

binnenkort structuurbepalingen van eiwitten, waarbij dan niet alleen de volgorde der aminozuren in de keten maar ook de wijze waarop deze keten gevouwen is bekend zal worden. Zeer onlangs bepaalde KENDREW op deze wijze, hoe de keten in het molecuule van het spiereiwit myoglobine verloopt.

De volgorde der aminozuren in de keten blijkt in hoge mate specifiek te zijn. Vervanging van één aminozuur door een ander treedt niet of hoogstens sporadisch op. Voeg daarbij dat eiwitten in contact met water thermodynamisch niet stabiel zijn, maar door hydrolyse meer of minder snel weer in de aminozuren uiteenvallen, dan zijn daarmee de twee principiële problemen voor de biosynthese der eiwitten gesteld. Hoe wordt de vrije energie, die voor de opbouw nodig is, geleverd en hoe wordt de volgorde der aminozuren gegeven? Als meer praktisch probleem komt daarbij de vraag: Waar in de cel vindt de eiwitsynthese plaats?

Eiwitsynthese vindt plaats in de microsomen

In 1941 stelden CASPERSSON met behulp van ultraviolet microspectrofotometrie en BRACHET met meer klassieke kleuringsmethoden vast dat cellen, die veel eiwit synthetiseren, zoals cellen uit worteltoppen, darm-slijmvlies, pancreas, lever, gist of embryonaal weefsel, veel meer ribonucleïnezuur (RNA) bevatten dan b.v. in nier, hart of andere spieren voorkomt. Zij concludeerden daaruit dat RNA een rol speelt bij de eiwitsynthese. BRACHET wees er ook op dat het RNA in hoofdzaak voorkomt in de *microsomen*, zeer kleine celpartikeltjes die niet merkbaar sedimenteren in een veld van $5000 \times g$, maar bij $100.000 \times g$ in een uur zijn uit te slingeren.

BORSOOK en andere onderzoekers toonden aan, dat bij toedienen van met C^{14} gemerkte aminozuren deze het eerst in het eiwit van de microsomen gevonden worden. LITTLEFIELD, KELLER, GROSS en ZAMECNIK wisten door rattenlevermicrosomen te behandelen met desoxycholaat daaruit alle lipiden en een goed deel van het eiwit op te lossen, waarna een niet oplosend ribonucleoproteïne overbleef dat uit ongeveer gelijke hoeveelheden eiwit en RNA bestond. Electronenmicroscopisch bestond deze laatste fractie uit bolletjes met een diameter van 100–150 Å. Zoals uit figuur I blijkt wordt bij toedienen van radioactief leucine dit het eerst in het eiwit van het ribonucleoproteïne gevonden, daarna in het lipoproteïne en tenslotte in het oplosbare celeiwit. Bij kleine hoeveelheid C^{14} -leucine is het C^{14} gehalte van het ribonucleoproteïne al aan het afnemen als dat in de beide andere fracties nog toeneemt, bij grote hoeveelheid C^{14} leucine wordt in het ribonucleoproteïne een stationaire toestand bereikt.

Deze waarnemingen zijn in overeenstemming met de veronderstelling dat in of aan het ribonucleoproteïne der microsomen het eiwit gesynthetiseerd wordt en dat het daarna via de lipoproteïnen (die membranen vormen waar de bolletjes tegenaan schijnen te liggen) in de rest van de cel wordt gebracht.

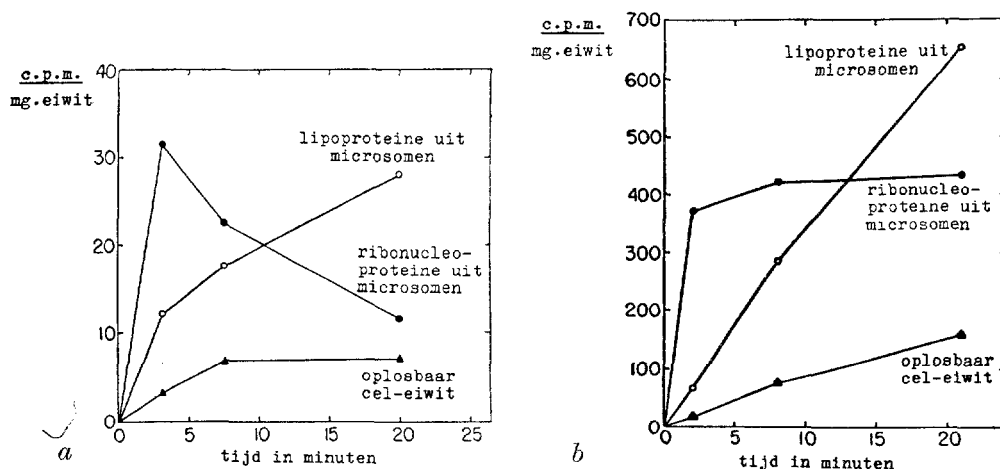


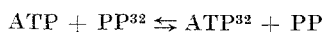
Fig. 1. Opnemen van C^{14} leucine in het eiwit in rattenlever.
a. Kleine dosis. b. Grote dosis.

De microsomen in engere zin, de bolletjes dus, komen in alle cellen voor, hoewel in verschillende hoeveelheden. Hun moleculairgewicht is in de orde van enkele miljoenen. Vaak tonen ze zich zeer homogeen bij de sedimentatie, maar zorgvuldig onderzoek heeft er toch tenminste een aantal groepen met verschillende sedimentatie constanten en andere eigenschappen in aangetoond, zoals ook wel verwacht moest worden met het oog op de grote verschillen tussen de eiwitten die er door gesynthetiseerd worden.

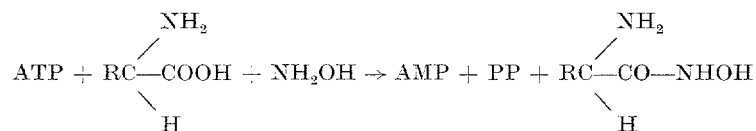
ATP levert de nodige vrije energie

Uit proeven in vivo blijkt dat bij remming van de oxydatieve fosforylering, dat is bij remming van de productie van Adenosine-Tri-Phosphaat, ATP, ook de eiwit synthese stopt. Proeven in vitro, met cel homogenaten en vooral met fracties daaruit, toonden aan dat voor eiwit opbouw (inbouw van C^{14} -aminozuren in eiwit) nodig zijn: *aminozuren*, *microsomen* en *ATP*. Verder zijn dan nog nodig de door HOAGLAND ontdekte *pH5-enzymen*, dat zijn eiwitten die bij pH=5 uit het oplosbare deel van de cel precipiteren, en een kleine hoeveelheid Guanosine-Tri-Phosphaat (*GTP*). Het blijkt zelfs mogelijk de inbouw van het radioactieve aminozuur in twee fasen te laten verlopen. Bij mengen van aminozuur, pH5-enzymen en ATP en daarna precipiteren en wassen van de enzymen blijkt het aminozuur aan het enzym gehecht te zijn. Bij toevoegen van microsomen en GTP wordt het nu aan de microsomen overgedragen.

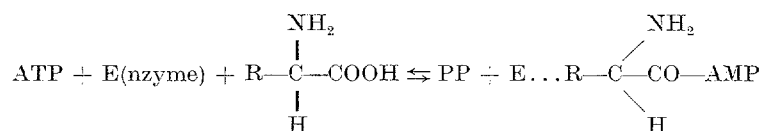
In de eerste fase der reactie wordt door het ATP (waarin veel vrije energie is opgehoopt) blijkbaar de nodige vrije energie toegevoerd. De rol van de pH5-enzymen is daarbij als volgt opgehelderd. Zij katalyseren de reactie (PP=Pyro Phosphaat):



d.w.z. de uitwisseling van radioactieve fosfor tussen ATP en pyrofosfaat. Daarbij is aanwezigheid van een zeer kleine hoeveelheid aminozuur onontbeerlijk. Verder bevorderen zij de vorming van een hydroxamaat met een hoge vrije energie inhoud uit aminozuur en hydroxylamine (NH_2OH), waarbij ATP gesplitst wordt in AdenosineMonoPhosphaat (AMP) en PP.



De beide reacties samen worden ongedwongen verklaard door aan te nemen dat uit enzyme, ATP en aminozuur onder afsplitsen van PP een aan het enzym gehechte verbinding tussen AMP en aminozuur ontstaat.



Het evenwichtskarakter van deze reactie verklaart de uitwisseling tussen ATP en PP. De verbinding tussen de carboxylgroep van het aminozuur en de fosfaat groep van het AMP heeft een hoge vrije energie inhoud. Bij aanwezigheid van (overmaat) NH_2OH verdringt dit het AMP onder vorming van het niet meer aan het enzym hechtende hydroxamaat.

Verdere fractionnering van de pH-5 enzymen maakte het waarschijnlijk dat er voor elk der 20 natuurlijke aminozuren een apart enzym bestaat. DAVIE, V. V. KONINGSBERGER en LIPMANN zuiverden uit pancreas het enzym voor tryptofaan, VAN DE VEN, V. V. KONINGSBERGER en OVERBEEK het tyrosineactiverend enzym uit gist, terwijl ook het methionine activerend enzym gezuiverd is (P. BERG).

De AMP-aminozuur verbindingen blijken zeer stevig aan het enzym gehecht te zijn. Het behoeft wel geen betoog dat in de levende cel het hydroxylamine (dat giftig is) het aminozuur niet van het enzym losmaakt. Er moet dus een andere acceptor zijn. Zeer onlangs zijn er aanwijzingen verkregen (door HOAGLAND en door V. V. KONINGSBERGER en VAN DER GRINTEN) dat de aminozuren van de pH-5 enzymen overgaan op laag moleculaire ribonucleïnezuren, waarbij mogelijk reeds condensatie tot niet al te grote (want nog dialysabele) polypeptiden optreedt.

Ribonucleïnezuren regelen de volgorde der aminozuren

Hoe daarna de eigenlijke synthese der eiwitten in of aan de microsomen plaats vindt onttrekt zich nog vrijwel geheel aan onze waarneming. Wel zijn er een aantal interessante werkhypothese opgesteld die het bekende en het mogelijke tot een totaal beeld combineren.

De hypothesen die op het ogenblik het meest aannemelijk zijn, kennen

aan het RNA de rol van matris toe waarop de aminozuren in de goede volgorde worden vastgehecht, waarna condensatie tot eiwit optreedt.

De eerste vraag is hoe daarbij de extra energie wordt overgedragen. Van de door verschillende auteurs o.a. CHANTRENNE, DOUNCE, LIPMANN, V. V. KONINGSBERGER en OVERBEEK, LOFTFIELD gegeven suggesties zullen wij er één behandelen.

KONINGSBERGER en OVERBEEK veronderstellen dat de aminozuren met hun carboxylgroep aan de fosphaatgroepen van het RNA gehecht worden. De basen van het RNA zouden daarbij determineren welk aminozuur op een bepaalde plaats gehecht wordt. Daarna zou de vrije NH_2 groep van het laatste aminozuur spontaan met de naastliggende $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ verbinding reageren onder vorming van de peptidebinding en terugvorming van het vrije fosphaat van het RNA. Met behulp van atoommodellen was aan te tonen dat deze reactie sterisch gunstig ligt terwijl VAN DE VEN met behulp van proeven aan modelstoffen aantoonde dat inderdaad een dergelijke $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ verbinding snel met NH_2 reageert.

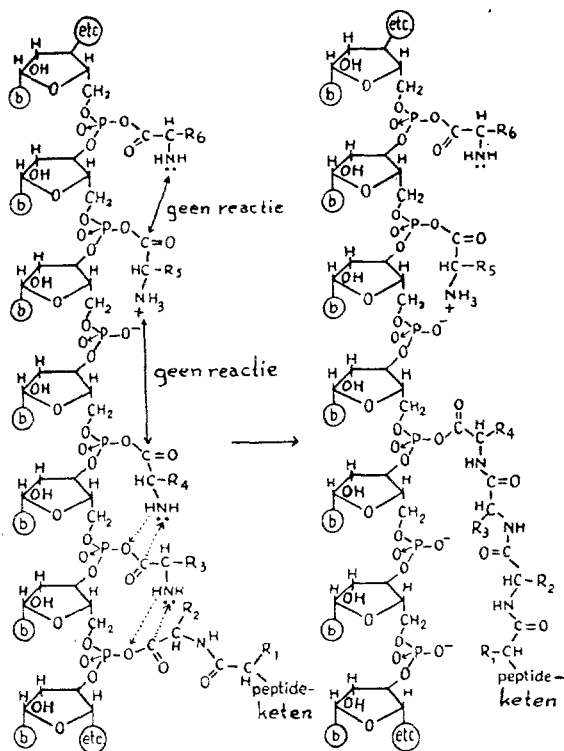


Fig. 2. Schema voor de opbouw van een eiwitketen uit aan ribonucleïnezuur gebonden aminozuren.

Het in fig. 2 weergegeven schema laat dit nog wat meer in extenso zien, ook dat bij ontbreken van 1 aminozuur de synthese moet stoppen en dat de reactie niet midden in de keten beginnen kan omdat daar geen NH_2 groep maar een NH_3^+ groep aanwezig is.

In de tekening is aan elke P een aminozuur gedacht. Het is ook heel goed mogelijk dat slechts één op de 2 of 3 P aan de reactie deelneemt. Daarmee komen we op het andere punt. Hoe kan in deze gedachtengang het RNA de informatie verschaffen om de aminozuren in de goede volgorde te krijgen? Er zijn n.l. 20 verschillende aminozuren en maar 4 verschillende basen aan het RNA. De plaats van een bepaald aminozuur zal dus door 2 of 3 basen bepaald moeten worden. Met 2 basen komt men niet tot 20 combinaties. Met 3 basen als code komt men gemakkelijk uit.

Het lijkt zelfs of er dan al weer veel te veel mogelijkheden zijn. CRICK, GRIFFITH en ORGEL hebben er echter op gewezen dat als in de volgorde ABBDACC ABB en DAC met bepaalde aminozuren overeenkomen, de combinaties BBD, BDA en ACC dan met geen enkel aminozuur moeten overeenkomen. Het blijkt dat men op deze wijze juist 20 zinvolle combinaties van drie kan krijgen.

Is men eenmaal zover dan laat zich ook nog een andere mogelijkheid zien, n.l. dat elk aminozuur nadat het geactiveerd is aan een specifiek stuk van een laagmoleculair RNA gehecht wordt en dat dit RNA base tegen base met het RNA van de microsomen combineert juist zoals dat in de nucleïnezuur kristallen gebeurt. Dan zou de eigenlijke condensatie reactie zich dus niet op het grote RNA der microsomen afspelen maar op het kleine RNA terwijl het grote RNA slechts de code levert.

Op dit gebied zal nog heel wat onderzoek verricht moeten worden voor het beeld geheel af is, maar in tegenstelling tot slechts enkele jaren geleden, toen men over de eiwit opbouw nog in het duister tastte of zelfs verkeerde denkbeelden had, liggen nu enige belangrijke trekken vast en laat zich de weg voor verder onderzoek zien.

