpft sind. Durch Paarung komplementärer Sequenzen entstehen nicht-kovalente „Bindungen“, die die Kanten des Tetraeders definieren. Komplementäre Sequenzen sind in gleicher Farbe, aber unterschiedlicher Farbsättigung wiedergegeben.

dass es die von Todd postulierten Matrizenwirkungen in nichtenzymatischen Reaktionen mit RNA als Matrize tatsächlich gibt.<sup>26)</sup> Der Nachweis hatte allerdings sehr indirekten Charakter, da die Reaktionsprodukte nicht aufgeklärt wurden. Vier Jahre später beschrieben Naylor und

Gilham ein erstes Beispiel einer chemischen Ligation, d.h. einer enzymfreien, matrizen gesteuerten Verknüpfung von kurzen DNA-Stücken.<sup>27)</sup> In Gegenwart eines wasserlöslichen Carbodiimides gelang es, zwei Moleküle Hexathymidylsäure-5'-phosphat zu Dodekathymidyl-

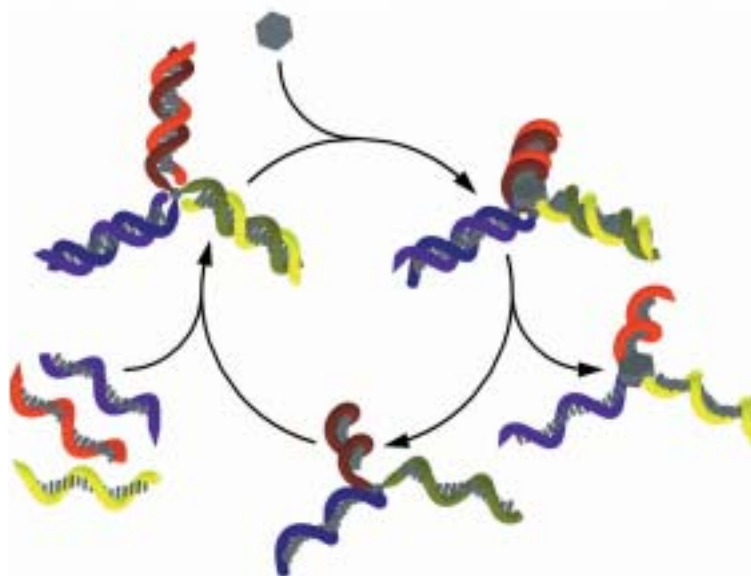


Abb. 6. Chemisches Kopieren von Konnektivitätsinformation (CCC) als Basis für die Replikation von Nanogerüsten. Ein 3'-Trisiligo-Templat wird mit drei komplementären Sequenzen komplexiert. Ihre 5'-Enden werden im Zentrum zusammengeführt und können so mit einem geeigneten Trisilinkler (Sechseck) kovalent verknüpft werden. Nach Ablösung der Kopie (5'-Trisiligo) kann das Templat weiterverwendet werden. Eine Replikation erfordert, dass das erzeugte 5'-Trisiligo als Templat für die 3'-seitige Verknüpfung dreier Oligonucleotidstränge verwendet werden kann. Die Demonstration dieses zweiten Zyklus und eine Kopplung mit dem SPREAD-Verfahren steht noch aus.

säure-5'-phosphat zu verknüpfen, wenn als komplementäre Matrize Polyadenylsäure (Poly-(A)) anwesend war.

Zu diesem Zeitpunkt hatten Orgel und Crick gerade ihre Laboratorien am neu errichteten Salk Institute for Biological Studies in La Jolla, Kalifornien, eingerichtet. Einen Fußweg entfernt arbeitete Stanley Miller im neuen Chemiegebäude auf dem Campus der University of California at San Diego. Zwischen Miller, Orgel und Crick begann ein langwährender fruchtbarer Ideenaustausch.<sup>28,29)</sup> Mit Millers Pionierarbeiten zur präbiotischen Synthese der Lebensbausteine und Orgels Arbeiten zur enzymfreien matrizen gesteuerten Polymerisation von Ribonucleosid-5'-phosphoimidazoliden<sup>30)</sup> entwickelte sich La Jolla zu einem Attraktor für die chemische Erforschung des Lebensursprungs. Der Funke sprang später auch auf das Scripps-Institut über, das heute vieler am Ursprung der Selbstreplikation interessierten Gruppen beheimatet. Die Anwerbungen von Manfred Eigen, Albert Eschenmoser, Reza Ghadiri, Gerald Joyce und Julius Rebek sind ein Beleg dafür, dass der Name La Jolla bis heute als das weltweit wichtigste Zentrum für diese Forschungsrichtung steht.

### Autokatalyse und chemische Selbstreplikation

◆ Unser Beitrag zum Thema „chemische Selbstreplikation“ bestand im wesentlichen aus der Idee, dass man Orgels Systeme vereinfachen müsse, um zu einer autokatalytischen Templatsynthese zu gelangen. Das denkbar einfachste Reaktionsschema für ein selbstreplizierendes System war  $A+B+C \rightleftharpoons ABC \rightarrow C_2 \rightleftharpoons 2C$  (Abbildung 3). Hierin ist das Templat C zwangsläufig selbstkomplementär. Papier und Bleistift reichten aus, um abzuleiten, dass das autokatalytische Wachstum wegen der Produktinhibition vermutlich nicht exponentiell, sondern – wie wir es später bezeichneten – parabolisch verlaufen würde. Ein „selbstreplizierendes

Hexadesoxynucleotid“ und spätere Systeme – auch auf der Basis kreuzkatalytischer Varianten – zeigten dann, dass die Vermutung richtig war.<sup>31)</sup> Das hinter dem Reaktionsschema stehende allgemeine Rezept für eine minimale Selbstreplikation erschien indessen einfach genug, um auch mit anderen Zutaten realisiert werden zu können. Dennoch machte jeder, der in dieses Thema einstieg, die Erfahrung, dass seine Umsetzung, die kinetische Analyse und mechanistische Interpretation solcher Systeme keineswegs trivial ist. Mit „A self-replicating system“ von Julius Rebek wurden kleine organische Replikatoren Anfang der 90er Jahre zum Gegenstand der supramolekularen Chemie.<sup>32)</sup> Rebeks Interpretation der Autokatalyse als Templateffekt blieb indessen nur kurze Zeit von Kritik verschont. Fred Menger behauptete, die beobachtete Autokatalyse sei auf die Wirkung der Amideinheit im Templat zurückzuführen.<sup>33)</sup> Beide Autoren verstrickten sich in eine wissenschaftliche Kontroverse, die in der supramolekularen Chemie als Pendant für die klassische Winstein-Brown-Kontroverse in der physikalisch-organischen Chemie steht und letztere in den Lehrbüchern irgendwann ablösen könnte. Es war David Reinhoudt, der Mitte der 90er Jahre dann zeigen konnte, dass beide Autoren Recht haben, Letztlich entscheidet in Rebeks System die Templat-Konzentration darüber, wann Templat- und wann Amid-Autokatalyse eintritt.<sup>34)</sup> Besondere Aufmerksamkeit erlangte 1996 Ghadiris „self-replicating peptide“,<sup>35)</sup> wurden doch mit diesen Experimenten die unter präbiotischen Bedingungen notorisch schwierig zugänglichen Nucleinsäuren in ihrer Rolle als primordiale Informationsträger auf dem ersten Blick entthront. Die sich hinter der RNA-Welt versammelnde Community der Ribozym- und Aptamerforscher brachte aber wenig später wichtige Argumente hervor, die einer Verallgemeinerung und Deutung von Ghadiris Experimenten im Sinne einer „Peptid-Welt“ im Wege stehen.

### Wie entsteht Evolvierbarkeit?

◆ Die Diskussion über präbiotisch plausible oder weniger plausible Strukturklassen, mit sich denen sich Selbstreplikation umsetzen lässt, ist vielleicht weniger wichtig als das Erkennen verallgemeinerbarer dynamischer Prinzipien, die über das Potential chemischer Systeme zur molekularen Evolution im Sinne Darwins entscheiden. Hier kommt nach den Pionierarbeiten von Eigen und Schuster<sup>36)</sup> insbesondere den Arbeiten von Eors Szathmary Bedeutung zu. Szathmary hatte 1989 theoretisch gezeigt, dass eine Evolution im Sinne Darwins nicht eintreten kann, wenn Replikatoren, die um gemeinsame Ressourcen konkurrieren, unser „Quadratwurzelgesetz“ erfüllen.<sup>37)</sup> Die Überwindung der Produktinhibition und der Übergang von parabolischem zu exponentiellem Wachstum wurde in der Folge-

zeit zu einem wichtigen Ziel in der chemischen Replikationsforschung. Aber erst 1997 gelang es Wang und Sutherland, diesem Ziel endlich näher zu kommen. Der Wang-Sutherland-Replikator lieferte ein autokatalytisches Wachstum, das auf halben Wege zwischen parabolisch und exponentiell liegt.<sup>38)</sup> Er basierte auf einer Diels-Alder-Reaktion und wurde nach der Emeritierung von Sutherland Leitmotiv für die Entwicklung nahezu exponentiell wachsender Varianten, die unabhängig von Douglas Philp in Manchester<sup>39a)</sup> und Maik Kindermann<sup>39b)</sup> in meiner Arbeitsgruppe untersucht wurden. Aber auch in anderen Strukturklassen ist man inzwischen recht nah am Ziel. Jean Chmiliewski berichtete kürzlich über einen Peptidreplikator, der eine Templatautokatalyse mit nahezu exponentieller Qualität entwickelt.<sup>40)</sup> Einen ähnlichen Erfolg konnte vor kurzem der bereits er-

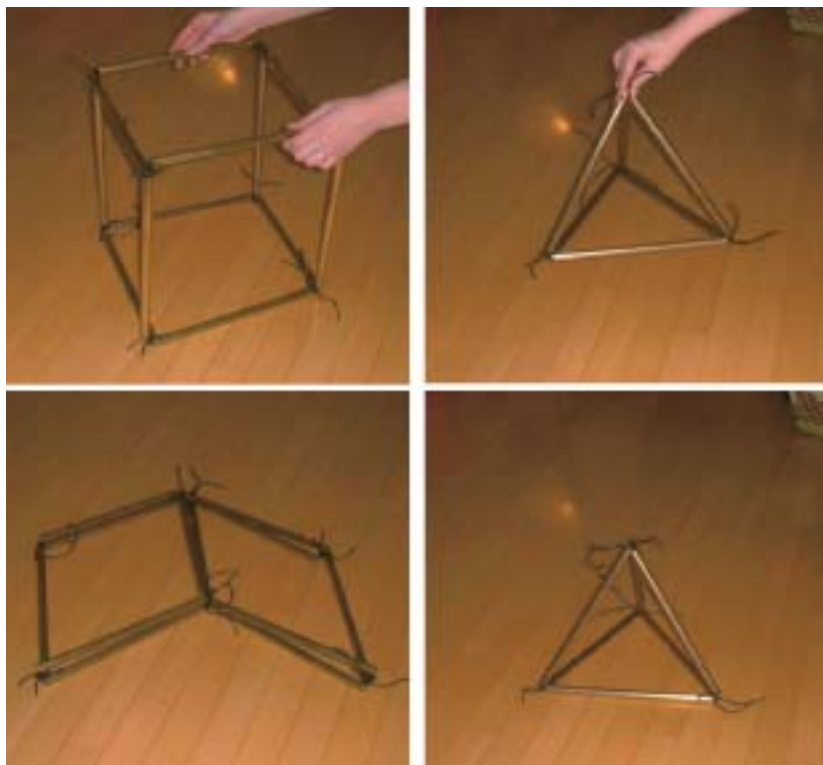


Abb. 7. Veranschaulichung des Tensegrity-Konzepts. Messingrohre stehen für Doppelstränge (steif), schwarze Kunststoff-Fäden für Linkerelemente (flexibel). Die Fäden wurden durch die Messingrohre hindurchgezogen und an den Enden verknötet. Ein Gerüst mit kubischer Symmetrie (links oben) bricht unter dem Einfluss der Schwerkraft zusammen (links unten), ein tetraedrisches Gerüst steht und behält seine Geometrie bei (rechts).

wähnte Joyce, einer der drei Väter der gerichteten In-vitro-Evolution von RNA, mit seinem „self-replicating ligase ribozyme“ für die RNA-Welt verbuchen.<sup>41)</sup> Ungeachtet dieses jüngsten Ansturms auf exponentielle Systeme darf man sich allerdings fragen, ob die verschiedenen, vermutlich nicht verallgemeinerbaren Kunstgriffe zur Ausschaltung der Produktinhibition überhaupt notwendig sind, um Evolvierbarkeit in artifiziellen, enzymfreien Replikationssystemen zu generieren. Hier nehme ich auch unser 1998 beschriebenes SPREAD-Verfahren nicht aus, bei dem die Replikation schrittweise durchgeführt wird und daher nicht mehr als autonomer Prozess abläuft (Abbildung 4).<sup>42)</sup> Überraschend war jedenfalls das Ergebnis einer dynamischen Simulation, nach

dem auch produktinhibierte autonome Systeme evolvieren können, wenn die Replikation an einer Feststoffoberfläche stattfindet und sozusagen mit einer Chromatographie verkoppelt ist. Eine chromatographische Situation wäre präbiotisch mit dem Durch- oder Überfließen mineralischer Schichten etwa in Hydrothermalquellen oder in Flüssen gegeben und keineswegs unplausibel. Ob dieser theoretische Befund, der von Szathmary methodisch unabhängig bestätigt werden konnte und den wir gemeinsam in einem neugegründeten Journal „versteckt“ haben,<sup>43)</sup> experimentelle Relevanz hat, wird erst die Zukunft zeigen.

### Replikation und Nanotechnologie

◆ Einer Zukunftsperspektive ist auch der letzte Teil dieser Übersicht gewidmet. Die DNA-Doppelhelix steht darin als Symbol für eine neue Materialwissenschaft, die man als programmierbare Nanotechnolo-

gie bezeichnen könnte. Nadrian Seeman, der diese Richtung als Pionier maßgeblich geprägt hat, hat kürzlich in der „50 years DNA“-Ausgabe von *Nature* über „DNA in einer Materialwelt“ geschrieben.<sup>44a)</sup> Unsere Arbeiten basieren auf der vielleicht zu simplen Sichtweise, einen Oligonucleotid-Doppelstrang letztlich nur als eine lange chemische Bindung zu betrachten. Während eine kovalente Bindung auf der Paarung zweier Elektronen mit antiparallelem Spin basiert, wird eine nichtkovalente (aber dennoch ausreichend stabile) Bindung durch antiparallele Paarung zweier DNA-Einzelstränge geknüpft. Das Ziel ist es, aus synthetischen dreiarmligen Bausteinen, die wir als „Trisoligos“ bezeichnen, Nanogerüste mit definierter und vorhersagbarer räumlicher Struktur zu erzeugen, und zwar allein durch nichtkovalente Synthese per self-assembly.<sup>45a,b)</sup> So entsteht beispielsweise ein tetraedrisches Nanokonstrukt aus vier Trisoligos mit jeweils drei verschiedenen Armen (Abbildung 5). Die insgesamt zwölf verschiedenen Sequenzen sind dabei so gewählt, dass durch komplementäre Paarung sechs doppelsträngige Bindungen entstehen, die die Kanten des Tetraeders definieren. Die Synthese nichtkovalenter Nanogerüste aus kovalenten 3-Arm-Bausteinen entspricht einer „reversen“ Seeman-Strategie. Revers, da Seeman von nichtkovalenten, aus jeweils drei linearen Oligonucleotiden zusammengesetzten 3-Arm-Verbindern ausging, deren „sticky ends“ dann durch enzymatische Ligationsschritte kovalent verknüpft wurden. Auf diese Weise gelang zum Beispiel die Synthese eines würfelförmigen DNA-Gerüsts, das infolge der Nichtkovalenz in den Verbindungselementen topologisch einem Multicatenan entspricht.<sup>44b)</sup> Im Gegensatz zu Seemans DNA-Würfel ist unser DNA-Tetraeder „nur“ ein supramolekulares Objekt. Letzteres hat aber auch einen prinzipiellen Vorteil. Supramolekulare Objekte sollten nämlich im Gegensatz zu kovalenten und topologisch geschlossenen Objekten replizierbar sein. Wie wie vor kurzem demons-

triert haben, gelingt dies durch chemisches Kopieren der in den 3-Arm-Bausteinen befindlichen Konnektivitätsinformation (Abbildung 6).<sup>45c)</sup> Diese bestimmt, an welcher Stelle sich ein Baustein in den supramolekularen Verband integrieren soll. Wenn man in Zukunft durch Replikation alle Bausteine eines Nanokonstrukts vervielfältigen kann, dann lassen sich damit automatisch auch die Nanokonstrukte selbst replizieren, da letztere ja aus den Bausteinen spontan durch programmiertes Self-Assembly hervorgehen. Für diese Art von künstlicher Replikation, die nicht mehr auf einem natürlichen Vorbild basiert, ist das SPREAD-Verfahren<sup>45a)</sup> inclusive einer patentierten Variante<sup>45b)</sup> geradezu prädestiniert. Zwischen einem tetraedrischen und einem kubischen DNA-Gerüst besteht übrigens ein wichtiger Unterschied. Programmierbar ist immer nur die Konnektivität. Im Falle eines Tetraeders erzwingt diese die Geometrie des Objekts, im Falle des Würfels nicht. Letzteres basiert auf einem Prinzip, das aus der Architektur geodätischer Dome stammt, von Buckminster Fuller als „Tensegrity“ bezeichnet wurde und von dem wir annehmen, dass es auch noch im Nanometerraum gültig ist. (Abbildung 7).

### Nanoroboter?

◆ Wozu ist das Ganze denn überhaupt nützlich, wo es doch um eine Zukunftsperspektive geht? Es ist zunächst bemerkenswert, dass man heute in der Lage ist, auf der Basis des „Informationsmaterials“ DNA und einem Mix aus kovalenter und nichtkovalenter Synthese riesige, etwa 5–10 Nanometer große Gebilde zusammenzusetzen, bei denen jedes Atom und jedes Stereozentrum definiert und selbst die räumliche Position dieser Atome grob vorhersagbar ist. DNA ist dabei nur ein Prototyp für ein Informationsmaterial. Albert Eschenmosers pRNA,<sup>46a)</sup> Peter Nielsens PNA,<sup>46b)</sup> Piet Herdewijns HNA und ANA<sup>46c)</sup> und viele andere künstliche DNA-Mimetika sind wegen jeweils spezifischer Vorteile prädesti-

niert, hier Anwendung zu finden. Das reine Konstruieren mit Informationsmaterialien hätte indessen nur akademischen Wert, wenn es bei nackten Gerüsten bliebe. Die interessante Perspektive besteht darin, räumlich definierte Gerüste für die Synthese hochkomplexer, modularer und zudem chemisch replizierbarer Nanokonstrukte einzusetzen. Ein tetraedrisches Gerüst sollte z. B. mit vertretbarem Aufwand mit zwölf verschiedenen Funktionsmodulen beladen werden können. Die Funktionsmodule können organischer (z. B. Farbstoffe, Fluoreszenzfarbstoffe, Peptide, Oligosaccharide, Dendrimere, Photoaffinitätslabel), anorganischer (z. B. Nanocluster) oder biologischer Natur (z. B. Rezeptoren, Antikörper, Enzyme, Aptamere, Ribozyme) sein und hängen letztlich von der Zielanwendung ab. Wie Christof Niemeyer kürzlich gezeigt hat, kann man z. B. mit zwei Enzymen, die an Oligonucleotide konjugiert sind, einen funktionellen Bienenzymkomplex zusammensetzen. Mit tetraedrischen Gerüsten sollten analog synthetische Multienzymkomplexe oder allgemeiner Multifunktionskonstrukte generiert werden können. Ein Anwendungsfeld für solche Konstrukte wäre die Suche nach „Nanoepitopen“ auf der Oberfläche von biologischen Zellen. Es ist nämlich durchaus wahrscheinlich, dass die Anordnung von Proteinen auf der Zelloberfläche (z. B. Lectine, Integrine,

Ionenkanäle, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren) nicht immer statistisch ist, sondern zumindestens teilweise durch das Cytoskelett geprägt wird. Wenn diese Hypothese stimmt, dann sollte es Muster auf der Zelloberfläche geben, die durch ein Andocken geometrisch komplementärer modularer Nanokonstrukte aufgespürt werden könnten. Diese Muster sollten mit dem Zyklus und dem Differenzierungszustand einer Zelle in Verbindung stehen. Selbst die Möglichkeit einer „Fernsteuerung“ solcher Konstrukte wäre gegeben. Kim Hamad-Schifferli hat im vergangenen Jahr gezeigt,<sup>48)</sup> dass Goldcluster als nanodimensionale „Antennen“ für den Empfang der magnetischen Komponente von elektromagnetischen Wellen im Gigahertz-Bereich (Handy-Frequenz) eingesetzt werden können. Per Induktionsheizung gelang es, selektiv das an den Goldcluster gebundenen (Bio)-Molekül zu erwärmen und damit gleichsam „ferngesteuert“ dessen Konformation zu ändern. Das Problem der mangelnden Thermostabilität der Goldcluster-Label hat Matthias Pankau in meinem Labor mit der Entwicklung maßgeschneiderter multidentater Monoliganden auf Thioetherbasis<sup>49a,b)</sup> inzwischen gelöst.

Philip Ball sieht replizierbare komplexe Nanokonstrukte als Prototypen von „Nanorobotern“ an.<sup>50)</sup> Wie man solche Konstrukte auch immer bezeichnen mag, sie sind



letztlich Produkte einer chemischen Synthese. Replikation ist darin ein integraler Bestandteil, und zwar allein und nur deswegen, weil das aus der Watson-Crick-Doppelhelix entspringende Prinzip Replikation hilft, Komplexität bezahlen zu können.

Günter von Kiedrowski  
Lehrstuhl für Organische Chemie I  
Universität Bochum  
kiedro@ernie.orch.ruhr-uni-bochum.de

- 1) J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* 1953, 171, 737.
- 2) A. R. Todd in Nobel-Lectures Chemistry 1942–1962, *World Scientific, Singapore*, 1999.
- 3) Chemical Biology, *Selected Papers of H. Gobind Khorana (with Introductions)*, *World Scientific Series in 20<sup>th</sup> Century Biology*, Vol. 5, *World Scientific, Singapore*, 2000.
- 4) a) A. M. Michelson, A. R. Todd, *J. Chem. Soc.* 1953, 951; b) F. Eckstein, I. Risk, *Chem. Ber.* 1969, 102, 2362.
- 5) a) R. L. Letsinger, W. B. Lursford, *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98, 2655; b) R. Letsinger, V. Mahaderan, *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 3526.
- 6) S. L. Beaucauge, M. H. Caruthers, *Tetraedron Lett.* 1981, 22, 1859.
- 7) a) S. P. A. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. T. Stryer, A. Lu, D. Solas, *Science* 1991, 251, 767; b) siehe auch G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* 1991, 103, 839.
- 8) *Selected Papers of Frederick Sanger (with Commentaries)* (Hrsg.: F. Sanger, M. Dowding), *World Scientific Series in 20<sup>th</sup> Century Biology*, Vol. 1, *World Scientific, Singapore*, 1996.
- 9) „Sequencing end-labeled DNA with base-specific chemical cleavages“: W. Gilbert, A. M. Maxam, in *Methods in Enzymology*, Vol. 65, Part I, 499 (Hrsg.: K. Moldave, L. Grossman), *Academic Press*, 1980.
- 10) K. B. Mullis, *Angew. Chem.* 1994, 106, 1271.
- 11) M. E. Smith, *Angew. Chem.* 1993, 105, 1355.
- 12) S. L. Miller, *Science* 1953, 117, 528.
- 13) P. Decker et al., *J. Chromatogr.* 1982, 244, 281.
- 14) G. Zubay, *Orig. Life Evol. Biosphere* 1998, 28, 13.
- 15) J. Oro, *Nature* 1961, 191, 1193.
- 16) A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* 1988, 100, 5.
- 17) W. D. Fuller, R. A. Sanchez, L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* 1972, 67, 25.
- 18) R. Lohrmann, L. E. Orgel, *Science* 1971, 171, 490.
- 19) A. R. Todd in *Perspectives in Organic Chemistry* (Hrsg.: A. R. Todd), *Interscience, New York*, 1956, 245.
- 20) F. H. C. Crick, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1958, 12, 138.
- 21) M. B. Hoagland, M. L. Stephenson, J. F. Scott, L. I. Hecht, P. C. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* 1958, 231, 241.
- 22) S. Brenner, F. Jacob, M. Meselson, *Nature* 1961, 190, 576.
- 23) T. R. Cech, *Angew. Chem.* 1990, 102, 745.
- 24) S. Altman, *Angew. Chem.* 1990, 102, 735.
- 25) W. Gilbert, *Nature* 1986, 319, 618.
- 26) G. Schramm, H. Grötsch, W. Pollmann, *Angew. Chem.* 1962, 74, 53.
- 27) R. Naylor, P. T. Gilham, *Biochemistry* 1966, 5, 2722.
- 28) S. L. Stanley, L. E. Orgel, *The Origins of Life on the Earth*, *Prentice-Hall, New Jersey*, 1974.
- 29) L. E. Orgel, F. H. C. Crick, *Nature* 1980, 286, 604.
- 30) a) J. Sulston, R. Lohrmann, L. E. Orgel, H. Schneider-Bernloehr, B. J. Weimann, H. T. Miles, *J. Mol. Biol.* 1969, 40, 227; b) T. Inoue, L. E. Orgel, *Science* 1983, 219, 859; c) L. E. Orgel, *Nature* 1992, 358, 203.
- 31) G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* 1986, 98, 932; b) D. Sievers, G. von Kiedrowski, *Nature* 1994, 369, 221; c) G. von Kiedrowski in *Gene, Neurone, Qubits & Co. Unsere Welten der Information – Berichte der 120. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Ärzte und Naturforscher* (Hrsg. D. Ganten), *Hirzel, Leipzig*, 1999, S. 123ff., zit. Lit.
- 32) a) T. Tjivikua, P. Ballester, J. Rebek Jr., *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 1249; b) E. A. Winter, M. M. Morgan, J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.* 1994, 27, 198.
- 33) F. M. Menger, A. V. Eliseev, N. A. Khanjin, *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 3613.
- 34) D. N. Reinhoudt, D. M. Rudkevich, F. de Jong, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 6880.
- 35) D. H. Lee, J. R. Granja, J. A. Martinez, K. Severin, M. R. Ghadiri, *Nature* 1996, 382, 525.
- 36) M. Eigen, P. Schuster, *The hypercycle*. Springer, Berlin, 1979.
- 37) a) E. Szathmáry, I. Gladkih, *J. Theor. Biol.* 1998, 138, 55; b) siehe auch G. von Kiedrowski, et al., *Nachr. Chem. Techn. Lab.* 1992, 40, 578.
- 38) B. Wang, I. O. Sutherland, *Chem. Commun.* 1997, 1495.
- 39) a) A. Robertson, A. J. Sinclair, D. Philp, *Chem Soc. Rev.* 2000, 29, 141; b) M. Kindermann, *Dissertation, Ruhr-Universität Bochum*, 2001.
- 40) R. Issac, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 6808.
- 41) N. Paul, G. F. Joyce, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 12733.
- 42) a) A. Luther, R. Brandsch, G. von Kiedrowski, *Nature* 1998, 396, 245; b) G. von Kiedrowski, J. P. Fürste, S. Klusmann, T. Klein, *Klonieren und Kopieren an Oberflächen*. DE 19854946C2, EP 1135527B1, US6534271B2.
- 43) G. von Kiedrowski, E. Szathmáry, *Selection* 2000, 1, 173.
- 44) N. C. Seeman, *Nature* 2003, 421, 427; b) J. Chen, N. C. Seeman, *Nature* 1991, 350, 631.
- 45) a) G. von Kiedrowski, L.-H. Eckardt, K. Naumann, W. M. Pankau, M. Reimold, M. Rein, *Pure Appl. Chem.* 2003, 75, 609; b) M. Scheffler, A. Dorenbeck, S. Jordan, M. Wüstefeld, G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* 1999, 111, 3514; c) L.-H. Eckardt et al. *Nature* 2002, 420, 286.
- 46) a) S. Pitsch, S. Wendeborn, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* 1993, 76, 2161; b) P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Science* 1991, 254, 1497; c) E. Lescrinier, M. Froeyen, P. Herdewijn, *Angew. Chem.*, im Druck.
- 47) C. M. Niemeyer, J. Koehler, C. Wuerdemann, *ChemBioChem* 2002, 3, 242.
- 48) K. Hamad-Schifferli, J. J. Schwartz, A. T. Santos, S. Zhang, J. M. Jacobson, *Nature* 2002, 415, 152.
- 49) a) W. M. Pankau, K. Verbist, G. von Kiedrowski, *Chem. Commun.* 2001, 519; b) *Thermostable and monoconjugatable gold cluster complexes*. – G. von Kiedrowski, W. M. Pankau, S. Mönninghof, *Europäische Patentanmeldung* 02010593.8.
- 50) P. Ball in *New Scientist* vom 15. 3. 2003.



**Günter von Kiedrowski**, Jahrgang

1953, studierte Chemie in Münster und Göttingen und promovierte 1983 bei Lutz-F. Tietze mit einer

Arbeit zur Synthese von Cannabis-Inhaltsstoffen. Nach einem Postdoc-Aufenthalt bei Leslie Orgel am Salk-Institute in La Jolla habilitierte er sich in Göttingen mit dem Thema „Selbstreplikation in chemischen Minimalssystemen“. Nach einer C3-Professur an der Universität Freiburg nahm er 1996 den Ruf auf den Lehrstuhl für Bioorganische Chemie der Universität Bochum an. Seine Arbeiten umfassen die Selbstreplikation in artifizierten chemischen Systemen, synthetische bioorganische Chemie, supramolekulare Chemie, Reaktionskinetik, Evolutionstheorie und programmierbare Nanotechnologie.