Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen

Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences

médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

**Band:** 25 (1969)

**Artikel:** Struktur und Funktion der transfer-RNS

Autor: Staehelin, M.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-307759

### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF: 25.11.2025** 

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

## Biologische Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel Pharmazeutische Abteilung

# Struktur und Funktion der transfer-RNS

### M. Staehelin

Transfer-Ribonukleinsäuren sind vor etwa zehn Jahren von Tissières als eine relativ einheitliche Klasse von Substanzen mit einer Sedimentationskonstante von 4 S und einem Molekulargewicht von etwa 25 000 genau charakterisiert worden. Die transfer-Ribonukleinsäuren sind diejenigen Moleküle, welche die genetische Information, welche in der Basensequenz der messenger-RNS liegt, abgreifen und für die Synthese einer spezifischen Aminosäuresequenz verwerten können. An Hand des genetischen Kodes läßt es sich errechnen, daß dazu mindestens 32 verschiedene transfer-Ribonukleinsäuren notwendig sind; wahrscheinlich ist ihre Zahl in einer lebenden Zelle jedoch viel größer.

Bis heute sind die Strukturen von je 5 transfer-Ribonukleinsäuren (1–5) aus Hefen, je 3 aus E. coli (6–8) und von 1 tierischen Ursprungs (9) bekannt geworden. Allen bisher bekannten Strukturen ist gemeinsam, daß sich die Primärsequenz in Form eines Kleeblatts falten läßt, wobei die beiden Enden sehr nahe zueinander zu liegen kommen (s. Abb. 1). In dieser Struktur ist auch die Anzahl der möglichen Basenpaarungen in allen transfer-Ribonukleinsäuren gleich, nämlich 7 Basenpaare in der Region nahe der beiden Enden, 3 Basenpaare im Stiele der linken Schlinge, welche durch einen besonders hohen Gehalt an Dihydrouridin gekennzeichnet ist, 5 Basenpaare im Stiel der unteren Schlinge, welche die für die Ablesung des genetischen Kodes notwendigen Nukleotide trägt, und 5 Basenpaare im Stiel der rechten Schlinge, welche durch die gemeinsame Sequenz G-T-Ps-C-Pu ausgezeichnet ist. Eine vierte Schlinge, zwischen den beiden letztgenannten, der sogenannte «mini-loop», ist von Nukleinsäure zu Nukleinsäure sehr variabel.

Allen bisher bekannten transfer-Ribonukleinsäuren gemeinsam ist auch ihr hoher Gehalt an ungewöhnlichen Nukleotiden. Folgende Umlagerungen bzw. Basenabwandlungen sind bisher in den Nukleotiden der transfer-Ribonukleinsäure beschrieben worden:

Methylierung Hydrogenierung Desaminierung Azylierung

Isopentenylierung Transglykosidierung Thiolierung Karboxymethylierung

Tabelle 1
1-Methyladeninhaltige Sequenzen

	Methylierung in vitro		Endogenes 1-Methyladenin		
	E. coli tRNS	Hefe tRNS	E. coli tRNS	Hefe tRNS	Leber tRNS
Basenreste pro tRNS-Kette	0.9	0.2		0.55	0.90
	0.9	0.2	×	0.55	0.90
Sequenzen					
Py-A-1MeA-U	%	4%		0.05	0.05
Py-G-1MeA-U	25	35%	\$2 <del></del>	0.20	0.20
Pv-G-1MeA-C	X	8%		0.05	0.10
Py-A-1MeA-A-U	90%	20%	14-30	0.10	0.30
Py-G-1MeA-A-U	10%	23%	14001	0.10	0.20
Py-G-1MeA-A-C	termetons Merror	10%		0.05	0.05

Interessanterweise nimmt der Gehalt an modifizierten Nukleotiden im Laufe der Evolution zu. Währenddem die transfer-Ribonukleinsäure von Schleimpilzen fast nur aus normalen Basen besteht, enthält die transfer-Ribonukleinsäure von E. coli ca. 5–10%, diejenige von Hefe 10–15%, diejenige tierischer Gewebe über 20% modifizierter Nukleotide. An Hand der Primärstruktur der bisher bekannten transfer-Ribonukleinsäuren (s. Tab. 1) ist ersichtlich, daß sich in der Lokalisation dieser seltenen Basen gewisse Gesetzmäßigkeiten feststellen lassen. So ist, falls vorhanden, 1-Methyl-Guanin immer im 9., 2-Methyl-Guanin immer im 10. Nukleotid vom 5'-Ende, 1-Methyl-Adenin immer im 19., Thymin immer im 23. Nukleotid vom 3'-Ende lokalisiert. Di-Methyl-G findet sich zwischen den Stielen der Dihydro-U-Schlinge und der Antikodon-Schlinge, und Inosin ist oft eine der drei Basen der Antikodon-Schlinge.

Gemeinsam mit Dr. BAGULEY haben wir die Frage zu beantworten gesucht, wodurch die Spezifität der Lokalisation dieser modifizierten Basen bedingt sei. Zu diesem Zweck haben wir zwei Methylasen isoliert, welche imstande sind, Nukleotide in ganz bestimmter Weise zu methylieren, nämlich Guanin zu 2-Methyl-Guanin und Adenin zu 1-Methyl-Adenin. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß E.-coli-transfer-RNS sehr wenig dieser beiden methylierten Basen enthält, welche jedoch in Hefe transfer-Ribonukleinsäuren an ganz bestimmten Stellen vorkommen. Deshalb wurde zuerst einmal die Methylierung von E.-coli-transfer-RNS durch die tierischen Enzyme mit Hilfe von S-Adenosylmethionin als Substrat untersucht, und nach partiellem Abbau der tRNS die Sequenzen bestimmt, in welchen die methylierten Nukleotide lokalisiert waren. Dabei zeigte es sich, daß durch die beiden Enzyme Guanin und Adenosin nur in ganz bestimmten Sequenzen methyliert wurden, so daß nach dem Abbau mit Pankreasribonuklease 2-Methylguanin nur im Trinukleotid A-2MeG-C, und 1MeA zu 80% im Tetranukleotid

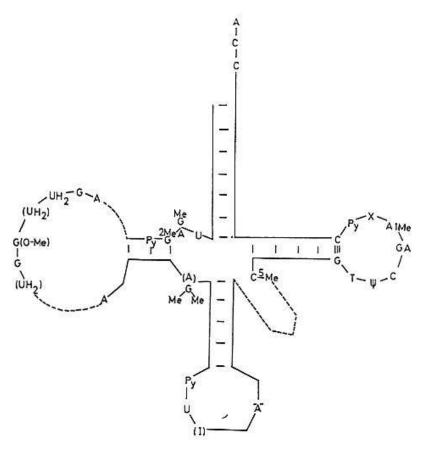


Abb. 1. Kleeblattmodell der transfer-RNS mit den Basen, die den bisher bekannten tRNS gemeinsam sind.

G-1MeA-A-U und zu einer ganz geringen Menge im Tetranukleotid A-1ME-A-U zu finden waren [10].

Diese Versuche sprechen für eine strenge Basenspezifität der Methylierung. Insbesondere ist es auffallend, daß die Methylierung von E.-coli-RNS in vitro zu den genau gleichen methylierten Sequenzen führt, wie sie in der Hefe-transfer-RNS für das 2MeG gefunden wurde. Beim 1MeA dagegen besteht eine Diskrepanz zwischen den In-vitro-Versuchen mit E.-coli-RNA und der Struktur der bekannten Hefe-transfer-RNS, indem hier in vitro ein Tetranukleotid methyliert wird, währenddem in vivo das 1MeA nach Pankreas-RNase-Hydrolyse im Trinukleotid vorliegt.

Leber-transfer-RNS hat einen Gehalt von 1MeA, der etwa einem Basenrest pro tRNS-Molekül entspricht, währenddem Hefe tRNS nur etwa  $\frac{2}{3}$  so viel 1MeA enthält. Wir haben daher versucht, auch Hefe-transfer-RNS in vitro zu methylieren; dabei konnten in vitro in Hefe-transfer-RNS noch weitere 0,2 Basenreste 1MeA eingeführt werden. Nach Spaltung mit Pankreas-RNase zeigte es sich, daß sowohl das endogen vorhandene 1MeA als auch das nach In-vitro-Methylierung gebildete 1MeA sich in 6 verschiedenen Sequenzen fand, nämlich 3 Trinukleotiden und 3 Tetranukleotiden (s. Tab. 1). Dies zeigt, daß die Spezifität des Enzyms für eine bestimmte Sequenz doch nicht so groß ist, wie dies von der E.-coli-transfer-RNS her vermutet wurde, sondern spricht dafür, daß eher ein ganz bestimmtes Nukleotid in der drei-

Tabelle 2

Der genetische Kode

1. Base (5/-Ende)	2. Base	3. Base			
	U	C	Α	G	(3/-Ende)
U	Phe	Ser	Tyr	$\mathbf{Cys}$	U
	Phe	Ser	$\mathbf{Tyr}$	$\mathbf{Cys}$	$\mathbf{C}$
	Leu	Ser	Ochre*	?	A
	Leu	Ser	Amber*	Try	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	$\mathbf{C}$
	Leu	Pro	GluN	Arg	C A
	Leu	Pro	GluN	Arg	G
A	Heu	Thr	AspN	Ser	U
	Ileu	Thr	$\Lambda \mathrm{spN}$	Ser	C
	Ileu?	Thr	Lys	Arg	C A
	Met, F-Met	Thr	Lys	Arg	$\mathbf{G}$
G	Val	Ala	$\Lambda sp$	Gly	$\mathbf{U}$
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	C A G
	Val, F-Met	Ala	Glu	Gly	G

<sup>\*</sup> U A A und U A G = Kettenende.

dimensionalen Konfiguration der transfer-RNS vom Enzym erkannt wird. Daß tatsächlich durch das Enzym in vitro auch das gleiche Nukleotid, d.h. das 19. Nukleotid vom 3'-Ende methyliert wird, konnte an Hand von reiner Hefe Serin-transfer-RNS gezeigt werden, die bei Methylierung in vitro das Tetranukleotid A-1MeA A-U gibt, denn an Hand der bekannten Primärsequenz der Hefe-Serin-transfer-RNS kann dieses Tetranukleotid genau lokalisiert werden. Daß nur eine ganz bestimmte Anzahl von Sequenzen methyliert wird, dürfte daher weniger auf der Spezifität des Enzyms beruhen als auf der Tatsache, daß in dieser Region das 19. Nukleotid vom 3'-Ende immer ein Adenosin ist, das auf ein Purin und die drei gemeinsamen Pyrimidinnukleotide T-PsU-C folgt. Abb. 1 gibt die gemeinsamen Basen in der Umgebung des 1-Methyladenins in den bekannten tRNS wieder.

Von besonderer Bedeutung sind in der transfer-RNS natürlich die drei Nukleotide des Antikodons, d. h. die drei Basen, welche mit den drei Basen der messenger-RNS eine Basenpaarung eingehen können. Der genetische Kode (Tab. 2) besagt, daß alle 64 möglichen Trinukleotidsequenzen eine Bedeutung haben, wobei die ersten beiden Basen jeweils eine ganz bestimmte Aminosäure definieren, während die dritte Base insofern weniger bedeutungsvoll ist, als für die gleiche Aminosäure 2, 3 oder sogar 4 Basen die gleiche Aminosäure bestimmen können. Aus dieser Tatsache sowie aus dem Umstand.

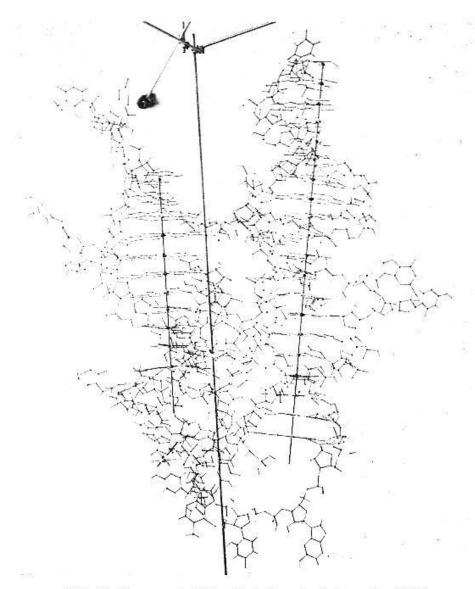


Abb. 2. Stereomodell der tierischen Serin-transfer-RNS.

daß verschiedene transfer-Ribonukleinsäuren in der Antikodonregion Inosin enthalten, hat Crick [11] vor einigen Jahren die sogenannte «wobble»-Hypothese entwickelt. Diese besagt, daß nur die Basenpaarungen der ersten zwei Basen klassische Basenpaarungen, also G-C und A-U sein müssen, während bei der dritten Base auch sogenannte unorthodoxe Basenpaarungen möglich sind. Für solche unorthodoxe Basenpaarungen hat Crick einerseits eine Paarung von Inosin mit Uracyl, Cytosin oder Adenin und andererseits eine Paarung von Guanin mit Uracyl vorgeschlagen. Bei den bisher bekannten transfer-Ribonukleinsäuren ist noch keine Ausnahme von dieser Regel gefunden worden, dagegen wurde der eigentliche Beweis, nämlich die Aufklärung von zwei oder mehr transfer-Ribonukleinsäuren, welche die gleiche Aminosäure binden, aber durch verschiedene messenger-Trinukleotide an die Ribosomen gebunden werden, noch nicht erbracht worden. Es ist uns nun gelungen, aus Rattenleber-tRNS drei verschiedene Serin-tRNS-Spezies zu isolieren, welche sich dadurch unterscheiden, daß sie durch verschiedene

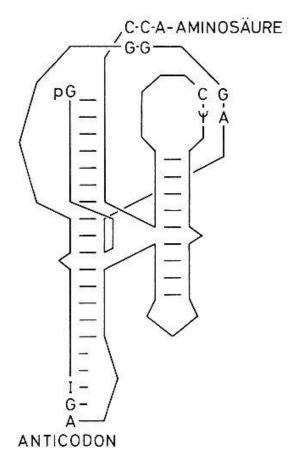


Abb. 3. Schematische Darstellung der dem Modell in Abb. 2 zugrunde liegenden Faltung der Serin-tRNS.

messenger-Trinukleotide an Ribcsomen gebunden werden. Dabei zeigte sich für die 6 Serin-Kodons folgende Verteilung:

Serin-tRNS I	U-C-U	U-C-C	U-C-A
Serin-tRNS II	U-C-G		
Serin-tRNS III	A-G-C	A-G-U	

Obwohl erst die tRNS I in ihrer Struktur vollständig aufgeklärt werden konnte, ließ sich doch bereits die Sequenz der Nukleotide und Antikodons mit Sicherheit bestimmen. Dabei zeigte sich, daß die drei Nukleotide in allen drei Serin-tRNS-Spezies verschieden sind, und zwar enthält Serin-tRNS I als Antikodon I-G-A, Serin-tRNS II C-G-A und Serin-tRNS III G-C-U. Nachdem dies genau die Antikodons sind, welche nach der «wobble»-Hypothese vorauszusagen waren, dürfte hiermit der Beweis für die Gültigkeit dieser Hypothese erbracht sein.

Die Fähigkeit der transfer-Ribonukleinsäuren, den genetischen Kode in bestimmte Aminosäuresequenzen übersetzen zu können, beruht einerseits auf einer spezifischen Basenpaarung der transfer-RNS mit den messenger-Trinukleotiden, andererseits aber auch auf einer spezifischen Bindung der einzelnen Aminosäuren durch bestimmte Synthetasen an die entsprechenden transfer-RNS-Spezies. Da die drei Leber-Serin-tRNS sowie die Hefe-SerintRNS doch gewisse Unterschiede in ihrer Primärstruktur zeigen, war es von

Interesse, die Bindung der einzelnen tRNS an das Enzym zu untersuchen. Mit Hilfe eines 600fach gereinigten Enzyms aus Rattenlebern ließ sich die Affinität der einzelnen transfer-RNS für die Synthetase mit einiger Genauigkeit bestimmen. Dabei zeigte es sich, daß alle vier untersuchten SerintRNS-Spezies die genau gleich starke Affinität für das Enzym besitzen. Es muß daher geschlossen werden, daß für diese Bindung an das Enzym solche Regionen der transfer-RNS in Frage kommen, welche für alle vier tRNS-Spezies identisch sind. Ein Vergleich der Struktur der vier Spezies zeigt, daß die einzige Region, welche bei allen vier Spezies identisch ist, die Dihydrouridin enthaltende Schlinge ist. Von Cramer [12] wurde schon vorgeschlagen, daß diese Schlinge sehr nahe beim 3'-Ende der transfer-RNS, welche die Aminosäure bindet, liegen kann, da alle bekannten transfer-RNS in dieser Schlinge einerseits zwei benachbarte Guanine enthalten und andererseits alle auf das terminale Adenosin folgend zwei Cytosinreste besitzen, was auf eine spezifische Basenpaarung hindeutet. Ein in dieser Art und Weise gestaltetes dreidimensionales Modell der transfer-RNS könnte die gleiche Affinität aller vier Serin-tRNS-Spezies an das gleiche Enzym erklären (Abb. 3).

## Zusammenfassung

Anhand der bisher bekannten Nukleotidsequenzen der transfer-Ribonukleinsäuren werden die gemeinsamen Strukturen aufgezeigt. Die Methylierung von Nukleotiden an ganz bestimmten Stellen des Moleküls spricht dafür, daß die Enzyme eine räumliche Struktur der Nukleinsäure erkennen.
Drei serinspezifische transfer-Ribonukleinsäuren konnten aus Rattenleber
isoliert werden, die verschiedene genetische Code erkennen können. Die
Basensequenzen in der Anticodonregion entsprechen der «wobble»-Hypothese von Crick. Trotz ihrer verschiedenen Struktur wurden die drei Nukleinsäuren sowie auch Hefe Serin-tRNS von Aminoacyl-tRNS-Synthetase gleich
gut als Substrat erkannt, was für eine identische Region in der räumlichen
Struktur spricht. Ein Modell der Serin-tRNS aus Rattenleber zeigt eine
Möglichkeit, wie die tRNS dreidimensional gefaltet sein könnte, bei welchem
die allen vier tRNS gemeinsame Dihydrouridinschlinge nahe zum Angriffspunkt des Enzyms zu liegen kommt.

### Résumé

On montre les traits communs de la structure des acides ribonucléiques de transfert (tARN) sur la base de séquences connues actuellement. La méthylation de nucléotides à des endroits bien déterminés de la molécule indique que ces enzymes reconnaissent une structure tridimentionnelle. Les trois tARN de la sérine, préparés à partir de foie de rat, peuvent reconnaître différents codes génétiques. Les séquences des bases dans la région de leurs anticodons respectifs correspondent à l'hypothèse du «wobble», proposée par Crick. Malgré la diversité de leurs structures, les trois tARN, tout comme le

tARN de levure spécifique pour la sérine, sont tous reconnus également bien comme substrats par l'aminoacyl-tARN-synthétase. Ceci est un argument en faveur d'une région identique dans l'arrangement stérique de ces 4 molécules. On présente un modèle de tARN isolé à partir de foie de rat, qui montre comment la molécule pourrait être pliée de façon à ce que la boucle de la dihydrouridine commune aux 4 structures soit placée près du site accepteur.

#### Riassunto

Vengono messe in rilievo le strutture comuni a tutti gli acidi ribonucleici (ARN) di trasferta. Il fatto che la metilazione dei nucleotidi avvenga in ben determinati siti della molecola depone per l'ipotesi che gli enzimi riconoscono la struttura spaziale dell'acido nucleico. Si è riusciti ad isolare, dal fegato di ratto, tre acidi ribonucleici di trasferta in cui sono riconoscibili codici genetici diversi. Le sequenze di base nella regione anticodonica corrispondono all'ipotesi «wobble» di Crick. Malgrado la struttura diversa i tre acidi nucleici nonché il serina-tARN del lievito vengono riconosciuti ugualmente bene dalla aminoacil-tARN-sintetasi, il che depone in favore d'una regione identica nella struttura spaziale. Un modello del serin-tARN del fegato di ratto indica come il tARN possa essere tridimensionalmente ripiegato, in modo che l'ansa diidrouridinica, comune ai quattro tARN, venga a situarsi nei pressi del punto d'attacco dell'enzima.

# Summary

The common features of all known RNAs is shown. The site specificity of certain methylases and the lack of a specificity for any base sequence indicate that the enzymes recognize a three dimensional structure. Three serine tRNAs with different coding properties have been isolated from rat liver. The base sequences in their anticodon regions are in accord with the "wobble" hypothesis proposed by Crick. Although they differ in structure, all three as well as yeast serine tRNA are equally well recognized by the aminoacyl tRNA synthetase. This indicates a common shape of all four molecules. A model of serine tRNA from rat liver is presented to show how the molecule might possibly be folded in a manner which places the common dihydrouridine loop close to the acceptor site.

- 1. Holley R. W., Apgar J., Everett G. A., Madison J. T., Marquisee M., Merrill S. H., Penswick J. R. und Zamir A.: Science 147, 1462 (1965).
- 2. Zachau H. G., Dütting D. und Feldmann H.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 347, 212 (1966).
- 3. Madison J. T., Everett G. A. und Kung H.: Science 153, 531 (1966).
- 4. BAEV A. A., VENKSTERN T. V., MIRZABEKOV A. D., KRUTILINA A. I., ANELROD V. A., LI L. und Engelhardt V. A.: 3rd Sympos. Fed. Europ. Biol. Soc., Warsaw 1966; Takemura S., Mizutani T. und Miyazaki M.: J. Biochem. (Tokyo) 63, 274 (1968).

- GOODMAN H. M., ABELSON J., LANDY A., SMITH J. D.: Nature (Lond.) 217, 1019 (1968).
- Dube S. K., Marcher K. A., Clark B. F. C. und Cory S.: Nature (Lond.) 218, 232 (1968).
- 8. Cory S., Marker K. A., Dube S. K. und Clark B. F. C.: Nature (Lond.) 220, 1039 (1968).
- 9. Staehelin M., Rogg H., Baguley B. C., Ginsberg T. und Wehrli W.: Nature (Lond.) 219, 1363 (1968).
- 10. Baguley C. und Staehelin M.: Biochemistry 7, 45 (1968).
- 11. Crick F. H. C.: J. Mol. Biol. 119, 548 (1966).
- 12. CRAMER F.: Angew. Chem. 79, 653 (1967).

Adresse des Autors: Prof. Dr. M. Staehelin, Biologische Abteilung, Ciba Aktiengesellschaft, 4000 Basel 7.

### Diskussion

- K. Wallenfels (Freiburg i. Br.): Wird auch Pseudouridin im Anschluß an die DNA-Synthese durch Modifikation hergestellt?
- TH. GINSBERG (Basel): Ja. Pseudouridin ist im Makromolekül synthetisiert durch «rearrangement» von Uridin.
- J. P. Ebel (Strasbourg): Verschiedene Ergebnisse zeigen, daß die G-T-Ps-C-Gegend den chemischen Modifikationen schwer zugänglich ist. Ist Ihr dreidimensionales Modell mit diesen Ergebnissen im Einklang?
- M. Staehelin (Basel): Ja. Sie ist durch die Dihydrouridinschlinge geschützt.
- U. Leupold (Bern): Sind Ihnen aus der Literatur Daten über den Nachweis und die Spezifität von Enzymen bekannt, welche Adenosin in der ersten Antikodonstelle von Transfer-Ribonukleinsäuren zu Inosin desaminieren? Da mehrere Formen von HefetRNS in der ersten Antikodonstelle Inosin aufweisen, müssen derartige Enzyme existieren.
- M. Staehelin (Basel): Ein solches Enzym muß existieren, ist aber noch nicht isoliert worden.