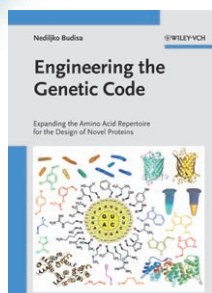




Engineering the Genetic Code



Expanding the Amino Acid Repertoire for the Design of Novel Proteins.
Von **Nediljko Budisa**.
Wiley-VCH, Weinheim 2006. 296 S., geb., 119.00 €. — ISBN 3-527-31243-9

Mutageneseverfahren zum orts-spezifischen Austausch von Aminosäuren in Proteinen haben sich von aufwändigen Experimenten Ende der 70er Jahre in kurzer Zeit zu fest etablierten Methoden mit fertigen „Kits“ entwickelt. Aus den Labors sind diese Verfahren nicht mehr wegzudenken, sei es um mechanistische Grundlagen von Enzymreaktionen zu untersuchen oder um Proteine für biotechnologische Anwendungen zu optimieren. Ein Wunsch ist es jedoch, mehr als nur die 20 proteinogenen Aminosäuren des universellen genetischen Codes spezifisch in Proteine einbauen zu können. Schon in den 50er Jahren gab es Ansätze, nichtproteinogene Aminosäuren in das Proteom einzuschleusen, und die Versuche von Cowie und Cohen zum fast vollständigen Einbau von Selenomethionin anstelle von Methionin finden auch heute noch häufigen Einsatz. Doch wo steht die Fortentwicklung dieser Methoden nach 50 Jahren? Dieser Frage widmet sich das vorliegende Buch, indem es die heutigen Möglichkeiten des „Genetic Code Engineering“ beschreibt.

Während sich Multiautorenwerke oft dem Problem der Inkonsistenz einzelner Kapiteln gegenübersehen, hat

sich mit Nediljko Budisa erfreulicherweise ein Einzelautor der Aufgabe gestellt, das komplexe Thema in einem Guss zu behandeln. Im Buch sind Beispiele für den Einbau von über 150 neuen Aminosäuren in zumeist über-exprimierte Proteine zusammengetragen. Das notwendige Hintergrundwissen zur Translationsmaschinerie und zum universellen genetischen Code wird ausführlich beschrieben, ebenso wie Konzepte des Code-Engineerings, der Evolution und Formbarkeit des genetischen Codes einschließlich Anwendungsbeispielen.

Zur Einführung werden in den ersten beiden Kapiteln Begriffsdefinitionen (weitere sind über das ganze Buch verteilt) und ein historischer Überblick gegeben. Ein Glossar hätte die Übersichtlichkeit erhöht und die Chance geboten, so manchen neuen Begriff zu fixieren. Kapitel 3 beschreibt alle Schritte, die von der freien Aminosäure im Cytosol bis zu ihrem Einbau in die Polypeptidkette nötig sind. Das Buch will kein Lehrbuch der Biochemie sein und setzt beim Leser folgerichtig Grundkenntnisse der Translation sowie der Methoden der Molekularbiologie und Proteinchemie voraus. In der Lehre bietet es Stoff für eine Fortgeschrittenenvorlesung, für den Forscher wird es zur aktuellen Übersicht zum Code-Engineering.

Den Kern des Buches bilden die Konzepte des Code-Engineerings und ihre Anwendung auf homologe und entfernte Derivate der proteinogenen Aminosäuren (Kapitel 5). Die Methoden reichen vom Verfüttern der gewünschten Aminosäure an auxotrophe Organismen über Eingriffe in die Spezifität der tRNA oder Aminoacyl-tRNA-Synthetase (AARS) und in den Aminosäurestoffwechsel bis hin zum kompletten System (in diesem Fall ein *Escherichia-coli*-Stamm) mit aufeinander abgestimmtem Metabolismus, tRNA und AARS. Bei fast allen Methoden werden synthetisierte Aminosäuren dem Medium zugegeben und von der ribosomalen Biosynthesemaschinerie verarbeitet. Im Unterschied dazu übernimmt bei fortgeschrittenen Methoden der erweiterte Metabolismus die Bereitstellung der gewünschten Aminosäure, und die orthogonale AARS belädt spezifisch die

zusätzliche tRNA, mit deren Hilfe an gewünschter Stelle (z.B. durch Suppression eines UAG-Stoppcodons) die neue Aminosäure eingebaut wird. Bei aller Eleganz, die ein solches Verfahren für die Alloproteinsynthese bietet, darf allerdings nicht der immense Aufwand übersehen werden. Die Erzeugung eines „künstlichen“ *Escherichia coli* gelang bislang nur mit dem Einbau von *p*-Aminophenylalanin (Arbeitsgruppe P. G. Schultz).

Im letzten Kapitel werden Beispiele für den erfolgreichen Einsatz des Code-Engineerings und Erwartungen an diese Technik vorgestellt. Ein Einbau von fluorierten Aminosäuren sollte zu fluorophilen Proteinen führen, die weder hydrophile noch hydrophobe Eigenschaften haben. Daran knüpft sich die Hoffnung auf Proteine, die in wässrigen wie auch organischen Lösungsmitteln stabil sind. Mit solchen Projekten befasst sich auch Budisa selbst, z.B. mit der goldfarbenen Variante des GFP mit 4-Aminotryptophan, die als Biosonde angewendet werden kann. Anstelle einer Vielzahl von Beispielen, etwa bei der Behandlung der posttranslationalen Modifikationen, wäre jedoch manches Mal eine ergänzende Tabelle von Vorteil gewesen.

Die umfangreiche Zahl der Beispiele belegt die neue Dimension, die das Code-Engineering erschließt. Wir können neuartige Proteine mit nicht vorhersehbaren Eigenschaften erwarten, zumal schon für Polypeptide mit den 20 proteinogenen Aminosäuren der Faltungscodex ungelöst ist. Aber auch Fragen zu neuen Einsatzfeldern in Technik und Pharmakologie, zur Evolution des genetischen Codes und zur Ethik der tiefgreifenden Veränderungen, die das Code-Engineering ermöglicht, werden behandelt. Budisa schätzt das Risikopotenzial des Code-Engineerings als gering gegenüber den zu erwartenden Vorteilen ab. Diese begonnene Diskussion ist notwendig, unabhängig davon, ob seine Einschätzung von den Lesern geteilt wird.

Gottfried J. Palm

Institut für Chemie und Biochemie
Universität Greifswald

DOI: 10.1002/ange.200685385