

eigenen Arbeiten, sondern auch als Organisator der jährlichen Thermodynamik-Kolloquien in der DDR in hervorragender Weise bekannt.

Friedrich Kohler  
Institut für Thermo- und Fluidodynamik  
Ruhr-Universität Bochum

- 1) F. Kohler und A. Pfennig, Pure Appl. Chem. 61, 104 (1989).
- 2) M. D. Diaz Peña, R. G. Rubio und J. Pedraza, Fluid Phase Equil. 48, 31 (1989); J. W. Perram, unveröffentlicht.
- 3) T. Boublik, J. Chem., Phys. 92, 2629 (1988).
- 4) J. Winkelmann, Fluid Phase Equil. 48, 67 (1989).
- 5) M. Bohn, J. Fischer und J. M. Haile, Mol. Phys. 65, 797 (1988); M. Lucas und K. Lucas, Fluid Phase Equil. 45, 7 (1989); C. Vega, B. Saager und J. Fischer, Mol. Phys. im Druck.
- 6) S. F. Barreiros, M. Nunes da Ponte und J. C. G. Calado, Fluid Phase Equil. 49, 9 (1989); E. J. S. Gomes und J. C. G. Calado, Fluid Phase Equil. 49, 21 (1989).
- 7) E. Wilhelm, A. Lainez und J.-P. E. Grolier, Fluid Phase Equil. 49, 233 (1989); I. Garcia Vicente, N. Garcia-Lisbona, I. Velasco, S. Otin, J. Munoz Embid und H. V. Kehiaian, Fluid Phase Equil. 49, 251 (1989).
- 8) H. J. Bittrich, A. Meske und L. F. T. G. Rodrigues, Fluid Phase Equil. 49, 137 (1989); Nguyen Van Nhu und P. Svejda, Fluid Phase Equil. 49, 127 (1989); A. Dallos und F. Ratkovics, Fluid Phase Equil. 49, 157 (1989); Nguyen van Nhu und F. Kohler, Fluid Phase Equil. 50, 267 (1989); K. N. Marsh und H. Rogers, J. Chem. Thermodyn. 21, 211 (1989).
- 9) A. Liu, F. Kohler, L. Karrer, J. Gaube und P. Spellucci, Pure Appl. Chem. 61, 1441 (1989).
- 10) S. Schulz et al., Thermochim. Acta 151, 109 (1989).
- 11) F. Becker und P. Richter, Fluid Phase Equil. 49, 157 (1989).
- 12) T. M. Letcher, J. D. Sewry und D. Naran, Fluid Phase Equil. 49, 187 (1989).
- 13) J. van der Steen, Th. W. de Loos und J. de Swaan Arons, Fluid Phase Equil. 51, 353 (1989); V. G. Niesen, J. Chem. Thermodyn. 21, 915 (1989); S. K. Shibata und S. I. Sandler, J. Chem. Eng. Data 34, 419 (1989); M. K. F. Malewski und S. I. Sandler, J. Chem. Eng. Data 34, 424 (1989).
- 14) J. A. Schouten, Int. J. Thermophys. 10, 1 (1989).
- 15) G. J. Esper, D. M. Baily, J. C. Holste und K. R. Hall, Fluid Phase Equil. 49, 35 (1989).
- 16) G. Ernst und H. E. Hochberg, J. Chem. Thermodyn. 21, 407 (1989).
- 17) I. F. Hölscher, M. Spee und G. M. Schneider, Fluid Phase Equil. 49, 107 (1989).
- 18) Th. W. de Loos, W. Poot und J. de Swaan Arons, J. Chem. Thermodyn. 21, 133 (1989).
- 19) C. J. Peters, H. J. van der Kooi, J. L.

de Roo, J. de Swaan Arons, J. S. Gallagher und J. M. H. Levelt Sengers, Fluid Phase Equil. 51, 353 (1989).

20) G. Wilczek-Vera und J. H. Vera, Fluid Phase Equil. 51, 197 (1989); J. Schwartzentruber und H. Renon, Ind. Eng. Chem. Res.

28, 1049 (1989).

21) z. B. U. K. Deiters, Fluid Phase Equil. 48, 185 (1989).

22) L. L. Joffrion, M. A. Barrufet und P. T. Eubank, Fluid Phase Equil. 4, 209 (1989).

### Jahresrückblick

# Biochemie und Molekularbiologie 1989

**Die Röntgenstruktur- (und damit die Funktions-)Analyse immer komplexerer Protein-Strukturen, die Mechanismen der Proteinfaltung sowie Zelldifferenzierung und Embryonalentwicklung waren einige der besonders intensiv und erfolgreich bearbeiteten Themen der Biowissenschaften im letzten Jahr.**

## Proteinstrukturen

Die scheinbar so objektive Wissenschaft der Strukturforschung hat 1989 viel Licht, aber auch etwas Schatten gesehen. Gleich bei mindestens drei „heißen“ Projekten wurden, wohl in übermäßiger Eile wegen der vermeintlichen Konkurrenz, erst einmal über (vermutlich) teilweise falsche Strukturen berichtet, die dann aber rasch von anderen Arbeitsgruppen korrigiert wurden (s. unten). Die Struktur der retroviralen Proteasen wurde mehrmals unabhängig voneinander bestimmt, da sie besonders geeignete Kandidaten für die Entwicklung von klinisch bedeutsamen Inhibitoren sind [M. Müller et al., Science 246, 1149 (1989)]. Obwohl den bekannten Aspartylproteasen (wie z. B. Pepsin) ähnlich, die eine interne Duplikation besitzen, sind die viralen Proteasen jedoch dimere Proteine mit dem aktiven Zentrum zwischen den Untereinheiten und könnten deshalb den evolutionären Vorläufer der pepsin-artigen Enzyme darstellen. Beide katalytischen Aspartat-Reste werden von jeweils einer Untereinheit in symmetrieverwandter Position beigesteuert und im Extremfall erst durch die Substratbindung nicht-äquivalent. Diese Strategie liefert den Viren eine elegante Methode, mit einem Minimum an genetischer Information zu einem funktionellen Enzym zu kommen. Die erste veröffentlichte Struktur war die der Protease aus Rous-Sarcoma-Virus [M. Müller et al., Nature 337, 576 (1989)]. Dann publizierten M. A. Navia et al. [Nature 337, 615 (1989)] die Struktur der HIV-Protease. Bereits T. Blundell und L. Pearl zeigten sich in ihrem „News and Views“-Kommentar [Nature 337, 596 (1989)] erstaunt über die Unterschiede der beiden Moleküle. Die Unterschiede sind jedoch auf Fehler in dieser HIV-Protease-Struktur zurückzuführen und

wurden dann von A. Wlodawer et al. [Science 245, 616 (1989)] mit einem synthetischen Protein, das allerdings  $\alpha$ -Amino-n-buttersäure an Stelle von Cystein enthielt, korrigiert. Es ist erfreulich, daß zum ersten Mal eine Struktur eines durch Peptidsynthese erhaltenen Proteins gelöst werden konnte und dabei zumindest keine offensichtlichen Heterogenitäten zutage traten – vielleicht stellt ja die Kristallisation noch einmal eine Reinigungsstufe dar. Aber 99 Aminosäuren sind wohl die obere Grenze dessen, was mit vernünftigem Aufwand (und brauchbarer Qualität) in Einzelfällen noch synthetisiert werden kann. R. Lapatto et al. [Nature 342, 299 (1989)] zeigten dann schließlich, daß auch die native HIV-Protease die gleiche Topologie wie das synthetische Enzym aufweist. Auch die Struktur einer anderen Aspartyl-Protease, die wegen ihrer Bedeutung bei der Blutdruckregulation ebenfalls zum Design von Inhibitoren immer wieder modelliert wurde, wurde nun experimentell aufgeklärt: menschliches Renin [A. R. Sielecki et al., Science 243, 1346 (1989)]. Die verschiedenen Modellierungs-Strategien können jetzt also mit der experimentellen Struktur direkt überprüft werden. Rubisco (eigentlich Ribulose-Bisphosphat-Carboxylase) ist das (gewichtsmäßig) häufigste Enzym auf Erden und das Schlüsselenzym der photosynthetischen CO<sub>2</sub>-Fixierung. Eine wichtige Seitenreaktion des Enzyms ist die sogenannte Photorespiration, in der Ribulosebisphosphat mit O<sub>2</sub> oxygeniert wird, wahrscheinlich im gleichen aktiven Zentrum. Diese Nebenreaktion verschwendet einen guten Teil der chemischen Energie des Zuckers, und es wäre deshalb für die Pflanzenbiotechnologie sehr wichtig, das Verhältnis der CO<sub>2</sub>-Carboxylierung zur Photorespiration durch ortsspezifische Mutagenese zu verbessern. Die erste Voraussetzung dafür, eine detaillierte Röntgenstruktur des aktiven Zentrums, wurde jetzt in Schweden geschaffen [I. Andersson, Nature 337, 229 (1989)]. Auch bei diesem Enzym zeigte sich wieder eine Diskrepanz zwischen Strukturen verschiedener Gruppen: S. Knight et al. [Science 244, 702 (1989)] berichten eine völlig andere Topologie für die S-Untereinheit als M. S. Chapman et al. [Science 241, 71 (1988)].

Eine der Strukturen ist daher wohl oder übel falsch.

Die Struktur der P21-Domäne des *Ras*-Onkogens mit einem gebundenen GTP-Analogon konnte nun auch aufgeklärt werden [E. F. Pai et al., *Nature* 341, 209 (1989)]. Zwar war die Struktur des GDP-Komplexes bereits davor veröffentlicht worden [A. M. De Vos et al., *Science* 239, 888 (1988)], diese enthielt aber Fehler, die dann aufgrund der neuen Struktur von den Autoren selbst korrigiert wurden [L. Tong et al., *Science* 245, 244 (1989)]. Es konnte nun direkt gezeigt werden, daß die Mutationen, die das Protein onkogen aktivieren [L. Tong et al., *Nature* 337, 90 (1989)] für die GTP-Bindung wichtig sind. Die Fähigkeit des Proteins, zwischen der GDP-bindenden und der GTP-bindenden Struktur zu wechseln, wird dabei verändert.

Zum ersten Mal konnte im vergangenen Jahr die Struktur eines Komplexes zwischen einer tRNA-Synthetase und einer tRNA aufgeklärt werden [M. A. Rould et al., *Science* 246, 1135 (1989)]. Diese Wechselwirkung ist die Basis des genetischen Codes und damit eine der zentralen Interaktionen aller Lebensformen. Interessanterweise unterscheiden sich die Synthetasen ganz erheblich voneinander, sogar in der Quartärstruktur, obwohl sie wahrscheinlich doch nach ähnlichen Prinzipien aufgebaut sind. Der Acceptorstamm könnte der Teil der tRNA sein, der von einem Vorläufer aller Synthetasen bereits erkannt wurde.

In diesem Zusammenhang ist auch die fundamentale Arbeit von M. Eigen et al. zu erwähnen, in der die Verwandtschaft der etwa 1000 bekannten tRNA-Sequenzen analysiert wurde, um zu einer Aussage über das Alter des genetischen Codes zu kommen [*Science* 244, 673 (1989)]. Die wichtigste Schlußfolgerung dieser Arbeit ist, daß der Code in etwa das gleiche Alter hat wie die frühe phylogenetische Diversifizierung. Wäre dem nicht so, könnte man einen extraterrestischen Ursprung des Lebens auf der Erde postulieren. (Weiteres zum genetischen Code s. unten.)

1989 wurde ein weiteres „Membranprotein“ strukturell charakterisiert: Colicin A [M. W. Parker et al., *Nature* 337, 93 (1989)]. Diese von einigen *E. coli*-Stämmen sezernierten Proteine werden als chemische Kampfstoffe gegen sensitive *E. coli*-Stämme und ähnliche Bakterien eingesetzt und lagern sich als spannungsabhängige Kanäle in die innere Membran der Bakterienopfer ein, wobei sie das Energiepotential der Membran zerstören. Das Membranfragment des Proteins ist wasserlöslich und besteht aus 10 Helices. Die Autoren schlagen vor, daß sich die Helices bei der Insertion in die Membran parallel ausrichten und daß das Colicin in der Membran dann oligomerisieren kann.

Die Gruppe um F. A. Quiocho zeigte durch einen Vergleich der Struktur des Arabinose-Bindungs-Proteins mit verschiedenen Zuckern, daß lokalisierte Wassermoleküle durchaus integraler Bestandteil der Spezifi-

tätstasche sein können [F. A. Quiocho et al., *Nature* 340, 404 (1989)]. Diese „strategischen“ Wassermoleküle werden mit der maximalen Zahl von Interaktionen in ihrer Position gehalten. Wenn das Protein dagegen eine gewisse Substratpromiskuität zeigt, muß das aktive Zentrum flexibel sein [R. Bone et al., *Nature* 339, 191 (1989)], wie an der  $\alpha$ -lytischen Protease direkt gezeigt werden konnte. Eine gewisse Deformation des Proteins zur Optimierung aller Interaktionen ist wohl auch die Ursache dafür, daß Streptavidin das kleine Molekül Biotin mit der gewaltigen Bindungskonstante von  $10^{15} \text{ M}^{-1}$  binden kann [P. C. Weber et al., *Science* 243, 85 (1989)].

Durch die Fertigstellung der Kristallstruktur der unphosphorylierten Form der Glykogen-Phosphorylase (b-Form) im R-Zustand und durch Vergleich mit der schon vorhandenen T-Struktur konnte jetzt der allosterische Übergang detailliert beschrieben werden [D. Barford and L. N. Johnson, *Nature* 340, 609 (1989)]. Bereits zuvor konnte der Einfluß der Phosphorylierung durch Strukturvergleich von Phosphorylase a (im T-Zustand) mit Phosphorylase b eruiert werden [S. R. Sprang et al., *Nature* 336, 215 (1988)]. Die Kommunikation der aktiven Zentren scheint hauptsächlich durch eine Änderung der Orientierung zweier Helices zustande zu kommen [E. J. Goldsmith et al., *Science* 245, 528 (1989)]. Auch in Bakterien gibt es Konformations-Schalter, die auf Proteinphosphorylierung beruhen, wie z. B. im CheY-Protein, einem Chemotaxis-Regulator, dessen Struktur ebenfalls aufgeklärt wurde [A. M. Stock et al., *Nature* 337, 745 (1989)].

Aus der großen Zahl neuer Strukturen sollen nur noch zwei Objekte von allgemeinem biochemischen Interesse herausgegriffen werden. Das erste ist der Tumor-Nekrose-Faktor, dessen Struktur von E. Y. Jones et al. [*Nature* 338, 225 (1989)] beschrieben wurde. Auch die Struktur von Serumalbumin wurde aufgeklärt, allerdings bisher nur mit sehr geringer Auflösung [D. C. Carter et al., *Science* 244, 1195 (1989)].

Vor die Röntgenstrukturbestimmung von größeren Proteinen haben die Götter bekanntlich die Kristallisation gesetzt. Ein kontroverser Dauerbrenner ist die Frage, ob sich der gewaltige Aufwand lohnt, eine Kristallisation im Weltraum durchzuführen. Die Hoffnung vieler Befürworter war, auf diese Art die Konvektion zu eliminieren, die das Kristallwachstum negativ beeinflusst – allerdings neben einer Vielzahl anderer Faktoren. L. J. DeLucas et al. [*Science* 246, 651 (1989)] beschrieben nun Ergebnisse eines amerikanischen Spacelab-Fluges vom September 1988. In drei von elf Fällen wurden in der Tat besser geordnete Kristalle als auf der Erde erhalten, in sechs Fällen jedoch gar keine geeigneten Kristalle! Die Kontroverse dürfte also weiter fortbestehen.

In Abwesenheit von Kristallen kann (auf der Erde) die Struktur nicht zu großer Proteine ja auch mit der NMR-Spektroskopie be-

stimmt werden. K. Wüthrich und Mitarbeiter [Y. Q. Qian et al., *Cell* 59, 573 (1989)] haben auf diese Weise die Struktur des Antennapedia-Homöodomänen-Proteins von *Drosophila* aufgeklärt. Eine gewisse Ähnlichkeit der Anordnung der spezifischen Helices mit der in bakteriellen Repressoren ist unverkennbar. Eine der Helices enthält einen Knick, so daß man spekulieren könnte, daß die Helix sich etwas um die DNA herum windet und so eine besonders lange Erkennungssequenz besitzt. Offensichtlich wird das bekannte Helix-Turn-Helix-Motiv auch von Eukaryonten verwendet.

## Molekulardynamik

Die Molekulardynamik-Methode wird von manchen Theoretikern als Hoffnungsträger für die Vorhersage von Struktur- und thermodynamischen Parametern angesehen. Allerdings existieren nur sehr wenige direkte Korrelationen zwischen Experiment und Molekulardynamik. W. Doster et al. [*Nature* 337, 754 (1989)] haben mit inelastischer Neutronenstreuung die Temperaturübergänge der Dynamik von hydratisiertem Myoglobin untersucht. Obwohl diese experimentelle Methode nur eine globale Beschreibung der Protein-Dynamik erlaubt, könnte die Reproduktion der Temperaturabhängigkeit mit der Molekulardynamik direkt mit diesen experimentellen Daten verglichen werden.

J. Gao et al. berichten über die thermodynamische Analyse einer Proteinmutante mit Molekulardynamik [*Science* 244, 1069 (1989)]. Obwohl der Nettoeffekt der Substitution auf die freie Energie sehr klein ist, scheint er aus gewaltigen, sich beinahe aufhebenden Einzelbeiträgen zu bestehen.

Ausnahmsweise soll in diesem Rückblick auch einmal ein im letzten Jahr erschienenes Buch erwähnt werden, das bisher die fast einzige gründliche Zusammenfassung des Standes der Technik und eine Einführung in diese Methodik darstellt: „Computersimulations of Biomolecular Systems“ [W. F. van Gunsteren und P. K. Weiner, Escom Science Publishers, Leiden 1989].

## Enzymologie

Ornithin-Transcarbamoylase besteht aus drei identischen Untereinheiten und zeigt keine Kooperativität. Bereits ein einziger Aminosäure-Austausch im aktiven Zentrum macht das Enzym aber kooperativ und damit allosterisch regulierbar [L. C. Kuo, *Science* 245, 522 (1989)]. Der gleiche Austausch in der komplizierter aufgebauten Aspartat-Transcarbamoylase [J. W. Stebbins, *Biochemistry* 28, 2592 (1989)] macht dieses Enzym in Abwesenheit der regulatorischen Untereinheit ebenfalls kooperativ. Die Leichtigkeit, mit der auf ähnliche Art im Laufe der Evolution allosterisch regulierte Enzyme entstanden sein könnten, ist dennoch überraschend.

$\beta$ -Lactamasen der Klasse C, die ein nucleophiles Serin im aktiven Zentrum besitzen,

können mit einem Phosphonat-Inhibitor kovalent derivatisiert werden [R. F. Pratt, *Science* 246, 917 (1989)]. Außer dem normalen mechanistischen Interesse weckt dieser Befund Hoffnungen auf völlig neue Antibiotica-Klassen, die sehr spezifisch wirken könnten.

Cystein- und Serinproteasen arbeiten nach einem sehr ähnlichen Mechanismus. Warum geht dann so viel enzymatische Aktivität verloren, wenn man eine Serinprotease in eine Cysteinprotease umwandelt? Kinetische und kristallographische Studien geben nun Aufschluß [J. N. Higaki et al., *Biochemistry* 28, 9256 (1989); M. E. McGrath, *Biochemistry* 28, 9264 (1989)]. Der Hauptgrund scheint nicht in der etwas anderen „katalytischen Triade“ zu liegen, sondern darin, daß das Schwefelatom eines katalytischen Cysteins das Oxyanionenloch der Serinprotease versperren würde.

Den Zusammenhang zwischen Substratbindung, Produktbindung, katalytischer Effizienz, Evolutionsdruck und Reversibilität der Enzymreaktion haben J. R. Knowles und Mitarbeiter quantitativ analysiert [J. J. Burbaum et al., *Biochemistry* 28, 9293 (1989)]. So können für ein Enzym unter verschiedenen metabolischen Bedingungen die optimalen Bindungseigenschaften vorausgesagt werden. Interessanterweise scheinen viele Enzyme sehr nahe bei ihrem evolutionären Optimum zu liegen.

### Proteinfaltung

Die Aufklärung des mechanistischen Wegs der Proteinfaltung wird oft als der Schlüssel zum Verständnis der Proteinstruktur und für deren Vorhersage gesehen. Das kleine Enzym „Barnase“, eine RNase aus *Bacillus amyloliquefaciens*, wurde von A. R. Fershts Gruppe als Modell ausgewählt [A. Matouschek et al., *Nature* 340, 122 (1989)]. Ihre Intention war, den energetisch höchsten Übergangszustand bei der *Entfaltung* des Proteins in Harnstoff zu charakterisieren, der auch der energetisch höchste Zustand bei der Faltung sein müßte. Durch den Vergleich des Einflusses verschiedener Mutationen auf die Harnstoffabhängigkeit der Faltungskinetik und der Gleichgewichtslage sollte eruiert werden, welche Teile des Proteins im Übergangszustand noch Zugang zum Lösungsmittel haben. Obwohl für die quantitative Analyse mehrere *ad hoc*-Annahmen getroffen werden mußten, zeigt sich, daß der Übergangszustand dem nativen Protein bereits recht ähnlich ist.

Ebenfalls Mutationen, aber eine andere Analysetechnik, wurden von D. P. Goldenbergs Gruppe [D. P. Goldenberg et al., *Nature* 338, 127 (1989)] benutzt, um den mechanistischen Weg der Faltung des Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitors (BPTI) aufzuklären. Dieses Protein enthält drei Disulfidbrücken, und die Reihenfolge ihrer Knüp-

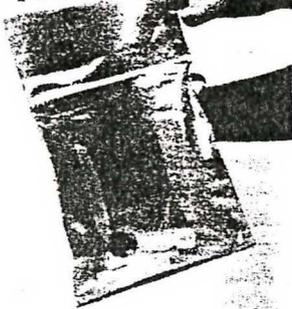
fung ist kinetisch determiniert. Es gelang, vollständige Profile der freien Energie der Faltung für alle Mutanten aufzustellen, in denen alle Gleichgewichte und kinetischen Übergänge zwischen den verschiedenen disulfidverbrückten Intermediaten beschrieben sind. So konnten Aminosäuren definiert werden, die nur für den letzten Übergang eine Rolle spielen, und solche, die für frühere Faltungsschritte Bedeutung haben.

Das Innere eines Proteins ist sowohl hydrophob, als auch dicht gepackt. Welcher dieser Effekte ist nun wichtiger für die Stabilität? W. S. Sandberg und T. C. Terwilliger [*Science* 245, 54 (1989)] wollten diese wichtige Frage durch die Messung der Stabilität von Mutanten des Gen-V-Proteins des Phagen  $\phi$ 1 messen. Obwohl sie zu dem Ergebnis kamen, daß beide etwa gleich wichtig sind, wird die endgültige Klärung doch noch erheblich mehr Daten, vor allem auch Messungen mit anderen Proteinen erfordern. Ergänzt wird diese Arbeit von W. A. Lim und R. T. Sauer [*Nature* 339, 31 (1989)], die eine Zufallsmutagenese des  $\lambda$ -Repressors benutzten, um die Erfordernisse der Packung im Inneren eines Proteins zu charakterisieren. Viele Wege führen offensichtlich nach Rom, und die Schlußfolgerungen, daß das Innere sowohl hydrophob als auch dicht gepackt sein muß, sind nicht unerwartet. Dennoch ist diese Datenfülle eine sehr wertvolle Grundlage für weitere quantitative

Warum kompliziert, wenn es einfacher geht!

## Laborprobenbeutel „Känguruh“

Notizen



für den sicheren Transport Ihrer Proben.

Probenröhrchen in den Dokumentenbeutel mit Gripverschluß – Notizen in den anhängenden Dokumentenbeutel und „ab geht die Post“

Info: **servoprax**® GmbH  
4230 Wesel

## Anzeigenschluß

für ANALYTICA-  
Messeausgabe  
Heft 5/90



# 30. März 1990

Für eilige Anfragen: „Service-Karten“ am Schluß des Heftes

# PEPTIDES



## ORPEGEN

organic · peptidic · genetic  
Med.-Molekularbiologische Forschungsgesellschaft mbH  
Czemyring 22 · D-6900 Heidelberg · F.R.G.  
Tel. (06221) 91 05-0 · Fax (06221) 91 05 10 · Telex 4 61 362 orgen d

Analysen.

Gibt es Besonderheiten am N-Terminus und C-Terminus eines Proteins, welche die Faltung dirigieren? Zumindest nicht generell, denn C. K. Luger et al. [Science 243, 206 (1989)] konnten ein TIM-Barrel-Protein „zirkular permutieren“, ohne dessen Aktivität zu verlieren.

Warum werden manche Proteine mit dem Aufwand einer doppelten Vorstufe als Prä-Protein hergestellt? Die Signalsequenz (der Prä-Teil) dient dem Transport und der Pro-Teil wurde oft als zellulärer Schutzmechanismus vor Selbstverdauung angesehen, z. B. bei hydrolytischen Enzymen. Jetzt wissen wir, daß der Pro-Teil für die Faltung absolut essentiell ist, sowohl für Subtilisin [H. Ikemura et al., J. Biol. Chem. 262, 7859 (1987); X. Zhu et al., Nature 339, 483 (1989)] als auch für die nicht verwandte  $\alpha$ -lytische Protease [J. L. Silen und D. A. Agard, Nature 341, 462 (1989)]. Diese Autoren konnten nun zeigen, daß die Pro-Region auch als unabhängig exprimiertes Protein die Faltung der maturen Protease dirigiert. Diese Enzyme bringen also ihre „Anstandsdamen“ (s. unten) gleich mit.

### Faltung mit Anstand

Mit dem provokativem Schlagwort „molekulare Anstandsdamen“ (engl.: molecular chaperones) belegte R. J. Ellis et al. [s. z. B.: Biochem. Soc. Symp. 55, 145 (1989)] die Beobachtung aus vielen anderen Labors, daß an der Proteinfaltung – vor allem von oligomeren Proteinen – Hilfsfaktoren beteiligt sind. Wie eine menschliche Anstandsdame früher dafür sorgte, daß es nur zu gesellschaftlich geduldeten Bindungen kam, sorgt das molekulare Äquivalent dafür, daß nur solche Proteine dimerisieren (oder oligomerisieren), die das auch sollen. Diese Bezeichnung impliziert eine Beschränkung auf oligomere Proteine – aber das trifft möglicherweise nicht ganz zu (s. z. B. unter „Transport“). J. E. Rothman [Cell 59, 591 (1989)] möchte diese Faktoren deshalb lieber „Polypeptide Chain Binding Proteins“ nennen und impliziert damit eine molekulare Erkennung der Peptidkette selbst. Diese Vermutung basiert auf seinen Experimenten mit einer Serie verschiedener Peptide, die an das hsc70-Protein binden [G. C. Flynn et al., Science 245, 385 (1989)]. Einen direkten Hinweis, daß auch bei Protein-Substraten das Rückgrat erkannt wird, gibt es aber nicht.

P. Goloubinoff et al. [Nature 337, 44 (1989)] stellten fest, daß eine Überproduktion der *E. coli*-Proteine GroEL und GroES für den Zusammenbau von Rubisco in der Zelle sehr günstig ist – ein Effekt, der auch *in vitro* demonstriert werden kann [P. Goloubinoff et al., Nature 342, 884 (1989)]. Diese Proteine sind für *E. coli* essentiell [O. Fayet et al., J. Bacteriol. 171, 1379 (1989)] und können verschiedene temperatursensitive Mutanten supprimieren [T. K. van Dyk et al., Nature 342, 451 (1989)]. Das homologe

Protein aus Mitochondrien, genannt hsp60, scheint auch dort an der Proteinfaltung importierter Proteine beteiligt zu sein [M. Y. Cheng et al., Nature 337, 620 (1989); J. Ostermann et al., Nature 341, 125 (1989); D. S. Reading et al., Nature 337, 655 (1989)]. In Eukaryonten spielen auch die Proteine der hsp70-Klasse eine wichtige Rolle. Hefe besitzt ebenfalls ein essentielles Protein [K. Normington et al., Cell 57, 1223 (1989)], das homolog zu dem hsp70-Protein BIP ist (welches eigentlich bei der Untersuchung des Zusammenbaus von Antikörpern entdeckt worden war).

Wie funktionieren diese Faltungsmodulatoren? Sie haben wohl eine Affinität für nicht nativ gefaltete Proteine, aber ihr genauer Mechanismus wird erst aufgeklärt werden können, wenn sie von der Biophysik unter die Lupe genommen werden können. Allerdings konnte zumindest die Struktur eines derartigen Proteins bestimmt werden. Alle Strukturen sind sicher völlig verschieden – dennoch könnten mechanistische Gemeinsamkeiten auftreten. Die Struktur des PapD-Proteins, das in pathogenen *E. coli*-Stämmen am Zusammenbau der Pili beteiligt ist, die den Bakterien eine Befestigung an Körperzellen erlauben, wurde aufgeklärt [A. Holmgren und C. I. Bränden, Nature 342, 248 (1989)]. Überraschenderweise hat das Protein eine Immunglobulin-Topologie – das erste bakterielle Beispiel dafür! Die zwei immunglobulin-artigen Domänen sind so angeordnet, daß durchaus dazwischen die katalytische Oberfläche liegen könnte.

Auch Ubiquitin könnte eine Rolle beim Zusammenbau komplizierter Proteinkomplexe, z. B. des Ribosoms, spielen. Einige ribosomale Proteine werden nämlich in Hefe als natürliche Fusionen zu Ubiquitin synthetisiert und später abgespalten. Diese transiente Bindung scheint für die Biogenese des Ribosoms essentiell zu sein [D. Finley et al., Nature 338, 394 (1989); K. L. Redman und M. Rechsteiner, Nature 338, 438 (1989)].

Was immer es bedeuten mag, aber das Protein, das Angriffsziel für das Immunsuppressivum Cyclosporin ist, hat die Eigenschaft, Peptidbindungen N-terminal zu Prolin zu isomerisieren (Prolin-*cis-trans*-Isomerase) [N. Takahashi et al., Nature 337, 473 (1989); G. Fischer et al., Nature 337, 476 (1989)]. Die Isomerisierung von Peptidbindungen verläuft allerdings auch spontan (natürlich langsamer), und es bleibt weiterhin unklar, ob diese Proteine die Isomerase-Funktion wirklich *in vivo* ausüben. Eine alternative (wenngleich extreme) Hypothese wäre, daß die *cis-trans*-Isomeraseaktivität eine unphysiologische Seitenreaktion eines Proteins sein muß, das *N*-Methylaminosäuren (wie z. B. in Cyclosporin oder vielleicht in einem ähnlichen natürlichen Agens) binden kann. Oder hat statt dessen das Cyclosporin gelernt, ein absolut essentielles Protein mit Hilfe eben von *N*-Methylaminosäuren zu inhibieren (die andere Extrem-Hypothese)? Für die letztere Version spricht allerdings, daß auch der Rezeptor für das Im-

munsuppressivum FK506, ein überhaupt nicht strukturverwandtes Makrolid, Prolin-*cis-trans*-Isomerase-Aktivität besitzt [J. J. Sielierka et al., Nature 341, 755 (1989); M. W. Harding et al., Nature 341, 758 (1989); vgl. auch Nachr. Chem. Techn. Lab. 37, 1299 (1989)]. Noch verwirrender wird die Angelegenheit durch die Beobachtung von B. H. Shieh et al. [Nature 338, 67 (1989)], daß das NinA-Gen, das für die visuelle Transduktion in *Drosophila* wichtig ist, ebenfalls homolog zu einer Prolin-*cis-trans*-Isomerase ist. Die wirkliche Aufklärung der physiologischen Bedeutung könnte vielleicht von *E. coli*-Mutanten kommen, die in diesem Gen (oder mehreren derartigen Genen) defekt sind.

### Protein-Transport

Lange Zeit begannen manche Artikel aus dem Gebiet des Protein-Transports in Prokaryonten mit dem lapidaren Satz: ... . aber ein bakterielles Äquivalent des eukaryontischen Signal Recognition Particle (SRP) konnte bisher nicht demonstriert werden ... . Das stimmt nun nicht mehr ganz. Unabhängig voneinander berichten die Gruppen von Dobberstein [K. Römisch et al., Nature 340, 478 (1989)] und Walter [H. D. Bernstein et al., Nature 340, 482 (1989)], daß *E. coli* ein zu einer SRP-Untereinheit homologes Protein besitzt. Diese Homologie erstreckt sich auch auf den eukaryontischen SRP-Rezeptor. Die Tatsache, daß dieses Protein eine GTP bindende Domäne besitzt, läßt zu Spekulationen eines „Proofreading“ ein, aber zunächst muß die Funktion dieses *E. coli*-Proteins noch direkt demonstriert werden. Für den eukaryontischen SRP-Rezeptor konnte übrigens eine GTP-Bindung bereits direkt nachgewiesen werden, und zwar für die  $\alpha$ -Untereinheit [T. Connolly and R. Gilmore, Cell 57, 599 (1989)].

Wie kommt aber ein Protein wirklich durch die Membran? Diese Frage ist so ungelöst wie je zuvor, aber zumindest konnten D. Vestweber et al. [Nature 341, 205 (1989)] eine Membrankomponente des Mitochondrien-Transports mit einer neuen und sehr eleganten Methode isolieren. Dazu wurde ein besonderer Crosslinker synthetisiert (eine Art Dreifach-Stecker), der ein transportiertes Protein mit dem gefalteten und transport-resistenten Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor (BPTI) verband. Der so „stecken gebliebene“ Komplex wurde über das noch freie dritte Ende des Crosslinkers photochemisch mit dem hypothetischen Transport-Protein verbunden.

Der Zusammenhang zwischen Proteintransport und Faltung war 1989 geprägt durch die „molekularen Anstandsdamen“ (s. dort). Auch in Bakterien konnte *in vivo* eine Bedeutung des GroEL/ES-Proteins für den Transport der  $\beta$ -Lactamase demonstriert werden [N. Kusukawa et al., EMBO J. 8, 3517 (1989)]. Dieses Enzym – es könnte damit typisch für alle transportierten Proteine sein – faltet sich als Präprotein langsamer als

nach der Prozessierung [A. A. Laminet und A. Plückthun, EMBO J. 8, 1469 (1989)]. Der intrinsische Effekt der langsamen Faltung des Präproteins wird möglicherweise durch solche anderen Faltungsmodulatoren weiter verstärkt.

Kann eigentlich jedes Protein mit Hilfe einer Signalsequenz in Bakterien transportiert werden? Die Unvereinbarkeit gehäufter positiver Ladungen mit dem Proteintransport – lange postuliert – wurde jetzt von mehreren Arbeitsgruppen direkt demonstriert: G. von Heijne kehrte die Orientierung einer Membrandomäne der *E. coli*-Signalpeptidase durch Einfügen von positiven Resten um [Nature 341, 456 (1989)]. J. R. Knowles und Mitarbeiter konnten zeigen, daß gehäufte positive Reste direkt am N-Terminus eines Proteins dieses untransportierbar machen können [R. G. Summers und J. R. Knowles, J. Biol. Chem. 264, 20074 (1989); R. G. Summers et al., J. Biol. Chem. 264, 20082 (1989)]. Interessanterweise gibt es dabei einen Unterschied zwischen Arginin und Lysin. Das spricht stark dafür, daß diese Aminosäuren wirklich deprotoniert werden müssen, was bei Arginin aufgrund des höheren  $pK_a$ -Wertes vielleicht nicht möglich ist.

## Antikörper

Warum gibt es eigentlich keine „natürlich vorkommenden“ katalytischen Antikörper, ist eine immer wieder auftauchende Frage. Eine überraschende Antwort wurde jetzt von S. Paul et al. [Science 244, 1158 (1989)] gefunden: Es gibt sie durchaus! Nach einer menschlichen Autoimmunantwort auf das Vasoactive Intestinal Peptide wurde eine IgG-Fraktion isoliert, die das Peptid spalten kann. Eine interessante Frage, die diese Entdeckung aufwirft, ist, ob der Verlauf der Krankheit durch die katalytische Aktivität des Antikörpers beeinflusst wird. Ein Antikörper, der ein Peptid spaltet (wenngleich ähnlich langsam), konnte auch von B. L. Iverson und R. A. Lerner [Science 243, 1184 (1989)] spezifisch erzeugt werden. Dabei wurde ein Substratanalogon mit einem Metall-Chelator komplexiert, um eine Metall-Chelat-Bindungsstelle zu erzeugen. So konnte der Antikörper das Metallchelat zur Katalyse benutzen.

Haben monoklonale Antikörper bereits ausgedient? Sicher nicht, aber eine Reihe von Forschungsgruppen arbeitet nun intensiv an der Frage, ob das gesamte Repertoire der Antikörper in Bakterien exprimiert und auch selektiert werden kann. Die Statistik ist sehr ungünstig – der Bruchteil der Antikörpermoleküle, die ein Antigen effizient binden, ist winzig. Deshalb gehen alle derzeitigen Versuche doch von immunisierten Mäusen aus, um den Anteil der bindenden Moleküle zu erhöhen.

Zwei Techniken mußten zusammenkommen, um diese Entwicklung zu ermöglichen. Erstens hat die Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) die Klonierung von Antikörpern enorm beschleunigt.

Verschiedene Varianten derselben Idee, nämlich das „Priming“ mit Sequenzen von konservierten Regionen, wurde im letzten Jahr gleich in mehreren Labors entwickelt [s. z. B. L. Sastry et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 86, 5728 (1989); R. Orlandi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 86, 3833 (1989); J. W. Larrick et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 160, 1250 (1989); Biotechnology 7, 934 (1989)]. Die zweite Voraussetzung, die Expression von funktionalen Fv- und Fab-Fragmenten in *E. coli*, war bereits davor entwickelt worden [A. Skerra und A. Plückthun, Science 240, 1038 (1988); M. Better et al., Science 240, 1041 (1988)]. Die Kombination beider Ansätze wurde nun von E. S. Ward et al. [Nature 341, 544 (1989)] beschrieben, die ein Repertoire an  $V_H$ -Domänen exprimierten. Obwohl die  $V_H$ -Domänen allein das Antigen erkennen (zumindest bei Protein-Antigenen), scheint die Handhabung dieser „halben“ Antikörperaschen auf Grund der schlechten Löslichkeit schwierig. W. D. Huse et al. [Science 246, 1275 (1989)] setzten daher auf die Expression beider Ketten des Fab-Fragments, von denen eine Bank in einem  $\lambda$ -Vektor angelegt wurde, aus dem ein Expressionsvektor ausgeschnitten werden kann.

Eine Analyse des bisherigen Wissensstandes über Antikörper-Loops präsentieren C. Chothia et al. [Nature 342, 877 (1989)]. Sie haben versucht, die bekannten Strukturen zu klassifizieren und nach strukturdeterminierenden Sequenzen zu gliedern. Sicherlich wird ihre Einteilung nicht bei allen Fachkollegen uneingeschränkte Zustimmung finden und vielfältige Diskussionen anregen. Antikörper konnten übrigens auch in Pflanzen exprimiert werden [A. Hiatt et al., Nature 342, 76 (1989)], aber eine produktionstechnische Bedeutung ist wegen der geringen Ausbeute und der Schwierigkeit der Handhabung in naher Zukunft doch eher unwahrscheinlich.

## Gentechnologie (Methodisches)

Kann die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) die Klonierungstechnik revolutionieren? Zumindest auf dem Papier lassen sich elegante Konstruktionsverfahren für Vektoren planen, die in der Tat auch in der Praxis zu funktionieren scheinen [s. z. B. F. Vallette et al., Nucl. Acid Res. 17, 723 (1989); L. Dulau et al., Nucl. Acid Res. 17, 2873 (1989); S. E. Mole et al., Nucl. Acid Res. 17, 3319 (1989); J. Yon und M. Fried, Nucl. Acid Res. 17, 4895 (1989)]. Aber ist die Fehlerrate wirklich so gering, daß nicht hinterher der ganze Vektor sequenziert werden muß? Diese Frage ist noch nicht abschließend beantwortet, und hier steckt sicher noch das größte Problem, das die herkömmlichen Vektorkonstruktions- und Mutagenesetechniken überlegen erscheinen läßt. Alle bisherigen Anzeichen deuten auf wesentlich höhere Fehlerraten bei der PCR als bei üblichen Klonierungsverfahren hin. Eine Pflichtlektüre für alle PCR-Anwender sollte

übrigens der kurze Artikel von S. Kwok und R. Higuchi sein [Nature 339, 237 (1989)]. Außerdem sei auf einen Übersichtsartikel hingewiesen, bei dem der Erfinder der Methode Coautor ist [T. J. White et al., Trends Genet. 5, 185 (1989)].

Auch Benutzer synthetischer Oligonucleotide sollten sich der chemischen Ursachen möglicher Mutations- und Fehlerquellen bewußt sein [B. F. Bauer und W. M. Holmes, Nucl. Acid Res. 17, 812 (1989); I. K. Farrance et al., Nucl. Acid Res. 17, 1231 (1989)]. Ein neues Computerprogramm für die Planung von Oligonucleotiden sollte vor der Primersynthese zu Rate gezogen werden [W. Rychlik und R. E. Rhoads, Nucl. Acid Res. 17, 8543 (1989)].

Dagegen müssen sich Klonierer genomischer DNA aus Pflanzen und Tieren, die ja 5-Methylcytosin und repetitive Sequenzen enthalten kann, über den geeigneten *E. coli*-Wirtsstamm Gedanken machen [D. M. Woodcock et al., Nucl. Acid Res. 17, 3469 (1989); R. J. G. Haché et al., Nucl. Acid Res. 17, 3609 (1989)]. Eine sehr elegante Methode, die ein ganzes Spektrum von Tricks aus der Bakteriengenetik benutzt, um extrem große DNA-Fragmente in *E. coli*-Plasmiden zu klonieren, haben M. O'Connor et al. beschrieben [Science 244, 1307 (1989)].

Recht unerwartet war wohl die Beobachtung von J. A. Heinemann und G. F. Sprague [Nature 340, 205 (1989)], daß *E. coli* genetisches Material durch Konjugation auf Hefe übertragen kann. Sogar verschiedene Zellkontakt- und Transferfunktionen und verschiedene Transfer-Origins und Mobilisierungssysteme waren funktionell! Dieser Befund lädt natürlich zu Spekulationen über die evolutionäre Bedeutung solcher Ereignisse wie auch über die Möglichkeit der Übertragung auf Tierzellen ein, mahnt aber auf jeden Fall auch zur besonderen Vorsicht bei solchen Experimenten.

## Biophysik von DNA und RNA

Auch Jahrzehnte nach Watson und Crick ist das Gebiet der DNA-Struktur immer noch voller Überraschungen. So berichten J. Doucet et al. [Nature 337, 190 (1989)] von der erstaunlichen Koexistenz von A- und B-DNA im gleichen Kristall.

Ein ebenso einfaches wie geniales Experiment wurde durchgeführt, um den Mechanismus der Elektrophorese besser zu verstehen [D. C. Schwartz und M. Koval, Nature 338, 520 (1989); S. B. Smith et al., Science 243, 203 (1989)]: die direkte mikroskopische Beobachtung einzelner DNA-Moleküle während der Elektrophorese (vgl. auch im Rückblick „Theoretische Chemie“ auf S. 242). Damit könnte vielleicht die Grundlage für ein quantitatives Verständnis der Pulsfeld-Gelelektrophorese und für eine weitere Verbesserung dieser Technik gelegt werden. Bisher haben Biologen mit großem Vertrauen durch einen Knopfdruck das Programm von M. Zuker gestartet, das die optimale

Basenpaarung eines RNA-Moleküls berechnet. Oft gibt es jedoch andere Lösungen mit sehr ähnlicher Energie, die kein einziges Basenpaar mit der ersten Lösung gemeinsam haben. Die berechnete Lösung hat also nur einen sehr geringen Aussagegrad. Nun liefert derselbe Autor einen neuen Algorithmus, der einen Meilenstein beim quantitativen Verständnis der RNA-Faltung darstellen könnte [M. Zuker, *Science* 244, 48 (1989)]. Das gleiche Problem haben auf andere Art auch G. Benedetti et al. [*Nucl. Acid Res.* 17, 5149 (1989)] gelöst. Die alles entscheidende Frage bei diesen Berechnungen ist nämlich die der Eindeutigkeit der Struktur oder, anders gesagt, wie viele andere Sekundär-Strukturen mit ähnlicher Energie es noch gibt. Die neuen Programme greifen genau bei dieser Frage an. Nur durch eine solche Analyse wird es jemals möglich sein, z. B. den Zusammenhang zwischen mRNA-Sekundärstruktur und Translation oder die topologischen Gemeinsamkeiten wenig verwandter RNA-Spezies zu verstehen.

### Neues zum Genetischen Code und der Translation

Beim universellen Genetischen Code gibt es eine neue Ausnahme: In der Hefe *Candida cylindracea* wird CUG nicht als Leucin, sondern als Serin gelesen [Y. Kawaguchi et al., *Nature* 341, 164 (1989)]. Die Bedeutung von CUA ist noch unbekannt. Das setzt die Liste der Ausnahmen fort, denn z. B. in *Paramecium*, *Mycoplasma* und *Tetrahymena* werden Stopcodons zur Codierung von Aminosäuren benutzt.

Auch in Pflanzenmitochondrien schien der universelle Genetische Code nicht immer zu gelten. Jetzt konnte allerdings von J. M. Gualberto et al. [*Nature* 341, 660 (1989)] und von P. S. Covello und M. W. Gray [*Nature* 341, 662 (1989)] gezeigt werden, daß die RNA ediert wird (C wird in U umgewandelt), und der universelle Code sehr wohl gilt. Damit wächst die Liste der Phänomene, in denen die Sequenz der DNA nicht direkt derjenigen der translatierten mRNA entspricht. Diese außergewöhnlichen Phänomene wurden übrigens von L. Simpson und J. Shaw zusammengefaßt [*Cell* 57, 355 (1989)].

Selenocystein wird in manche *E. coli*-Proteine durch eine spezielle tRNA eingebaut, die ein UGA-Stopcodon erkennt und Serin akzeptiert, das dann an der tRNA in Selenocystein umgewandelt wird. Diese tRNA hat eine recht ungewöhnliche Struktur [A. Schön et al., *Nucl. Acid Res.* 17, 7159 (1989)]. Der Einbau der Aminosäure erfordert einen besonderen Elongationsfaktor [K. Forchhammer et al., *Nature* 342, 453 (1989)]. Eine allgemeine biosynthetische Inkorporation von nicht-natürlichen Aminosäuren selektiv an bestimmten Stellen eines Proteins ist ein Ziel, das viele Biochemiker interessiert. C. J. Noren et al. [*Science* 244, 182 (1989)] haben eine Idee von Hechts

Gruppe [J. R. Roesser et al., *Biochemistry* 25, 6361 (1986)] wieder aufgegriffen, nämlich von chemisch miß-acylierten tRNAs auszugehen. Sie benutzten dazu eine Phe-tRNA, veränderten sie in eine Suppressor-tRNA und miß-acylierten sie. Ein in  $\beta$ -Lactamase generiertes Stopcodon wurde so mit den nicht-natürlichen Aminosäuren in einer *in-vitro*-Translation supprimiert. Es ist allerdings kaum anzunehmen, daß mit dieser Methode in absehbarer Zukunft genügend Material für biochemische Untersuchungen hergestellt werden kann, und sie dürfte deshalb für einige Zeit eher eine Laborkuriosität bleiben.

H. Kanno et al. [*Cell* 58, 595 (1989)] machten die vielleicht seltsamste (und Skepsis provozierende) Beobachtung des molekularbiologischen Jahres an der Sequenz der menschlichen Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH). Dieses Protein ist ein Homo-Oligomer, das beim Menschen in zwei Formen vorzukommen scheint. Während die Sequenz der einen der beiden Formen mit der auf dem X-Chromosom übereinstimmt, gibt es bei der anderen Form eine Diskrepanz stromaufwärts von Aminosäure 36. Diese N-terminale Region scheint auf dem Chromosom 6 angeordnet zu sein, allerdings in einem für weitere 290 Aminosäuren offenen Leserahmen, der gar nichts mit G-6-P-DH zu tun hat! Da keine cDNA gefunden werden konnte, die für Trans-Splicing sprechen würde, postulieren die Autoren u. a. eine Art „Kreuz-Translation“ zweier mRNA-Moleküle. Die Liste möglicher Artefakte, die zu eben solchen Befunden führen könnte, ist lang, und das letzte Kontrollexperiment ist hier sicher noch nicht gemacht.

### Sequenzmotive: Hits '89

Die Popularität ganzer Forschungszweige scheint manchmal hauptsächlich durch die leichte Auffindbarkeit von Sequenzmotiven bestimmt zu sein. Das ist ja (im Gegensatz zur Strukturbestimmung) mit einem PC in Sekunden möglich. Hier einige neuere Beispiele (in keiner Weise vollständig):

**Leucin-Reißverschlüsse** (engl.: leucine zippers): Sie wurden als eine besondere Kontaktfläche auf Helices einiger eukaryontischer Proteine postuliert, mit deren Hilfe bestimmte Proteine dimerisieren können. Die Peptidsynthese und CD-Spektroskopie gaben die Antwort auf die Frage, wie die Struktur aussieht [E. K. O'Shea et al., *Science* 243, 538 (1989)]. Es handelt sich um die parallele Assoziation von Helices, die wahrscheinlich eine „coiled-coil“-Struktur annehmen und über die verzweigten Seitenketten von Leucin, die alle auf einer Seite der Helix herausragen, verzahnt sein könnten. Die Reißverschlüsse können durchaus eine Spezifität haben und illegitime Kombinationen nicht erlauben [T. Kouzarides und E. Ziff, *Nature* 340, 568 (1989); J. W. Sellers und K. Struhl, *Nature* 341, 74 (1989)]. Die Zahl weiterer Publikationen, die sich

mit neuen Proteinen und deren Funktion beschäftigen, die Leucin-Reißverschlüsse enthalten könnten, ist viel zu groß, um hier referiert zu werden.

**Methionin-Bürstenhaare** (engl.: methionine bristles): Angeordnet auf der unpolaren Seite einer amphipatischen Helix könnten sie aufgrund ihrer Flexibilität und Hydrophobizität besonders dazu geeignet sein, im Signal Recognition Particle (SRP) oder in ähnlichen Proteinen die große Vielfalt verschiedener hydrophober Signalsequenzen zu erkennen – das zumindest meinen H. D. Bernstein et al. [*Nature* 340, 482 (1989)]. Die Bürsten sollen sich also gerade nicht so fest verzahnen wie die Reißverschlüsse.

**Zink-Finger** (engl.: zinc finger): Es handelt sich um ein kleines (manchmal repetitives) Strukturmotiv einiger DNA-bindender Proteine. Die Struktur konnte jetzt mit der NMR-Spektroskopie aufgeklärt werden [M. S. Lee et al., *Science* 245, 635 (1989)]. Das vorherige Modell von J. M. Berg [*Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 99 (1988)] stellte sich als sehr gut heraus, besser als das von T. J. Gibson et al. [*Protein Eng.* 2, 209 (1989)], in dem die relative Anordnung der Sekundärstrukturelemente nicht ganz korrekt war. Es soll hier erst gar kein Versuch unternommen werden, molekularbiologische Zn-Finger-Arbeiten zusammenzufassen, da sie viel zu zahlreich sind.

Andreas Plückthun  
MPI für Biochemie  
Martinsried

### Entwicklung von Drosophila

Auf kaum einem anderen Gebiet werden derzeit so viele Fortschritte gemacht wie bei der Entschlüsselung der Mechanismen, die der Embryonalentwicklung von *Drosophila* zugrunde liegen. Die folgende Auswahl unter den 1989 erschienenen Arbeiten kann deshalb nur exemplarisch sein. So wurde der gesamte Bereich der Geschlechts-Differenzierung und der Nervenzell-Entwicklung ausgespart.

Aus den vielen genetischen Untersuchungen und der Charakterisierung von Mutanten weiß man, daß es sich bei der *Drosophila*-Entwicklung um ein nach dem Prinzip einer Dominokette gegliedertes hierarchisches System handelt: Bestimmte Gene erzeugen Signale, die von nachgeschalteten Genen gelesen werden und die dann ihrerseits Information weiterreichen. Die Gene selbst sind großenteils bekannt, auch die zeitliche Abfolge ihrer Aktivitäten. Es beginnt mit den „maternal effect“-Genen, auf welche die „gap“- und dann die „pair-rule“-Gene folgen. Im letzten Jahresrückblick wurde berichtet, daß die anteriore Region des Embryos durch einen morphogenen Gradienten des *bicoid*-Proteins organisiert wird. Was ist die Funktion von *bicoid*? W. Driever und C. Nüsslein-Volhard [*Nature* 337, 138 (1989)] zeigen, daß dessen Proteinprodukt die Transcription von *hunchback* aktiviert, indem es an mehrere regulatorische Regionen