

Praxis wird man damit jedoch nur die Probleme bearbeiten, die eine Oberflächenanalyse mit hohem räumlichem Auflösungsvermögen verlangen und mit Röntgenfluoreszenzmethoden nicht gelöst werden können.

Eingegangen am 5. März 1971 [A 826]

- [1] H. Seiler: Abbildung von Oberflächen mit Elektronen, Ionen und Röntgenstrahlen. B. I.-Hochschultaschenbücher, Bd. 428/428a, Bibliographisches Institut, Mannheim 1968.
- [2] a) K. C. A. Smith u. C. W. Oatley, Brit. J. Appl. Phys. 6, 391 (1955); b) M. Polke, Glas-Instr.-Tech. 12, 873 (1968).
- [3] a) H. Seiler, Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. 1, 27 (1968); b) P. R. Thornton, Science J. 1965, 66.
- [4] W. Speicher, Bayer Farben Revue, Sonderheft 11 (1969).
- [5] R. Weisbeck, Carbon, im Druck.
- [6] L. Morbitzer, K. H. Ott, H. Schuster u. R. Bonart, Angew. makromol. Chem. 14, 147 (1970).
- [7] W. Fischer u. L. Morbitzer, Angew. makromol. Chem. 9, 47 (1969).
- [8] R. Blaschke u. K. Fecher, Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. 1, 305 (1968).
- [9] A. N. McKee u. C. L. Beattie, Textile Res. J. 40, 1006 (1970).

- [10] R. Holm, G. Heyl u. L. Morbitzer, Beitr. elektronenmikroskop. Direktabb. Oberfl. 2, 153 (1969).
- [11] H. Orth, Z. wiss. Mikroskopie u. mikr. Technik 70, 179 (1970).
- [12] K. Heymann, W. Riedel u. G. Wöldt, Angew. Chem. 82, 412 (1970); Angew. Chem. internat. Edit. 9, 425 (1970).
- [13] G. Pfefferkorn u. R. Blaschke, Fette, Seifen, Anstrichmittel 70, 413 (1968).
- [14] G. Heyl u. R. Holm, Bayer Farben Revue 19, 48 (1970).
- [15] H. Orth in H. Freund: Textilmikroskopie. Bd. VI., Umschau-Verlag, Frankfurt/M. 1971, S. 1.
- [16] R. Fitzgerald, K. Keil u. K. F. J. Heinrich, Science 159, 528 (1968).
- [17] A. Benninghoven, Z. Physik 199, 141 (1967).
- [18] K. Siegbahn et al.: ESCA; Atomic, Molecular and Solid State Structure Studied by Means of Electron Spectroscopy. Almquist u. Wiksells Baktryckeri AB, Uppsala 1967.
- [19] C. Nordling, E. Sokolowski u. K. Siegbahn, Phys. Rev. 105, 1676 (1957).
- [20] Y. Baer, P. F. Hedin, J. Hedman, M. Klasson u. C. Nordling, Solid State Commun. 8, 1479 (1970).
- [21] N. C. McDonald, H. L. Marcus u. P. W. Palmberg, Proc. Symposium Scanning Electron Microscopy IIT Res. Inst, Chicago 1970, S. 25.

Die Translation der genetischen Information am Ribosom^[**]

Von Gerhard Schreiber^[*]

Die in der Basensequenz der Nucleinsäuren enthaltene Information für die Proteinstruktur wird am Ribosom in die Aminosäuresequenz der Proteine übersetzt. Diese Übersetzung, Translation genannt, läßt sich in den Kettenstart, die Kettenverlängerung und den Kettenabschluß gliedern. An jedem Abschnitt sind mehrere spezifische Proteinfaktoren und Nucleinsäuren beteiligt. – Beim Kettenstart werden aus der Startaminosäure-tRNA, der mRNA mit dem Startsignal und der kleinen und großen Untereinheit eines Ribosoms Startkomplexe gebildet. Dabei wirken GTP und die Startfaktoren mit. – Bei der Kettenverlängerung wird in einem Reaktionszyklus jeweils eine Aminosäure aus der Bindung an die tRNA in eine Bindung in der Polypeptidkette überführt. Zunächst wird die zu inkorporierende Aminosäure als Aminoacyl-tRNA an das Ribosom gebunden, wozu GTP und Proteinfaktoren erforderlich sind. Die anschließende Entstehung der Peptidbindung wird durch die Peptidyltransferase der großen Ribosomenuntereinheit katalysiert. Danach wird die nunmehr um eine Aminosäure verlängerte Peptidyl-tRNA auf dem Ribosom von der Aminosäure-Acceptorstelle A an die Peptidyl-Donorstelle P verlagert. Hierzu sind ein weiterer Proteinfaktor und die Spaltung von GTP in GDP und Phosphat notwendig. – Der Kettenabschluß wird eingeleitet, sobald eines der drei Terminatortriplets UAA, UAG oder UGA auf der sich relativ zum Ribosom vom 5'- zum 3'-Ende bewegenden mRNA das Ribosom erreicht. Die Ablösung der fertigen Polypeptidketten vom Ribosom hängt von den Ablösefaktoren ab. Vor dem Start einer neuen Polypeptidkette dissoziieren die Ribosomen in ihre Untereinheiten.

1. Einleitung

Die Aminosäuresequenz der Proteine einer Zelle ist durch die Basensequenz der Desoxyribonucleinsäuren (DNA) der Zelle festgelegt. Die in der Basensequenz der

[*] Doz. Dr. G. Schreiber
Biochemisches Institut der Universität
78 Freiburg, Hermann-Herder-Straße 7

[**] Nach einem am 3. Februar 1970 in Freiburg gehaltenen Vortrag. Wegen des Umfanges der Literatur wird hier nur eine Auswahl zitiert; eine ausführlichere, dem Stand vom Frühjahr 1969 entsprechende Zusammenstellung findet sich bei Lengyel und Söll [1].

DNA verschlüsselte Information wird in zwei Stufen in die Aminosäuresequenz des Proteins übertragen. Zunächst wird die Basenreihenfolge einer DNA umgeschrieben in die Basenreihenfolge einer Botenribonucleinsäure (mRNA = messenger RNA). Diesen Vorgang bezeichnet man als Transkription. Die Basenreihenfolge der mRNA wird dann am Ribosom in die Aminosäurenreihenfolge des Proteins übersetzt. Diesen Vorgang nennt man Translation. Er läßt sich in drei Abschnitte gliedern:

1. den Start der Polypeptidkette = Initiation,

2. die Verlängerung der Polypeptidkette = Elongation,
3. den Abschluß der Polypeptidkette = Termination.

Eine Übersicht über die an den drei Abschnitten beteiligten Reaktionspartner gibt Tabelle 1. Einzelheiten werden im folgenden besprochen.

Tabelle 1. Reaktionspartner der Translation.

Reaktionsabschnitt	Reaktionspartner
Kettenstart (Initiation)	Startaminosäure-tRNA Mg^{2+} mRNA (Startbereich) Startfaktoren (F_1 , F_2 , F_3) [a] kleine und große Untereinheit des Ribosoms GTP
Kettenverlängerung (Elongation)	Aminoacyl-tRNA Mg^{2+} , K^+ oder NH_4^+ mRNA Bindungsfaktoren (T_u und T_d) [a] Faktor G (Translocase) Ribosom GTP
Kettenabschluß (Termination)	mRNA (Terminationsabschnitt) Ablösefaktoren (R_1 und R_2) [a] Dissoziationsfaktor Ribosom

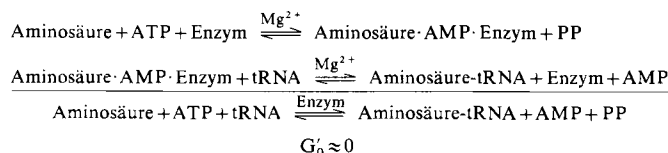
[a] In Klammern stehen die Bezeichnungen für die in *E. coli* gefundenen Faktoren.

2. Der Kettenstart

2.1. Die Reaktionspartner

2.1.1. Die Startaminosäure-tRNA

Bevor die Aminosäuren zur Proteinsynthese verwendet werden können, müssen sie mit Transportribonucleinsäure (tRNA) und Adenosintriphosphat (ATP) an den Aminosäure-tRNA-Synthetasen zu Aminosäure-tRNA aktiviert werden [Gl. (1)]. Die Startaminosäure ist in Bakterien, Chloroplasten und Mitochondrien *N*-formyliertes Methionin^[2-7], in Eukaryonten nicht-formyliertes Me-



Enzym = Aminosäure-tRNA-Synthetase

thionin^[8]. Es gibt in Bakterien^[9] und tierischen Zellen^[8] je zwei methionin-aktivierende tRNA-Spezies, $tRNA_{F}^{Met}$ und $tRNA_{M}^{Met}$ bzw. $tRNA_1^{Met}$ und $tRNA_2^{Met}$. Nur $tRNA_{F}^{Met}$ und $tRNA_1^{Met}$ aktivieren Methionin für den Kettenstart. Im Bakterium wird Methionin, welches an $tRNA_{F}^{Met}$ gebunden ist, formyliert^[10]. Met- $tRNA_1^{Met}$, die Startaminosäure-tRNA im Cytoplasma der Eukaryonten, braucht für den Kettenstart nicht formyliert zu werden^[8]. $tRNA_{M}^{Met}$ bzw. $tRNA_2^{Met}$ aktivieren Methionin, welches ins Innere der Polypeptidkette eingebaut werden soll^[11].

Die für *N*-Formylmethionin (fMet) spezifische tRNA zeichnet sich durch eine besondere Anordnung der zueinander komplementären Basen aus. Während in den zur Aktivierung der Aminosäuren für die Kettenverlängerung dienenden tRNA, z. B. der $tRNA_{Ala}^{Ala}$ aus Hefe^[12], die Basenpaarung am fünften Nucleotid vom 3'-OH-Ende her gerechnet beginnt, findet sich das erste zueinander komplementäre Basenpaar bei der $tRNA_{F}^{Met}$ erst in Position sechs^[13].

Methionin wird erst *nach* seiner Veresterung mit tRNA formyliert (Abb. 1). *N*-Formylmethionin selbst kann nicht an tRNA gebunden werden^[2]. Die Formylgruppe wird von *N*¹⁰-Formyltetrahydrofolsäure geliefert^[10, 14, 15]. Das

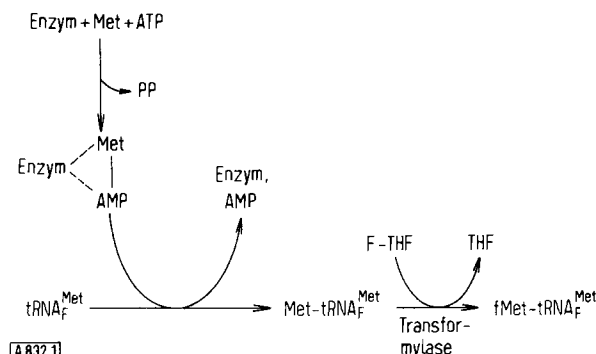


Abb. 1. Aktivierung und Formylierung von Methionin (Met) für den Kettenstart. THF = Tetrahydrofolsäure. F-THF = *N*¹⁰-Formyltetrahydrofolsäure, Enzym = Methionin-tRNA-Synthetase.

formylierende Enzym, die Met-tRNA-Transformylase, wurde aus *E. coli* über 1 500-fach angereichert^[15]. Ihr Molekulargewicht beträgt nur etwa 25 000, die Sedimentationskonstante 2.02, d. h. das Enzym ist etwa genauso groß wie eines seiner Substrate. Die Röntgen-Strukturanalyse der $tRNA_{F}^{Met}$ aus *E. coli* mit einer Auflösung von 12 Å ergab eine längliche Molekülform. Das $tRNA_{F}^{Met}$ -Molekül liegt demnach als Dimeres mit einer Länge von 109 Å und einer Dicke von etwa 35 Å vor. Ein einzelnes Molekül ist 80 Å lang und hat einen unregelmäßig geformten Querschnitt mit einem „Durchmesser“ von 25 bis 35 Å^[16-18].

2.1.2. Mg^{2+} -Ionen

In zellfreien Systemen muß für einen streng fMet-tRNA-abhängigen Kettenstart die Mg^{2+} -Konzentration 4 bis 8 mmol/l betragen^[19, 20]. Bei höheren Mg^{2+} -Konzentrationen kommt es zu unspezifischen Pseudokettenstarts, bei denen die Synthese nicht am Anfang, sondern in der Mitte eines Proteins beginnt^[21, 22]. Auch bei hoher Mg^{2+} -Konzentration (11 mmol/l) erfolgt der Start der Synthese eines Polypeptids jedoch schneller mit Formylmethionyl- $tRNA_{F}^{Met}$ und AUG als mit anderen Aminoacyl-tRNA-Arten und den dazugehörigen Codons^[23] (A = Adenin, U = Uracil, G = Guanin).

2.1.3. mRNA mit Kettenstartabschnitt

Jeweils drei Basen der mRNA codieren eine Aminosäure-tRNA. Die $tRNA_{F}^{Met}$ bzw. $tRNA_1^{Met}$ entsprechenden Triplets oder Codons sind AUG und GUG^[8, 9, 24, 25, 122]. Der mRNA-Abschnitt, der das Startsignal für die Polypeptidkettensynthese gibt, muß also das Codon AUG oder GUG enthalten. Die mRNA wird vom 5'-Ende zum 3'-Ende in die

Aminosäuresequenz übersetzt^[26]. In als natürlicher mRNA dienender Bakteriophagen-RNA war jedoch weder das Triplet AUG noch das Triplet GUG unter den ersten 50 Nucleotiden des 5'-Endes zu finden^[27-30]. Die Aufklärung der Basensequenz der Startregionen der RNA des Bakteriophagen R 17 ergab, daß die erste Base des Startcodons für das Hüllprotein erst an 24. Stelle, die für die RNA-Synthetase und das A-Protein jeweils erst an 18. Stelle des isolierten Startabschnitts lagen^[31, 32] (Abb. 2).

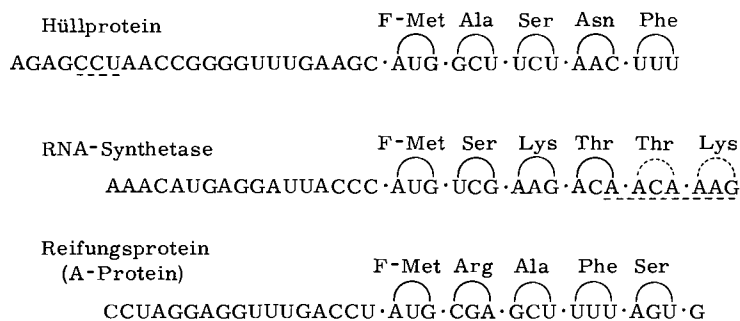


Abb. 2. Basensequenz der drei Startbereiche der RNA des Bakteriophagen R 17 [31, 32]. Triplets, die eine Aminosäure codieren, sind durch Bögen zusammengefaßt. Noch nicht endgültig gesicherte Abschnitte sind durch gestrichelte Linien gekennzeichnet. Man beachte, daß das Starttriplett nicht am 5'-Ende der RNA liegt.

Die Übersetzung der Basensequenz der RNA in die Aminosäuresequenz des Proteins beginnt vielleicht also nicht direkt am 5'-Ende, wofür auch die Möglichkeit der Translation einer ringförmigen Nucleinsäure spricht^[33, 34]. Dies mag zunächst überraschend erscheinen, könnte aber durchaus zweckmäßig sein. Der das Startcodon enthaltende RNA-Bereich läßt sich nämlich durch Wasserstoffbrücken so zu einer RNA-Doppelwendel verbinden, daß das Startcodon an deren Spitze an exponierter Stelle sitzt (Abb. 3)^[31, 32].

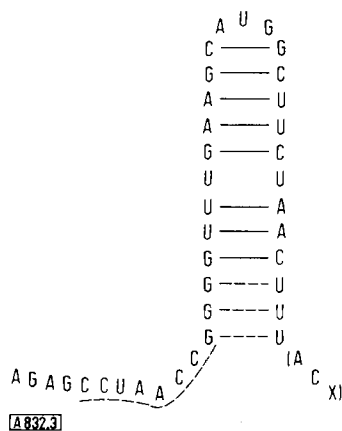


Abb. 3. Exponierte Lage des Startcodons AUG in der RNA des Bakteriophagen R 17 [31, 32]. Noch nicht endgültig gesicherte Abschnitte sind durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet.

In einer solchen Anordnung würde zum einen das Startcodon vor der Einwirkung von Ribonucleasen geschützt, die am 5'-Ende angreifen, zum andern ergäbe sich die Möglichkeit der Modifikation des Kettenstarts durch Veränderung der räumlichen Struktur der RNA. Entsprechende Verhältnisse fanden sich auch bei der Aufklärung der Basensequenz des 5'-Endes der RNA des Bakteriophagen

Qβ^[35]. Daß die Sekundärstruktur der mRNA tatsächlich eine Rolle beim Kettenstart spielt, zeigen Versuche von Lodish^[36]. Er veränderte die Sekundärstruktur der RNA des Bakteriophagen f2 durch Behandlung mit Formaldehyd und fand, daß dadurch zusätzliche, neue Startstellen längs der f2-RNA auftraten. Dies ließ sich am besten dadurch erklären, daß die stellenweise Auflösung der Wasserstoffbrückenbindungen zu Konformationsänderungen der mRNA führt, bei denen Starttriplets aus dem Inneren an die Initiation ermöglichende Positionen gelangen.

2.1.4. Die Startfaktoren

Werden *E. coli*-Ribosomen mit 0.5 bis 2 M NH₄Cl-Lösung gewaschen, so gehen von der 30S-Untereinheit mehrere Proteinfaktoren, die für den Kettenstart erforderlich sind, in die Waschflüssigkeit über^[26, 37-49]. Es lassen sich drei Faktoren, F₁, F₂ und F₃, voneinander trennen, die alle bis zur Homogenität in der analytischen Elektrophorese auf Polyacrylamidgel gereinigt werden konnten^[50-54]. F₁, das kristallisiert werden konnte^[55], hat ein Molekulargewicht von 9400^[50, 55]; F₂ von 65000–75000^[51] oder 80000^[53] und F₃ von 21000 Dalton^[54, 56]. F₃ ist hitzestabil, reagiert basisch und besteht aus einer einzigen Polypeptidkette^[56]. F₂ und F₃ enthalten freie SH-Gruppen^[53, 54, 57]. Für den Faktor F₃ wurden vor kurzem mehrere für den Start verschiedener Proteine spezifische Varianten mitgeteilt^[58, 59].

Auch für Systeme aus Muskelgewebe und Reticulocyten wurden Startfaktoren beschrieben^[60-68]. Im Reticulocytensystem konnten insgesamt drei Faktoren, M₁, M₂ und M₃, voneinander unterschieden werden^[60]. Sie sind für den Start der Synthese der α- und β-Ketten des Hämoglobins bei niedriger Mg²⁺-Konzentration nötig und unterscheiden sich deutlich von den bakteriellen Verlängerungsfaktoren T_u und T_s, ähneln aber den Startfaktoren F₁, F₂ und F₃. An die Startfaktoren aus Reticulocyten werden nur die formylierbaren tRNA^{Met}-Spezies, an die Verlängerungsfaktoren nur die nicht formylierbaren tRNA^{Met}-Spezies gebunden^[66].

2.1.5. Ribosomen und GTP

Für den Kettenstart sind ferner Guanosintriphosphat (GTP) und Untereinheiten von Ribosomen erforderlich. Ein grober Überblick über Struktur und Zusammensetzung der Ribosomen ist in Tabelle 2 gegeben. Die Ribosomen sind das Stützgerüst, auf dem die Reaktionspartner der Translation sich in der Art eines komplizierten, vierdimensionalen Puzzlespiels zusammenfügen (vierte Dimension = Zeit). Neben den 80S-Ribosomen in Eukaryonten und den 70S-Ribosomen in Prokaryonten kommt in Mitochondrien noch eine dritte Klasse von Ribosomen, die sogenannten Mini-Ribosomen, mit einer Sedimentationskonstante von 55S vor (Übersicht siehe ^[69]). Für die Anlagerung der aktivierten Aminosäuren und der Peptidyl-tRNA hat man mindestens zwei spezifische Bindungsorte auf dem Ribosom postuliert, die Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle A und die Peptidyl-Donorstelle P. Die beiden Bindungsstellen lassen sich aufgrund der Reaktion mit Puromycin unterscheiden. Puromycin, formal ein Analoges des endständigen Aminoacyladenosinteils einer

Tabelle 2. Eigenschaften der Ribosomen und ihrer Untereinheiten.

Eigenschaften der Ribosomen	Herkunft			
	aus Prokaryonten	aus Eukaryonten (Cytoplasma)		
Teilchengewicht (Dalton)	$2.8 \cdot 10^6 - 3.0 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^6$		
Abmessungen (\AA^3)	$200 \cdot 170 \cdot 170$	$240 \cdot 200 \cdot 200$		
Verhältnis RNA/Protein	1.6–1.8	1		
Sedimentationskonstanten, Zerfall in Untereinheiten	\swarrow 70 S 30 S 50 S		\swarrow 80 S 40 S 60 S	
Eigenschaften der Untereinheiten	30 S	50 S	40 S	60 S
Anzahl der Proteinmoleküle pro Untereinheit [a]	21	≈ 40	$\approx 40-50$	≈ 100
RNA der Untereinheiten mit Sedimentationskonstanten [a]	16 S-RNA	23 S-RNA + 5 S-RNA	18 S-RNA	28 S-RNA + 5 S-RNA
Molekulargewicht der RNA	$0.55 \cdot 10^6$	$1.1 \cdot 10^6$ bzw. 40000	$0.8 \cdot 10^6$	$1.7 \cdot 10^6$ bzw. 40000

[a] Jeweils ein Molekül pro Untereinheit.

Aminoacyl-tRNA (Abb. 4)^[70], kann anstelle einer Aminoacyl-tRNA mit bereits gebildeter Peptidyl-tRNA^[71] an Ribosomen zu Peptidylpuromycin und tRNA reagieren^[72], jedoch können an Peptidylpuromycin keine weiteren Aminosäuren mehr angehängt werden. Es kommt zum vorzeitigen Kettenabbruch und zum Auftreten von Peptidylpuromycin und freier tRNA^[73].

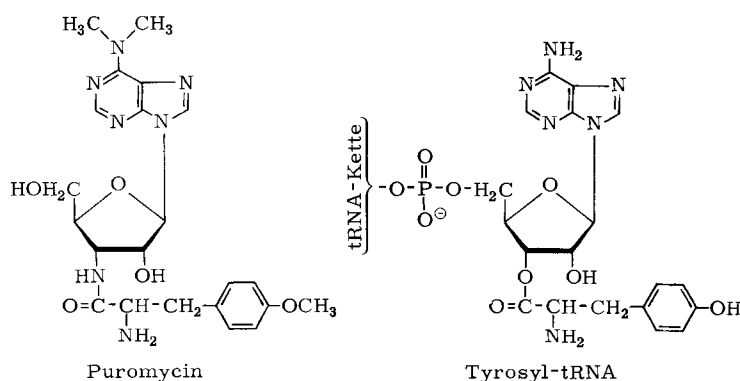


Abb. 4. Puromycin als Strukturanaloges des endständigen Aminoacyl-adenosinteils einer Aminoacyl-tRNA.

Die Reaktion mit Puromycin kann nun zur Unterscheidung der beiden verschiedenen Bindungsstellen für tRNA am Ribosom dienen. Beispielsweise kann in einem zellfreien, durch Poly-U programmierten, Aminosäuren in proteinähnliches Material inkorporierenden System Polyphenylalanin gebildet werden, das zunächst noch als Polyphe-tRNA an das Ribosom gebunden ist^[71]. In einem solchen System werden nun zwei Arten von Peptidyl-tRNA-Ribosomen gefunden, nämlich solche, die sofort mit Puromycin reagieren, und solche, die erst nach Zusatz von GTP und dem bei der Gewinnung von Ribosomen durch hochtourige Zentrifugation anfallenden Überstand mit Puromycin reagieren. Man nimmt an, daß die erste Art von Ribosomen die Peptidyl-tRNA an der Peptidyl-

Donostelle und die zweite Art von Ribosomen die Peptidyl-tRNA noch an der Aminoacyl-tRNA-Acceptorstelle gebunden hat. GTP und Überstand sind notwendig für den Transport der Peptidyl-tRNA von der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle A zur Peptidyl-Donorstelle P^[73]. GTP wird dabei in GDP und Phosphat gespalten. Erst danach kann von diesen Peptidyl-tRNA-Ribosomen der Peptidylrest auf Puromycin übertragen werden.

Auch für in-vivo-Systeme, nämlich Polyribosomen in Reticulocyten und Muskelzellen, wurde kürzlich gefunden, daß zwei tRNA-Moleküle an ein Ribosom gebunden waren, wobei eines der tRNA-Moleküle eine naszierende Polypeptidkette trug^[74].

2.2. Der Reaktionsablauf des Kettenstarts

Ein Übersichtsschema des Kettenstarts in Prokaryonten ist in Abbildung 5 wiedergegeben. Zunächst treten in Anwesenheit von GTP und Startfaktoren fMet-tRNA, der Startbereich einer mRNA und die 30S-Untereinheit des Ribosoms zu einem Komplex zusammen^[25, 46, 54, 75–83]. Wahrscheinlich wird zunächst der Startbereich der mRNA unter Mitwirkung von F₁ und F₃^[54] an die 30S-Untereinheit gebunden und anschließend fMet-tRNA angelagert^[40, 84], wozu die Anwesenheit von F₂ erforderlich ist. Erst danach wird die 50S-Untereinheit angefügt^[85, 86]. F₃ ist nur für die Bindung von natürlicher mRNA nötig^[87, 88]. Die fMet-tRNA ist wahrscheinlich zuerst an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle A des Ribosoms gebunden^[85, 86, 89–91], wird aber unter GTP-Spaltung zur Peptidyl-Donorstelle P überführt^[41]. In Gegenwart von GMPPCP, einer GTP analogen Verbindung, in der die β - und γ -Phosphatgruppen durch eine Methylenbrücke verbunden sind und daher nicht enzymatisch gespalten werden können^[92], kommt es zwar zur Bildung eines Komplexes fMet-tRNA-mRNA-30S-Untereinheit^[76, 82] und zur Anlagerung der 50S-Untereinheit^[85, 89], aber nicht zur Bildung von fMet-tRNA-Ribosomen, die mit Puromycin reagieren können^[93].

Die unter GTP-Spaltung entstandenen fMet-tRNA-Ribosomen reagieren dagegen mit Puromycin zu fMet-Puromycin, freien Ribosomen und tRNA^[25, 93–95]. GTP ist also in verschiedener Weise an der Initiation beteiligt. Auf die anfängliche Bindung von fMet-tRNA an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle A weisen auch Hemmversuche mit Tetracyclin hin, das als spezifischer Hemmstoff der Bindung von Aminosäure-tRNA an die Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle von Ribosomen bekannt ist^[96].

Im Gegensatz zu allen anderen Aminosäure-tRNA ist fMet-tRNA^{fMet} nicht in der Lage, mit GTP und dem Verlängerungsfaktor T (s. Abschnitt 3.1.4) einen Komplex zu bilden^[97], aus dem heraus die Aminosäure-tRNA-Moleküle bei der Verlängerung der Polypeptidkette an das Ribosom gebunden werden. Andererseits wird nur fMet-tRNA^{fMet} in Gegenwart von Startfaktoren und GTP sowie AUG oder GUG an 30S-Untereinheiten gebunden. Die Startfaktoren „erkennen“ dabei sowohl den tRNA-Teil als auch die Formylgruppe der fMet-tRNA^{fMet}^[98].

Über die genaue Wirkungsweise der Startfaktoren gehen die Meinungen noch auseinander, insbesondere darüber,

ob GTP bei der Bindung und Freisetzung von F_1 im Startkomplex durch GMPPCP ersetzt werden kann^[50] oder nicht^[99]. Verschiedene Auffassungen gibt es auch über die Reihenfolge der Bindung und Freisetzung der Startfaktoren in den Initiationskomplexen^[50, 54, 99, 100]. Möglicherweise wirken Startfaktoren beim Kettenabschluß mit^[101]. So wird zum Beispiel die Identität des Dissoziationsfaktors (s. Abschnitt 4.1.3) mit F_1 ^[102] oder F_3 ^[54, 103–105] diskutiert. Zum Teil gleichen die Eigenschaften der Startfaktoren denen von Verlängerungsfaktoren^[106].

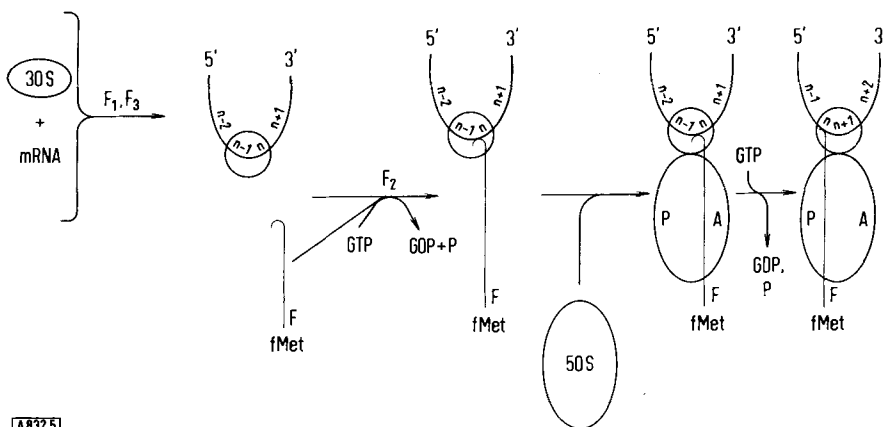


Abb. 5. Übersichtsschema des Kettenstarts (nach Lengyel und Söll [1], modifiziert). Erläuterung s. Text.

Von außerordentlichem Interesse für die Frage der Regulation der Proteinsynthese auf der Stufe der Translation durch Beeinflussung des Kettenstarts ist die kürzlich mitgeteilte Auftrennung des Startfaktors F_3 in mehrere Varianten, die jeweils für den Start bestimmter Proteine spezifisch waren^[58, 59]. Dube und Rudland zeigten, daß Startfaktoren aus *E. coli*-Bakterien, die mit dem Bakteriophagen T4 infiziert worden waren, Ribosomen aus nicht infizierten *E. coli*-Bakterien so umprogrammierten, daß diese Ribosomen bevorzugt die Startsignale von T4-RNA erkannten^[107]. Eine Proteinspezifität der Initiation ergibt sich auch aus Versuchen mit der RNA des Bakteriophagen R17. Diese besteht aus einem einzigen Faden mit den Strukturgenen für das Reifungsprotein (A-Protein), das Hüllprotein und die RNA-Synthetase, vom 5'- zum 3'-Ende hin aufgezählt^[108]. In einem mit R17-RNA programmierten, zellfreien System aus *E. coli* bewirkten nämlich zugesetzte Startfaktoren, die aus mit T4 infizierten *E. coli*-Bakterien gewonnen worden waren, daß nur noch der Synthetase-Startabschnitt erkannt wurde^[109]. In einem System aus nicht infizierten Zellen wurden dagegen alle drei Startabschnitte der R17-RNA erkannt, mit relativer Bevorzugung des Hüllproteins.

Außer durch Startfaktoren kann eine Proteinspezifität bei der Initiation der Translation aber auch durch die Herkunft der 30S-Untereinheit der Ribosomen bedingt sein. Bei einem Vergleich zellfreier, protein-synthetisierender Systeme aus *E. coli* und *B. stearothermophilus*, die mit RNA von f2, einem R17 verwandten Bakteriophagen, programmiert waren, fand man, daß mit *E. coli*-Ribosomen die Synthese aller drei Phagenproteine gestartet wurde, während im *B. stearothermophilus*-System nur das Reifungsprotein

initiiert wurde^[110–112]. Die Spezifität hierfür lag in den 30S-Untereinheiten. Die Herkunft der 50S-Untereinheit und der Startfaktoren spielte keine Rolle^[110].

Aus mit T4 infizierten *E. coli*-Bakterien konnte ein hitzelabiler Faktor isoliert werden, der Ribosomen aus nicht infizierten Bakterien die Fähigkeit verlieh, selektiv T4-RNA als mRNA für die Proteinsynthese zu verwenden^[113].

Die bisherige Beschreibung gilt für den Kettenstart in Prokaryonten, Mitochondrien und Chloroplasten. In

Eukaryonten wurde als Startaminosäure-tRNA nicht-formylierte Met-tRNA gefunden^[8], die aber durch eine aus *E. coli* isolierte Transformylase formyliert werden konnte^[114–117]. Das Cytoplasma von Leber- und Hefezellen enthält keine Transformylase.

Methionin als Startaminosäure für Globin wird frühzeitig wieder abgespalten^[118, 119], wenn die wachsende Polypeptidkette des Globins eine Kettenlänge von 15 bis 20 Aminosäuren erreicht hat. Methionin konnte in Zellsuspensionen aus Forellenhoden auch als Startaminosäure für Protamin identifiziert werden^[120]. Es ließ sich eine enzymatische Abspaltung des Methionins von der nächstfolgenden Aminosäure, Prolin, nachweisen, die wahrscheinlich aber erst nach völliger Fertigstellung des Protamins stattfindet. In *N. crassa*, einem anderen eukaryontischen Organismus, läßt sich zwar kein Methionin als N-Terminus fertiger Zellproteine nachweisen, in naszierenden Proteinen wird jedoch ¹⁴C-Methionin nahe dem N-Terminus gefunden^[121].

Die Start-tRNA aus Eukaryonten läßt sich als Start-tRNA in aus *E. coli* hergestellten, zellfreien Systemen verwenden^[4, 5, 114–117]. tRNA^{Met} ist wahrscheinlich die einzige Start-tRNA in Eukaryonten^[122]. Aufgrund der schnellen Bildung von Methionylpuromycin mit Met-tRNA^{Met} aus Leber wurde vermutet, daß Met-tRNA^{Met} an der Peptidylstelle des Ribosoms gebunden wird^[115].

Die Existenz von Startfaktoren in Systemen aus Säugtieren wurde bereits im zweiten Absatz des Abschnitts 2.1.4 besprochen. Auch in Eukaryonten wurde eine Protein- oder Organspezifität der Startfaktoren gefunden. Die Faktoren aus Reticulocyten bzw. aus Muskel stimulierten vorwiegend die Synthese von Globin bzw. von Myosin^[64].

3. Die Kettenverlängerung

3.1. Die Reaktionspartner

3.1.1. Die Aminosäure-tRNA

Jede der in Proteinen vorkommenden Aminosäuren kann durch eine oder mehrere Arten von tRNA an einem für die jeweilige Aminosäure hochspezifischen Enzym aktiviert werden^[1, 123–125] [Gl. (1)]. Die Spezifität des Transfers

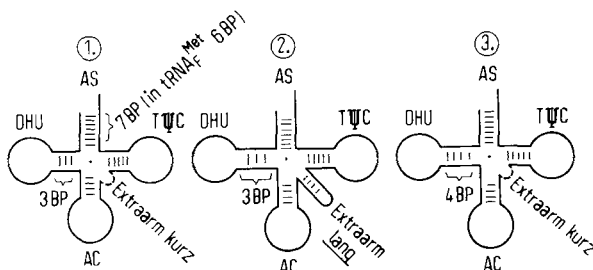


Abb. 6

Abb. 6. Einteilung der tRNA in drei Klassen (nach Staehelin [131], modifiziert). BP = Basenpaarungen, AS = Aminosäurearm, DHU = Dihydrouridinarm, AC = Anticodonarm, TΨC = Thyminpseudouridincytosinarm.

der Aminosäuren auf die jeweilige tRNA ist größer als die der Aktivierung mit ATP^[123–127]. Ile-tRNA-Synthetase aktiviert z.B. auch Valin und Val-tRNA-Synthetase auch Threonin, jedoch werden diese „falschen“ Aminosäuren dann nicht auf die zugehörige tRNA übertragen^[128–130].

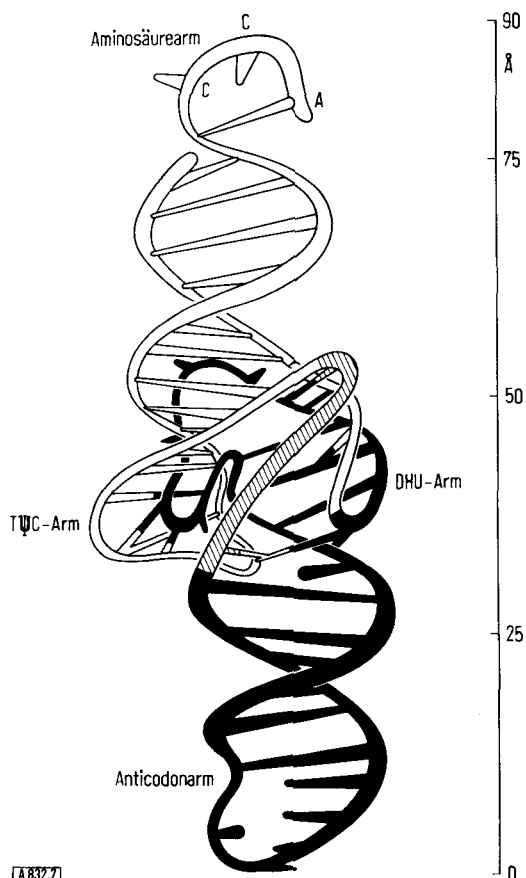


Abb. 7

Abb. 7. Modell der räumlichen Struktur von tRNA^{Met} nach Levitt [18]. ■: DHU- und Anticodonarm; □: TΨC- und Aminosäurearm; ▨: Extraarm.

Da inzwischen die Basensequenzen einer ganzen Reihe von tRNA aufgeklärt worden sind, kann das allgemeine Bauprinzip der tRNA angegeben werden^[18, 131]. Alle tRNA lassen sich in „Kleeblatt“-Form mit fünf Armen schreiben (Abb. 6): dem Aminosäurearm oder Stamm, dem Dihydrouridinarm (DHU-Arm), dem Anticodonarm und dem Thyminpseudouridincytosinarm (TΨC-Arm). Nach der Struktur dieser Arme lassen sich die tRNA in drei Klassen einteilen: die tRNA der Klasse 1 haben *drei* Basenpaarungen im DHU-Arm und einen *kurzen* Extraarm, die der Klasse 2 haben ebenfalls *drei* Basenpaarungen im DHU-Arm, aber einen *langen* Extraarm, und die der Klasse 3 weisen *vier* Basenpaarungen im DHU-Arm und einen *kurzen* Extraarm auf (Abb. 6). Es ist zu erwarten, daß der Vergleich der Basensequenz „normaler“ Wildtyp-tRNA mit der Basensequenz durch Mutation in ihrer Funktion veränderter tRNA über die funktionelle Bedeutung der verschiedenen tRNA-Abschnitte Aufklärung bringen wird. Eine Reihe von tRNA konnte kristallisiert und der Röntgenstrukturanalyse zugänglich gemacht werden^[16, 17, 132–140]. Nach den gewonnenen Daten wurde z. B. das in Abbildung 7 wiedergegebene, räumliche tRNA-Modell vorgeschlagen^[18].

3.1.2. Mg²⁺-, K⁺- oder NH₄⁺-Ionen

Im Gegensatz zum Kettenstart läßt sich die Kettenverlängerung bei niedrigen (4–8 mmol/l) und bei hohen (>10 mmol/l) Mg²⁺-Konzentrationen untersuchen. Bei [Mg²⁺] > 10 mmol/l werden Aminosäure-tRNA wahrscheinlich sowohl an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle als auch an der Peptidyl-Donorstelle an das Ribosom gebunden, und Aminosäuren werden aus Aminoacyl-tRNA in Polypeptidyl-tRNA inkorporiert, ohne daß Startamino-säure-tRNA oder Startfaktoren benötigt werden^[19, 141, 142]. Außerdem ist für die Kettenverlängerung die Anwesenheit von K⁺ oder NH₄⁺ erforderlich^[143, 144].

3.1.3. mRNA

Als „künstliche“ mRNA können in zellfreien Systemen hetero- oder homopolymere Polyribonucleotide verwendet werden. Viel untersucht wurde z. B. die Stimulierung des Einbaus von Phenylalanin in Polyphenylalanin durch Poly-U^[145]. Als „natürliche“ mRNA in zellfreien Systemen wird meist die RNA von Bakteriophagen benutzt. Die mRNA von Mikroorganismen ist in der Regel polycistronisch^[146], d.h. sie enthält die Strukturinformation für mehrere Proteine. Die RNA des Bakteriophagen R 17 etwa besteht aus einem Nucleinsäurefaden, in dem vom 5'-Phosphatende zum 3'-OH-Ende die RNA-Abschnitte mit der Information für die Aminosäuresequenz der drei Phagenproteine, Reifungs- oder A-Protein (350 Aminosäuren^[147]), Hüllprotein (129 Aminosäuren^[148, 149]) und RNA-Synthetase (450 Aminosäuren^[150]) aufeinanderfolgen^[108]. Die Nucleotidsequenz der RNA des Bakteriophagen f2 unterscheidet sich im Bereich des Hüllprotein-cistrons nur geringfügig von der des Bakteriophagen R 17^[151]. Eukaryontische mRNA soll monocistronisch sein^[152].

3.1.4. Die Verlängerungsfaktoren

Proteinfaktoren für die Kettenverlängerung wurden zuerst aus dem durch hochtourige Zentrifugation von *E. coli*-Extrakten gewonnenen Überstand isoliert. Es wurden zunächst zwei Faktoren, G und T, unterschieden^[153, 154], die später bis zur Kristallisation gereinigt werden konnten^[155, 156]. Der Faktor G hat ein Molekulargewicht von 84000, zerfällt in 4 M Harnstofflösung in zwei Untereinheiten von je 42550 und in 8 M Harnstofflösung in insgesamt vier inaktive Untereinheiten, für die ein Molekulargewicht von je 23260 gemessen wurde. SH-Reagentien hemmen die Aktivität des Faktors G^[157, 158]. In schnell wachsenden *E. coli* macht die Translocase (= Faktor G) 2% des gesamten Proteins des ribosomenfreien Extraktes aus^[159]. Der Faktor T aus *E. coli* und aus *P. fluorescens* ließ sich in eine wärmestabilere Komponente T_s und eine wärmelabilere Komponente T_u auftrennen^[160]. Der Faktor T_u bildet mit dem Faktor T_s einen Komplex, der in Gegenwart von GTP in einen T_u-GTP-Komplex und T_s zerfällt^[161].

Drei aus *B. stearothermophilus* gewonnene Verlängerungsfaktoren S₁, S₂ und S₃ entsprechen den Faktoren T_s, G und T_u. Sie sind jedoch alle verhältnismäßig wärmestabil^[162]. Auch aus Hefe konnten Verlängerungsfaktoren isoliert werden^[163, 164]. Die in Rattenleber gefundenen Verlängerungsfaktoren^[165] ließen sich später in zwei Fraktionen, Transferase I und II genannt, auflösen^[166, 167]. Sie entsprechen in der Wirkungsweise den Faktoren T und G^[168–175]. Das Molekulargewicht der Transferase I beträgt 186000, das der Transferase II 70000^[176]. Transferase II enthält essentielle SH-Gruppen^[176]. Transferase I wird auch als Bindungsenzym, Transferase II auch als Translocase bezeichnet.

In Prokaryonten ließ sich jeweils nur ein Faktor T und nur ein Faktor G nachweisen^[177], während aus Eukaryonten zwei oder mehr Bindungsenzyme bzw. Translocasen isoliert werden konnten^[177–180]. Von diesen ist möglicherweise ein Typ für 70S- und ein anderer für 80S-Ribosomen spezifisch^[177, 178, 181]. Es wurde aber auch die teilweise Austauschbarkeit der Elongationsfaktoren zwischen Prokaryonten und Eukaryonten beschrieben^[182, 183]. Gleichfalls ist offen, inwieweit eine Organspezifität der Verlängerungsfaktoren besteht^[184, 185]. Vor kurzem wurde über eine Mutante von *E. coli* berichtet, die gegen Fusidinsäure, einen spezifischen Hemmstoff der Translocation, resistent war. Sie besaß einen veränderten G-Faktor^[186].

3.1.5. Ribosomen und GTP

GTP ist sowohl bei der Bindung von Aminosäure-tRNA als auch bei der Translokation der neu gebildeten Peptidyl-tRNA von der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle A zur Peptidyl-Donorstelle P erforderlich.

Einen groben Überblick über die Struktur der Ribosomen haben wir bereits im Abschnitt 2.1.5 und in Tabelle 2 gegeben. – Für die große Untereinheit der Ribosomen aus Rattenleber wurde eine Struktur mit einer Art Tunnel oder Kanal vorgeschlagen, durch den die Proteine geschleust werden, die in den intrazisternalen Raum des endoplasmatischen Reticulums transportiert werden sollen^[187, 188]. Das Ribosom sitzt mit der großen Untereinheit der endoplasmatischen Membran auf^[189, 190].

3.2. Der Reaktionsablauf der Kettenverlängerung

Eine Übersicht ist in Abbildung 8 wiedergegeben. Die folgende Darstellung basiert vor allem auf Ansichten, die in Versuchen mit zellfreien, Aminosäuren in proteinähnliches Material inkorporierenden Systemen gewonnen wurden. Es wird zunächst ein Komplex aus Aminosäure-tRNA, dem Faktor T_u und GTP gebildet^[162, 191]. Unbeladene tRNA wird nicht gebunden und hemmt auch nicht die Bindung von Aminoacyl-tRNA^[97, 162, 192]. Aus dem Komplex heraus wird die Aminosäure-tRNA an das Ribosom an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle gebunden. Nach der Bindung der Aminosäure-tRNA an den mRNA-Ribosomen-Komplex wird GTP gespalten^[193]. Diese Spaltung scheint vor der Knüpfung der Peptidbindung und vor der Translocation stattzufinden: Fusidinsäure, ein Antibiotikum, welches die GTPase-Aktivität des an der Translocation beteiligten Proteinfaktors G hemmt, hat z. B. keinen hemmenden Einfluß auf die Spaltung von GTP durch T_u + T_s^[193]. In Gegenwart von GMPPCP, das enzymatisch nicht zu GDP und Phosphat gespalten werden kann, wird zwar die Aminosäure-tRNA noch an den Komplex mRNA-Ribosom gebunden, es kommt aber im Gegensatz zu den mit GTP beobachteten Befunden nicht zur Knüpfung einer Peptidbindung^[193–195].

Sparsomycin, ein Antibiotikum, das die Bildung der Peptidbindung hemmt^[196, 197], beeinflußt weder die Bindung der Aminosäure-tRNA an das Ribosom^[198] noch die Spaltung von GTP durch T_u + T_s^[193]. Der Faktor T_s hat anscheinend die Funktion, den nach der Bindung der Aminosäure-tRNA an das Ribosom freigesetzten Komplex T_u-GDP mit GTP und Aminosäure-tRNA wieder zu Aminosäure-tRNA-T_u-GTP zu regenerieren^[199]. Ein und derselbe T_u-Faktor kann mit mehreren Aminosäure-tRNA-Spezies reagieren^[97].

Die ersten Befunde über die Spaltung von GTP bei der Bindung von Aminosäure-tRNA an den Komplex mRNA-Ribosom und die Notwendigkeit eines Überstandfaktors wurden übrigens nicht in zellfreien Systemen aus Mikroorganismen, sondern aus Reticulocyten erhoben^[200].

Nach der Anheftung der neuen Aminosäure-tRNA an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle wird Formylmethionin aus seiner Bindung an die tRNA_{Met} gelöst und unter Knüpfung einer Peptidbindung auf die α-Aminogruppe der neuen Aminosäure-tRNA übertragen. Die entstandene fMet-Aminoacyl-tRNA befindet sich nach wie vor an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle des Ribosoms^[194, 201, 202]. Das die Reaktion katalysierende Enzym, die Peptidyltransferase, ist ein Strukturprotein der 50S-Untereinheit des Ribosoms^[3, 73, 203, 204]. Eine 50S-Untereinheit enthält genau ein Molekül Peptidyltransferase^[205]. Proteine des durch hochtourige Zentrifugation gewonnenen Überstandes oder GTP sind nicht direkt an der Reaktion beteiligt^[3, 203, 204, 206]. Es werden jedoch Mg²⁺- und K⁺- oder NH₄⁺-Ionen benötigt^[143, 144]. Das 3'-terminale CCA-Ende der tRNA spielt sowohl bei der an der Peptidyl-Donorstelle gebundenen Peptidyl-tRNA als auch bei der an der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle gebundenen Aminosäure-tRNA für die Reaktion an der Peptidyltransferase eine Rolle^[207, 208]. Die Peptidyl-

transferase in Bakterien scheint nur die Reaktion von Aminosäure-tRNA mit blockierter α -Aminogruppe zu katalysieren. Dies mag der Grund dafür sein, daß in der Startaminosäure-tRNA in Bakterien die Aminogruppe des

Faktoren T bzw. G^[168-175]. Ein einziges Molekül Transferase II kann die Translocation an mehreren Ribosomen katalysieren^[175]. Transferase II wird spezifisch durch Diphtherietoxin inaktiviert^[214, 215].

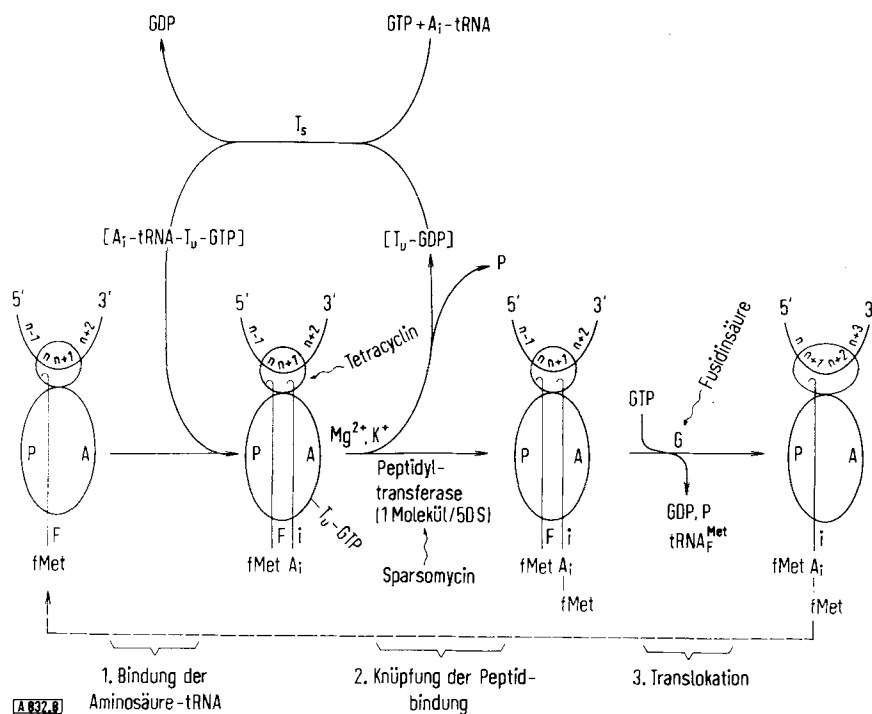


Abb. 8. Übersichtsschema der Kettenverlängerung (nach Waterson, Beaud und Lengyel [199], modifiziert). A_i = Aminosäure. Weitere Erläuterungen s. Text.

Methionins formyliert sein muß. Bei der Kettenverlängerung ist die blockierende Gruppe der Peptidylrest. In den größeren Ribosomen aus Eukaryonten hat sich möglicherweise im Laufe der Evolution ein anderer Mechanismus herausgebildet, der Spezifität des Starts auch bei nicht-formylierter Startaminosäure garantiert.

Anschließend findet die Translocation der neu gebildeten fMet-Aminosäure-tRNA von der Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle zur Peptidyl-Donorstelle statt, wobei die noch an die Peptidyl-Donorstelle gebundene, nunmehr unbeladene tRNA_{fMet} frei wird. Das Ribosom bewegt sich dabei relativ zur mRNA um ein Triplet in 5' → 3'-Richtung^[209]. Die Translocation im zellfreien System ist vom Vorhandensein des Proteinfaktors G und der Spaltung von GTP in GDP und Phosphat abhängig^[194, 201, 202, 210-212]. An die freigewordene Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle des Ribosoms kann jetzt die durch das nächste Triplet der mRNA codierte Aminosäure-tRNA herantreten und der Zyklus von neuem beginnen.

Ebenso wie die Spaltung von GTP wird auch die Translocation durch Fusidinsäure blockiert^[211, 212]. Fusidinsäure-resistente Mutanten von *E. coli* besitzen einen veränderten G-Faktor^[213]. Die Translocation wird ferner durch GMPPCP gehemmt^[92, 194, 202, 210, 211].

In Systemen aus Rattenleber gleichen die Funktionen der Transferasen I bzw. II^[165-167] im wesentlichen denen der

4. Der Kettenabschluß

4.1. Die Reaktionspartner

4.1.1. mRNA mit Terminationsabschnitt

Stoppsignale in der mRNA sind die Triplets UAA, UAG und UGA^[216-226]. Sie werden als Ocker-, Amber- bzw. Opal-Codon bezeichnet. Da sie weder die Bindung einer der bekannten Aminosäure-tRNA an Ribosomen^[227, 228] noch die Inkorporation von Aminosäuren in proteinähnliches Material stimulierten^[229], wurden sie auch Nonsense-Codons genannt. Es wurde vermutet, daß Terminatortriplets auch direkt hintereinander vorkommen können^[230], was kürzlich durch Aufklärung der Basensequenz des das Stoppsignal enthaltenden Abschnittes der RNA des Bakteriophagen R 17 bestätigt wurde^[231]. Es bleibt abzuwarten, ob doppelte Stoppsignale allgemeiner auftreten. Dies würde einen Schutz gegen eine durch Mutation des Stoppsignals verursachte Synthese unsinniger Proteine bedeuten und so dem betreffenden Organismus einen Selektionsvorteil bieten.

4.1.2. Ablösefaktoren

Zum Ablösen der fertigen Polypeptidkette aus dem Komplex Polypeptidyl-tRNA-Ribosom ist die Gegenwart eines Ablösefaktors^[232] erforderlich. Es ließen sich zwei Arten

von Ablösefaktoren, R_1 und R_2 , voneinander unterscheiden. R_1 ist spezifisch für UAA und UAG, und R_2 ist spezifisch für UAA und UGA^[233, 234]. Die Faktoren finden sich im Zellsaft, sind nicht dialysierbar und werden durch Trypsin und *N*-Äthylmaleimid, nicht aber durch Ribonuclease, inaktiviert^[234]. Diese Eigenschaften entsprechen denen von Proteinen mit freien Mercaptogruppen. Das Molekulargewicht von R_1 beträgt 44000, das von R_2 47000. Ein Bakterium soll je etwa 500 Moleküle R_1 und R_2 enthalten^[235]. Bei 30000 Ribosomen pro Bakterium^[236] wäre das ein Ablösefaktor pro 30 Ribosomen.

Die Erkennung der Terminatortripletts wird durch ein weiteres Protein, den Faktor S, gefördert^[237].

4.1.3. Dissoziationsfaktor und Ribosomen

Nach Ablösen der Polypeptidyl-tRNA zerfällt der mRNA-Ribosomenkomplex^[238, 239]. Die Ribosomen werden entweder sofort als Untereinheiten oder zunächst als freie 70S-Ribosomen abgelöst^[240–243], die dann anschließend in Untereinheiten zerfallen. Dabei wirkt der Dissoziationsfaktor mit^[244]. Dieser wurde wie die Startfaktoren an den nativen 30S-Untereinheiten, nicht jedoch an 70S-Ribosomen gefunden. Er scheint jedoch vor Eintreten der Dissoziation an das Ribosom gebunden zu werden^[245]. Nach der Spaltung der Ribosomen verbleibt der Dissoziationsfaktor an der kleinen Untereinheit. Freie 70S-Ribosomen in der Zelle oder im Bakterium sind vielleicht ein Artefakt^[246]. Die Dissoziationswirkung der Startfaktoren ist in Abschnitt 2.2 erwähnt worden. Möglicherweise sind Dissoziationsfaktor und F_3 identisch^[54, 55, 103, 105]. In *E. coli* ist F_3 der einzige Dissoziationsfaktor^[104].

Der Dissoziationsfaktor ist wahrscheinlich spezies-spezifisch: Eine Proteinfraction aus *Saccharomyces cerevisiae* mit dissoziierender Aktivität gegenüber Ribosomen aus *Saccharomyces* zeigte keine Dissoziationswirkung gegenüber Ribosomen aus *Escherichia coli* oder aus Kaninchen-Reticulocyten^[247].

4.2. Der Reaktionsablauf des Kettenabschlusses

Sobald eines oder zwei der Terminatorcodons bei der Bewegung der mRNA längs der 30S-Untereinheit an deren Aminosäure-tRNA-Acceptorstelle angelangt ist, hört die Polypeptidkettensynthese auf^[216, 218–220]. Entsteht ein Nonsense-Codon durch Mutation aus einem Triplet für eine Aminosäure, so kommt es zum vorzeitigen Kettenabbruch und zur Synthese eines Proteinfragments^[248].

Zur Untersuchung des Kettenabschlusses wurden vor allem Mutanten der Phagen R 17 oder f2 mit einem durch Mutation entstandenen UAG-Triplett benutzt. Man verwendete solche Phagen, bei denen dieses Triplet am Anfang des Gens für das Hüllprotein entstanden war und beobachtete im zellfreien System die Synthese eines Hexapeptids, welches dem *N*-terminalen Ende des Hüllproteins entsprach^[232, 249, 250]. Die entstandene Hexapeptidyl-tRNA war noch an den mRNA-Ribosomenkomplex gebunden und konnte so als Substrat (Abb. 9) für den Nachweis des Ablösefaktors benutzt werden. Ein weiteres Testsubstrat war der nach Inkubation von AUG mit fMet-tRNA und Ribosomen entstandene AUG-fMet-tRNA-

Ribosomenkomplex. Formylmethionin wurde aus diesem Komplex in Gegenwart der Ablösefaktoren und eines der Nonsense-Triplets freigesetzt^[233]. Mit diesen Tests konnten aus einer rohen Fraktion zwei Ablösefaktoren, R_1 und

1. Hexapeptidyl-tRNA₆-Ribosom-RNA
2. fMet-tRNA^{fMet}-Ribosom-AUG

Abb. 9. Substrate für den Nachweis des Ablösefaktors.

R_2 , mit der im Abschnitt 4.1.2 beschriebenen Codonspezifität isoliert werden^[234, 235]. Kürzlich wurde gezeigt, daß R_1 und R_2 nicht nur für die Ablösung unfertiger, kurzer Oligopeptidbruchstücke, sondern auch für die Ablösung fertiger Proteine notwendig sind^[251, 252].

Formylmethionin wird nur dann freigesetzt, wenn Formylmethionin-tRNA in der Peptidyl-Donorstelle gebunden ist. Die Freisetzung wird durch Sparsomycin, Chloramphenicol und andere Antibiotika gehemmt^[253].

Vor kurzem wurde über Versuche mit einem Puromycinanalogon, in dem die α -Aminogruppe durch eine Hydroxygruppe ersetzt worden war, berichtet^[254, 255]. Die Peptidyltransferase war in der Lage, den Peptidylrest auf die Hydroxygruppe des Puromycinanalogons zu übertragen. Dieser Vorgang war jedoch langsamer als die Knüpfung der Peptidbindung. In anderen Versuchen konnte Formylmethioninäthylester durch nucleophilen Angriff von Äthanol auf fMet-tRNA^{fMet} am Ribosom freigesetzt werden^[256]. Die Reaktion wurde durch tRNA oder CCA bis zu 20-fach stimuliert. Es erhebt sich die Frage, ob etwa beim Kettenabschluß die Spezifität der Peptidyltransferase verändert wird, so daß der Polypeptidylrest statt auf eine weitere Aminosäure auf eine Hydroxygruppe, z. B. des Wassers, übertragen wird. Bindungsversuche weisen darauf hin, daß R_1 und R_2 bei der Erkennung des Stopcodons von Bedeutung sein könnten^[253, 257], wobei der Proteinfaktor S stimulierend wirkt^[237].

Vor der Bildung eines neuen Startkomplexes müssen die Ribosomen in Untereinheiten dissoziieren. An dieser Dissoziation ist der Dissoziationsfaktor nicht als Katalysator, sondern in zu den Ribosomen stöchiometrischer Menge beteiligt^[244]. Die Dissoziation der Ribosomen in Untereinheiten vor Beginn der Synthese einer neuen Polypeptidkette ging aus Austauschexperimenten hervor, bei denen eine Kultur wachsender Bakterien aus einem Medium mit schweren Isotopen in ein solches mit leichten Isotopen transferiert wurde^[258, 259].

Die Dissoziation der Ribosomen vor der Bindung der Startaminosäure-tRNA ließ sich auch im zellfreien System zeigen: „Schwere“ 70S-Ribosomen wurden aus *E. coli*-Bakterien gewonnen, welche in einem Medium mit D₂O und ¹⁵N gezüchtet worden waren. „Leichte“ Ribosomenuntereinheiten wurden aus *E. coli*-Bakterien, die in H₂O und ¹⁴N enthaltendem Medium gewachsen waren, isoliert. Im Experiment wurden dann „schwere“ 70S-Ribosomen mit „leichten“ 50S-Untereinheiten, Poly(A,U,G), Startfaktoren, Val-tRNA, fMet-tRNA^{fMet} und GTP unter für die Synthese von Protein geeigneten Bedingungen inkubiert. Danach wurde das Gemisch durch Zentrifugation im Dichtegradienten analysiert. Es stellte sich heraus, daß fMet-tRNA^{fMet} vorwiegend an hybride leicht/schwere Ribo-

somen gebunden war, während Val-tRNA vor allem an rein schwer/schweren Ribosomen vorkam. Daneben fanden sich freie schwere und leichte Untereinheiten.

Das Experiment ist schematisch in Abbildung 10 dargestellt. Es folgt, daß vor der Bindung der für den Kettenstart nötigen fMet-tRNA die Ribosomen erst in ihre Untereinheiten dissoziieren müssen, während die bei der Ketten-

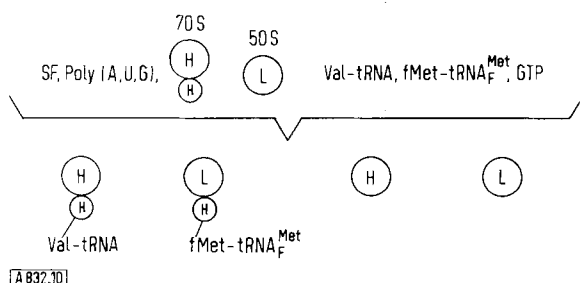


Abb. 10. Dissoziation der Ribosomen vor dem Start einer neuen Polypeptidkette, schematisch. H bzw. L kennzeichnet die Verwendung von D_2O und ^{15}N bzw. H_2O und ^{14}N im Medium, aus dem die betreffenden Ribosomen oder Ribosomenuntereinheiten stammen. Die geschweifte Klammer symbolisiert die Inkubation zur Proteinsynthese. SF = Startfaktoren. Weitere Erläuterungen s. Text.

verlängerung erforderliche Val-tRNA an die Ribosomen gebunden werden kann, ohne daß diese vorher dissoziieren müssen^[77]. Die Dissoziation von Ribosomen und der Austausch von Ribosomenuntereinheiten wurden später auch für Eukaryonten nachgewiesen^[260-265].

Bei herabgesetzter Proteinsynthese häufen sich 70S-Ribosomen an. Es wurde daher als Erklärung vorgeschlagen^[246], daß die Ribosomen von der mRNA normalerweise als Untereinheiten abgelöst werden. Bei herabgesetzter Proteinsynthese akkumulieren Untereinheiten, die zu 70S-Ribosomen zusammentreten können. Diese 70S-Ribosomen können jedoch nicht an der Proteinbiosynthese teilnehmen, sondern sind als eine Art Speicher vorübergehend nicht benötigter Untereinheiten anzusehen. Bei einer Zunahme der Proteinsynthese werden sie wieder mobilisiert.

5. Geschwindigkeit der Translation

Einen Überblick über die für die Verlängerung der Polypeptidkette gemessenen Geschwindigkeiten gibt Tabelle 3. Es fällt auf, daß die Elongation in zellfreien Systemen nur sehr langsam vor sich geht. Die höchsten Geschwindigkeiten wurden für die Synthese von Virusprotein in Tabakpflanzenblättern^[266] und die Synthese von β -Galaktosidase in *E. coli*^[269] nachgewiesen. Die Geschwindigkeit der Elongation der Polypeptidkette war für maximal und für nur zu 30% des Maximalwertes induzierte β -Galaktosidase gleich groß. Im Hämoglobin wird die α -Kette des Globins schneller verlängert als die β -Kette^[276]. Die gemessenen Geschwindigkeiten sind von der Temperatur abhängig. Dem poikilothermen Krötenfisch (*Opsanus tau*), einem Organismus, der sich also an niedrige Wassertemperaturen anpassen kann, gelingt es jedoch, eine gleichbleibende Elongationsgeschwindigkeit auch bei niedrigen Temperaturen aufrechtzuerhalten^[277]. Für die Dauer des Ribo-

somenzyklus, d.h. Polypeptidkettensynthese + Dissoziation + Reassoziierung der Untereinheiten, wurden bei 37 °C in *B. licheniformis* 10 Minuten^[278], bei *B. megaterium* 7–10 Minuten^[279] gemessen. Diese Werte stehen im Einklang

Tabelle 3. Zeitbedarf für die Verlängerung der Polypeptidkette.

System	Aminosäure/ Sekunde	T (°C)	Lit.
Viren:			
TMV-Protein; in vivo; (Blattschieben)	> 2–3	15	[266]
f2-Phagen-Hüllprotein; zellfreies System aus <i>E. coli</i>	> 20	28	[239]
T4-Phagen-Lysozym; zellfreies System aus <i>E. coli</i>	0.4–0.5	32–33	[267]
	1.6	25	
	3.0	31	
Bakterien:			
Anthraxisäure- und Tryptophan-Synthetase in <i>E. coli</i>	6.9 ± 1.4	37	[268]
maximal und 30% maximal induzierte β -Galaktosidase in <i>E. coli</i>	15	37	[269]
β -Galaktosidase (am Beginn der Induktion) in <i>E. coli</i>	13.0–14.6	37	[270]
Eukaryonten:			
Hämoglobin in Reticulocyten von Kaninchen	0.5	15	[271]
Eiklar-Lysozym in zerkleinertem Eileitersgewebe von Hühnern	2	37	[272]
Albumin in perfundierter Rattenleber	1	37	[272]
β -Kette des Globins in Reticulocyten von Kaninchen	3.7–4.6	nicht angegeben	[273]
Hämoglobin in Erythrocyten von Hühnern	2–3	30	[274]
α -Kette des Globins in Reticulocyten von Kaninchen	4–6	37	[275]
β -Kette des Globins in Reticulocyten von Kaninchen	2.5	37	[276]
	0.83	20	
	8.3	37	
	0.58	20	
	5.2	37	

mit den gemessenen Elongationsgeschwindigkeiten, wenn man annimmt, daß ein Ribosom in vivo einen polycistronischen mRNA-Strang übersetzt.

6. Der Energiebedarf der Proteinsynthese

Für die Aktivierung der Aminosäuren werden zwei ATP pro Aminosäure verbraucht. In in-vitro-Versuchen, in denen der Faktor G mit dem Komplex Aminosäure-tRNA-GTP- T_u inkubiert wurde, hatte sich gezeigt, daß die Spaltung von GTP, das bei der Bindung der Aminosäure-tRNA an das mRNA-Ribosom eine Rolle spielt, nicht die anschließende Translocation ermöglicht. Das heißt, daß zumindest in vitro eine vier ATP äquivalente Energiemenge pro inkorporierte Aminosäure benötigt wird.

7. Die zellfreie Synthese spezifischer Proteine

Der Ablauf der Translation läßt sich auch in zellfreien Systemen untersuchen, die nur Teilschritte der Translation vollziehen können. Ein solches System kann z. B. zur Verlängerung bereits angefangener Polypeptidketten fähig sein, nicht aber zum Start neuer Ketten. Um die Regulation der Synthese spezifischer Proteine in vitro studieren zu

können, ist deren vollständige de-novo-Synthese in einem zellfreien System notwendig.

Die vollständige de-novo-Synthese von spezifischen Proteinen in zellfreien Systemen ist wiederholt beschrieben worden (Zusammenfassung der Literatur siehe ^[280]). So wurde bereits 1962 über die de-novo-Synthese von β -Galaktosidase und alkalischer Phosphatase in zellfreien Präparationen aus *E. coli* berichtet^[281]. Bei einer Wiederholung dieser Versuche unter den beschriebenen Isolierungs- und Inkubationsbedingungen^[281, 282] wurde jedoch gefunden, daß jene sogenannten zellfreien Präparationen noch lebensfähige Zellen enthielten und daß die beobachtete Synthese von β -Galaktosidase wahrscheinlich auf diese Zellen zurückzuführen ist^[283]. Eine Kontrolle auf Anwesenheit von Bakterien fehlt bei vielen der publizierten zellfreien Synthesen spezifischer Proteine in Systemen aus Mikroorganismen.

In neuerer Zeit wurde vor allem die Stimulierung der Synthese von Virusproteinen durch Virusnucleinsäuren in zellfreien Systemen aus *E. coli* studiert. So wurde die zellfreie Synthese von α - und β -Glucosyltransferase^[284–286], Lysozym^[285, 287–290], d-CMP-Desaminase^[285] und β -Galaktosidase^[291] in Systemen aus *E. coli*, die mit DNA von Bakteriophagen programmiert worden waren, beschrieben. Die in vitro synthetisierte Menge Lysozym^[288] entsprach allerdings nur etwa 0.1–1 % des in vivo gebildeten Betrages^[292]. Ferner soll auch die zellfreie Synthese von Monomeren der alkalischen Phosphatase^[293] und von Tryptophanase^[294] in Systemen aus *E. coli* möglich sein. Schließlich wurde die in-vitro-Synthese von Proteinen tierischer Viren, so z. B. des Poliovirus^[295] und des SV40-Virus^[296] in zellfreien Systemen aus *E. coli*, die mit Poliovirus-RNA oder SV40-DNA versetzt worden waren, publiziert.

Neben der Verunreinigung mit intakten Zellen, die besonders in zellfreien Systemen aus Prokaryonten problematisch ist, da diesen Systemen keine Hemmstoffe der bakteriellen Proteinsynthese zugesetzt werden können, ist die einwandfreie Charakterisierung des Reaktionsproduktes wichtig. Für zellfreie Systeme, die markierte Aminosäuren in den Globinanteil des Hämoglobins inkorporieren, wurde zum Beispiel kürzlich gezeigt, daß nennenswerte Mengen markierter Aminosäuren sich in Peptiden fanden, die nicht zu Hämoglobin gehören^[297]. Beruht der Nachweis der zellfreien de-novo-Synthese nur auf der Inkorporation radioaktiver Aminosäuren in spezifische Proteine, so müssen diese bis zu konstanter spezifischer Radioaktivität gereinigt werden. Zahlreiche ältere Berichte über die zellfreie Synthese von Albumin, in denen radioaktiv markiertes Albumin durch Immunpräzipitation isoliert worden war^[298–320], müssen überprüft werden, nachdem gezeigt wurde, daß eine Immunpräzipitation, sei es auf Cellulose als Träger^[321, 322] oder in Lösung^[323], kein radiochemisch reines Albumin ergibt^[323–325]. In einem zellfreien System aus Rattenleber, das ¹⁴C-Leucin gut in trichloressigsäure-fällbares Material inkorporierte, ließ sich nach Reinigung bis zu konstanter spezifischer Radioaktivität keine de-novo-Synthese von Albumin nachweisen^[326]. Schließlich können Aminosäuren auch auf anderen Wegen als dem der Proteinbiosynthese an Proteine gebunden werden und so eine In-

korporation durch Proteinbiosynthese vortäuschen. Eine eingehende Diskussion dieser Möglichkeit findet sich an anderer Stelle^[325–327].

Eingegangen am 29. März 1971 [A 832]

- [1] P. Lengyel u. D. Söll, *Bacteriol. Rev.* 33, 264 (1969).
- [2] K. Marcker u. F. Sanger, *J. Mol. Biol.* 8, 835 (1964).
- [3] J. H. Schwartz, R. Meyer, J. M. Eisenstadt u. G. Brawerman, *J. Mol. Biol.* 25, 571 (1967).
- [4] A. E. Smith u. K. A. Marcker, *J. Mol. Biol.* 38, 241 (1968).
- [5] K. A. Marcker u. A. E. Smith, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 51, 1453 (1969).
- [6] J. B. Galper u. J. E. Darnell, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 34, 205 (1969).
- [7] J. L. Epler, L. R. Shugart u. W. E. Barnett, *Biochemistry* 9, 3575 (1970).
- [8] A. E. Smith u. K. A. Marcker, *Nature* 226, 607 (1970).
- [9] B. F. C. Clark u. K. A. Marcker, *J. Mol. Biol.* 17, 394 (1966).
- [10] K. Marcker, *J. Mol. Biol.* 14, 63 (1965).
- [11] K. A. Marcker, B. F. C. Clark u. J. S. Anderson, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 31, 279 (1966).
- [12] R. W. Holley, J. Appar, G. A. Everett, J. T. Madison, M. Marquisee, S. H. Merrill, J. R. Penswick u. A. Zamir, *Science* 147, 1462 (1965).
- [13] S. K. Dube, K. A. Marcker, B. F. C. Clark u. S. Cory, *Nature* 218, 232 (1968).
- [14] J. M. Adams u. M. R. Capecchi, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 55, 147 (1966).
- [15] H. W. Dickermann, E. Steers jr., B. G. Redfield u. H. Weissbach, *J. Biol. Chem.* 242, 1522 (1967).
- [16] A. Hampel, M. Labanauskas, P. G. Connors, L. Kirkegard, U. L. Rajbandary, P. B. Sigler u. R. M. Bock, *Science* 162, 1384 (1968).
- [17] S.-H. Kim u. A. Rich, *Science* 166, 1621 (1969).
- [18] M. Levitt, *Nature* 224, 759 (1969).
- [19] J. Eisenstadt u. P. Lengyel, *Science* 154, 524 (1966).
- [20] D. Kolakofsky u. T. Nakamoto, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 56, 1786 (1966).
- [21] T. A. Sundararajan u. R. E. Thach, *J. Mol. Biol.* 19, 74 (1966).
- [22] R. E. Thach, K. F. Dewey, J. C. Brown u. P. Doty, *Science* 153, 416 (1966).
- [23] J. C. Brown u. P. Doty, *Biochim. Biophys. Acta* 228, 746 (1971).
- [24] H. P. Ghosh, D. Söll u. H. G. Khorana, *J. Mol. Biol.* 25, 275 (1967).
- [25] M. Salas, M. B. Hille, J. A. Last, A. J. Wahba u. S. Ochoa, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 57, 387 (1967).
- [26] W. M. Stanley jr., M. Salas, A. J. Wahba u. S. Ochoa, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 56, 290 (1966).
- [27] R. DeWachter u. W. Fiers, *Nature* 221, 233 (1969).
- [28] J. M. Adams u. S. Cory, *Nature* 227, 570 (1970).
- [29] J. M. Adams, P. G. N. Jeppesen, F. Sanger u. B. G. Barrell, *Nature* 223, 1009 (1969).
- [30] M. A. Billeter, J. E. Dahlberg, H. M. Goodman, J. Hindley u. C. Weissmann, *Nature* 224, 1083 (1969).
- [31] J. A. Steitz, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 621 (1969).
- [32] J. A. Steitz, *Nature* 224, 957 (1969).
- [33] M. S. Bretscher, *Nature* 220, 1088 (1968).
- [34] M. S. Bretscher, *J. Mol. Biol.* 42, 595 (1969).
- [35] J. Hindley u. D. H. Staples, *Nature* 224, 964 (1969).
- [36] H. F. Lodish, *J. Mol. Biol.* 50, 689 (1970).
- [37] G. Brawerman u. J. M. Eisenstadt, *Biochemistry* 5, 2784 (1966).
- [38] J. M. Eisenstadt u. G. Brawerman, *Biochemistry* 5, 2777 (1966).
- [39] M. Revel u. F. Gros, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 25, 124 (1966).
- [40] J. C. Brown u. P. Doty, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30, 284 (1968).
- [41] D. Kolakofsky, K. F. Dewey, J. W. B. Hershey u. R. E. Thach, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 61, 1066 (1968).
- [42] U. Maitra u. J. Dubnoff, *Fed. Proc.* 27, 398 (1968).
- [43] S. Ochoa, *Naturwissenschaften* 55, 505 (1968).
- [44] R. Parenti-Rosina, A. Eisenstadt u. J. M. Eisenstadt, *Nature* 221, 363 (1969).
- [45] M. Revel, J. C. Lelong, G. Brawerman u. F. Gros, *Nature* 219, 1016 (1968).
- [46] J. M. Eisenstadt u. G. Brawerman, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 58, 1560 (1967).

- [47] M. J. Miller, M. Zasloff u. S. Ochoa, FEBS Lett. 3, 50 (1969).
- [48] K. Iwasaki, S. Sabol, A. J. Wahba u. S. Ochoa, Arch. Biochem. Biophys. 125, 542 (1968).
- [49] M. Revel, M. Herzberg, A. Becarevic u. F. Gros, J. Mol. Biol. 33, 231 (1968).
- [50] J. W. B. Hershey, K. F. Dewey u. R. E. Thach, Nature 222, 944 (1969).
- [51] R. E. Thach, J. W. B. Hershey, D. Kolakofsky, K. F. Dewey u. E. Remold-O'Donnell, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 277 (1969).
- [52] A. J. Wahba, Y.-B. Chae, K. Iwasaki, R. Mazumder, M. J. Miller, S. Sabol u. M. A. G. Sillero, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 285 (1969).
- [53] Y.-B. Chae, R. Mazumder u. S. Ochoa, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 62, 1181 (1969).
- [54] S. Sabol, M. A. G. Sillero, K. Iwasaki u. S. Ochoa, Nature 228, 1269 (1970).
- [55] S. Lee-Huang, M. A. G. Sillero u. S. Ochoa, Europ. J. Biochem. 18, 536 (1971).
- [56] J. S. Dubnoff u. U. Maitra, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 68, 318 (1971).
- [57] R. Mazumder, Y.-B. Chae u. S. Ochoa, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 63, 98 (1969).
- [58] M. Revel, H. Aviv (Greenspan), Y. Groner u. Y. Pollack, FEBS Lett. 9, 213 (1970).
- [59] Y. Pollack, Y. Groner, H. Aviv (Greenspan) u. M. Revel, FEBS Lett. 9, 218 (1970).
- [60] P. M. Prichard, J. M. Gilbert, D. A. Shafritz u. W. F. Anderson, Nature 226, 511 (1970).
- [61] M. Herzberg, M. Revel u. D. Danon, Europ. J. Biochem. 11, 148 (1969).
- [62] S. M. Heywood, Nature 225, 696 (1970).
- [63] J. E. Fuhr, I. M. London u. A. I. Grayzel, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 63, 129 (1969).
- [64] S. M. Heywood, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 67, 1782 (1970).
- [65] D. A. Shafritz, P. M. Prichard, J. M. Gilbert u. W. F. Anderson, Biochem. Biophys. Res. Commun. 38, 721 (1970).
- [66] D. A. Shafritz u. W. F. Anderson, Nature 227, 918 (1970).
- [67] D. A. Shafritz u. W. F. Anderson, J. Biol. Chem. 245, 5553 (1970).
- [68] D. A. Shafritz, D. G. Laycock u. W. F. Anderson, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 68, 496 (1971).
- [69] P. Borst u. L. A. Grivell, FEBS Lett. 13, 73 (1971).
- [70] M. Yarmolinski u. G. L. de la Haba, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 45, 1721 (1959).
- [71] W. Gilbert, J. Mol. Biol. 6, 389 (1963).
- [72] A. J. Morris u. R. S. Schweet, Biochim. Biophys. Acta 47, 415 (1961).
- [73] R. E. Monro, B. E. H. Maden u. R. R. Traut in D. Shugar: Genetics Elements: Properties and Function. Academic Press, New York 1967, S. 179ff.
- [74] D. Kabat, Anal. Biochem. 39, 228 (1971).
- [75] J. E. Allende u. H. Weissbach, Biochem. Biophys. Res. Commun. 28, 82 (1967).
- [76] J. S. Anderson, M. S. Bretscher, B. F. C. Clark u. K. A. Marcker, Nature 215, 490 (1967).
- [77] C. Guthrie u. M. Nomura, Nature 219, 232 (1968).
- [78] J. W. B. Hershey u. R. E. Thach, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 57, 759 (1967).
- [79] M. B. Hille, M. J. Miller, K. Iwasaki u. A. J. Wahba, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 58, 1652 (1967).
- [80] P. Leder u. M. M. Nau, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 58, 774 (1967).
- [81] J. Lucas-Lenard u. F. Lipman, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 57, 1050 (1967).
- [82] M. A. Mukundan, J. W. B. Hershey, K. F. Dewey u. R. E. Thach, Nature 217, 1013 (1968).
- [83] M. Nomura u. C. V. Lowry, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 58, 946 (1967).
- [84] J. S. Anderson, J. E. Dahlberg, M. S. Bretscher, M. Revel u. B. F. C. Clark, Nature 216, 1072 (1967).
- [85] D. Kolakofsky, T. Ohta u. R. E. Thach, Nature 220, 244 (1968).
- [86] M. Nomura, C. V. Lowry u. C. Guthrie, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 58, 1487 (1967).
- [87] M. Revel, M. Herzberg u. H. Greenspan, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 261 (1969).
- [88] M. Revel, H. Greenspan u. M. Herzberg, Europ. J. Biochem. 16, 117 (1970).
- [89] M. Kondo, G. Eggerston, J. Eisenstadt u. P. Lengyel, Nature 220, 368 (1968).
- [90] H. P. Ghosh u. H. G. Khorana, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 58, 2455 (1967).
- [91] S. Sarkar u. R. E. Thach, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 60, 1479 (1968).
- [92] J. W. B. Hershey u. R. E. Monro, J. Mol. Biol. 18, 68 (1966).
- [93] T. Ohta, S. Sarkar u. R. E. Thach, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 58, 1638 (1967).
- [94] M. S. Bretscher u. K. A. Marcker, Nature 211, 380 (1966).
- [95] P. Leder u. H. Bursztyn, Biochem. Biophys. Res. Commun. 25, 233 (1966).
- [96] M. E. Gottesman, J. Biol. Chem. 242, 5564 (1967).
- [97] Y. Ono, A. Skoultchi, A. Klein u. P. Lengyel, Nature 220, 1304 (1968).
- [98] P. S. Rudland, W. A. Whybrow, K. A. Marcker u. B. F. C. Clark, Nature 222, 750 (1969).
- [99] Y.-B. Chae, R. Mazumder u. S. Ochoa, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 63, 828 (1969).
- [100] E. Remold-O'Donnell u. R. E. Thach, J. Biol. Chem. 245, 5737 (1970).
- [101] G. Mangiarotti, Nature 222, 947 (1969).
- [102] S. H. Miall, T. Kato u. T. Tamaoki, Nature 226, 1050 (1970).
- [103] A. R. Subramanian, B. D. Davis u. R. J. Beller, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 223 (1969).
- [104] A. R. Subramanian u. B. D. Davis, Nature 228, 1273 (1970).
- [105] B. D. Davis, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 299 (1969).
- [106] D. Kolakofsky, K. Dewey u. R. E. Thach, Nature 223, 694 (1969).
- [107] S. K. Dube u. P. S. Rudland, Nature 226, 820 (1970).
- [108] P. G. N. Jeppesen, J. A. Steitz, R. F. Gesteland u. P. F. Spahr, Nature 226, 230 (1970).
- [109] J. A. Steitz, S. K. Dube u. P. S. Rudland, Nature 226, 824 (1970).
- [110] H. F. Lodish, Nature 226, 705 (1970).
- [111] H. F. Lodish, Nature 224, 867 (1969).
- [112] H. F. Lodish u. H. D. Robertson, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 655 (1969).
- [113] W.-T. Hsu u. S. B. Weiss, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 64, 345 (1969).
- [114] C. T. Caskey, B. Redfield u. H. Weissbach, Arch. Biochem. Biophys. 120, 119 (1967).
- [115] C. T. Caskey, A. Beaudet u. M. Nirenberg, J. Mol. Biol. 37, 99 (1968).
- [116] K. Takeishi, T. Ukita u. S. Nishimura, J. Biol. Chem. 243, 5761 (1968).
- [117] U. L. RajBhandary u. H. P. Gosh, J. Biol. Chem. 244, 1104 (1969).
- [118] R. Jackson u. T. Hunter, Nature 227, 672 (1970).
- [119] D. B. Wilson u. H. M. Dintzis, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 66, 1282 (1970).
- [120] D. T. Wigle u. G. H. Dixon, Nature 227, 676 (1970).
- [121] H. M. Rho u. A. G. DeBusk, Biochem. Biophys. Res. Commun. 42, 319 (1971).
- [122] J. C. Brown u. A. E. Smith, Nature 226, 610 (1970).
- [123] G. D. Novelli, Annu. Rev. Biochem. 36, 449 (1967).
- [124] K. Moldave, Annu. Rev. Biochem. 34, 419 (1965).
- [125] R. Schweet u. R. Heintz, Annu. Rev. Biochem. 35, 629 (1966).
- [126] R. B. Loftfield u. E. A. Eigner, Biochim. Biophys. Acta 130, 426 (1966).
- [127] P. J. Peterson, Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 42, 552 (1967), zit. nach [1].
- [128] A. N. Baldwin u. P. Berg, J. Biol. Chem. 241, 831 (1966).
- [129] F. H. Bergmann, P. Berg u. M. Dieckmann, J. Biol. Chem. 236, 1735 (1961).
- [130] D. I. Hirsh u. F. Lipmann, J. Biol. Chem. 243, 5724 (1968).
- [131] M. Staehelin, Experientia (Birkhäuser-Verlag) 27, 1 (1971).
- [132] B. F. C. Clark, B. P. Doctor, K. C. Holmes, A. Klug, K. A. Marcker, S. J. Morris u. H. H. Paradies, Nature 219, 1222 (1968).
- [133] H. H. Paradies, FEBS Lett. 2, 112 (1968).
- [134] H. H. Paradies u. J. Sjöquist, Nature 226, 159 (1970).
- [135] P. G. Connors, M. Labanauskas u. W. W. Beeman, Science 166, 1528 (1969).
- [136] F. Cramer, F. v. d. Haar, W. Saenger u. E. Schlimme, Angew. Chem. 80, 969 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 895 (1968).
- [137] J. R. Fresco, R. D. Blake u. R. Langridge, Nature 220, 1285 (1968).

- [138] C. D. Johnson, K. Adolph, J. J. Rosa, M. D. Hall u. P. B. Sigler, *Nature* 226, 1246 (1970).
- [139] S.-H. Kim u. A. Rich, *Science* 162, 1381 (1968).
- [140] B. F. Cramer u. K. C. Holmes, *J. Mol. Biol.* 51, 523 (1970).
- [141] P. Lengyel in J. H. Taylor: *Molecular Genetics*. Academic Press, New York 1967, Teil II, S. 193 ff.
- [142] F. Lipmann in V. V. Koningsberger u. L. Bosch: *Biochimica et Biophysica Acta Library*. Elsevier Publ. Co., New York 1967, Bd. 10, S. 177.
- [143] R. E. Monro u. K. A. Marcker, *J. Mol. Biol.* 25, 347 (1967).
- [144] R. R. Traut u. R. E. Monro, *J. Mol. Biol.* 10, 63 (1964).
- [145] M. W. Nirenberg u. H. Matthaei, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 47, 1588 (1961).
- [146] W. S. Keller u. M. Schaechter, *J. Mol. Biol.* 50, 171 (1970).
- [147] J. A. Steitz, *J. Mol. Biol.* 33, 923 (1968).
- [148] K. Weber u. W. Konigsberg, *J. Biol. Chem.* 242, 3563 (1967).
- [149] K. Weber, *Biochemistry* 6, 3144 (1967).
- [150] M. R. Capecchi, *J. Mol. Biol.* 21, 173 (1966).
- [151] J. L. Nichols u. H. D. Robertson, *Biochim. Biophys. Acta* 228, 676 (1971).
- [152] R. F. Cox u. A. P. Mathias, *Biochem. J.* 115, 777 (1969).
- [153] J. E. Allende, R. Monro u. F. Lipmann, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 51, 1211 (1964).
- [154] Y. Nishizuka u. F. Lipmann, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 55, 212 (1966).
- [155] Y. Kazi u. N. Inoue, *J. Biochem. (Tokyo)* 64, 423 (1968).
- [156] A. Parmeggiani, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30, 613 (1968).
- [157] E. M. Gottschalk u. A. Parmeggiani, *FEBS-Abstracts* 1969, 142.
- [158] A. Parmeggiani u. E. M. Gottschalk, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 377 (1969).
- [159] P. Leder, L. E. Skogerson u. M. M. Nau, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 62, 454 (1969).
- [160] J. Lucas-Lenard u. F. Lipmann, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 55, 1562 (1966).
- [161] R. Ertel, B. Redfield, N. Brot u. H. Weissbach, *Arch. Biochem. Biophys.* 128, 331 (1968).
- [162] A. Skoultschi, Y. Ono, H. M. Moon u. P. Lengyel, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 60, 675 (1968).
- [163] M. S. Ayuso u. C. F. Heredia, *Europ. J. Biochem.* 7, 111 (1968).
- [164] D. Richter u. F. Klink, *FEBS Lett.* 2, 49 (1968).
- [165] J. M. Fessenden u. K. Moldave, *Biochemistry* 1, 485 (1962).
- [166] J. M. Fessenden u. K. Moldave, *J. Biol. Chem.* 238, 1479 (1963).
- [167] E. Gasior u. K. Moldave, *J. Biol. Chem.* 240, 3346 (1965).
- [168] E. Gasior u. K. Moldave, *Biochim. Biophys. Acta* 95, 679 (1965).
- [169] F. Ibuki, E. Gasior u. K. Moldave, *J. Biol. Chem.* 241, 2188 (1966).
- [170] E. Gasior, F. Ibuki u. K. Moldave, *Biochim. Biophys. Acta* 114, 209 (1966).
- [171] P. Rao u. K. Moldave, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 28, 909 (1967).
- [172] F. Ibuki u. K. Moldave, *J. Biol. Chem.* 243, 44 (1968).
- [173] F. Ibuki u. K. Moldave, *J. Biol. Chem.* 243, 791 (1968).
- [174] P. Rao u. K. Moldave, *J. Mol. Biol.* 46, 447 (1969).
- [175] K. Moldave, W. Galasinski, P. Rao u. J. Siler, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 347 (1969).
- [176] B. Hardesty, W. Culp u. W. McKeehan, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 331 (1969).
- [177] O. Ciferri, *Angew. Chem.* 82, 259 (1970); *Angew. Chem. internat. Edit.* 9, 248 (1970).
- [178] O. Tiboni, B. Parisi, A. Perani u. O. Ciferri, *J. Mol. Biol.* 47, 467 (1970).
- [179] J. Hradec, *FEBS Lett.* 10, 159 (1970).
- [180] M. Schneir u. K. Moldave, *Biochim. Biophys. Acta* 166, 58 (1968).
- [181] M. Grandi u. H. Kuntzel, *FEBS Lett.* 10, 25 (1970).
- [182] I. Krisko, J. Gordon u. F. Lipmann, *J. Biol. Chem.* 244, 6117 (1969).
- [183] O. Ciferri, B. Parisi, A. Perani u. M. Grandi, *J. Mol. Biol.* 37, 529 (1968).
- [184] L. Felicetti u. F. Lipmann, *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 548 (1968).
- [185] J. Hradec, *FEBS Lett.* 10, 163 (1970).
- [186] A. Bernardi u. P. Leder, *J. Biol. Chem.* 245, 4263 (1970).
- [187] G. Blobel u. D. D. Sabatini, *J. Cell Biol.* 45, 130 (1970).
- [188] D. D. Sabatini u. G. Blobel, *J. Cell Biol.* 45, 146 (1970).
- [189] D. D. Sabatini, Y. Tashiro u. G. E. Palade, *J. Mol. Biol.* 19, 503 (1966).
- [190] H. David u. I. Uerlings, *Acta Biol. Med. Germ.* 25, 343 (1970).
- [191] J. Gordon, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 59, 179 (1968).
- [192] J. Gordon, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 58, 1574 (1967).
- [193] Y. Ono, A. Skoultschi, J. Waterson u. P. Lengyel, *Nature* 222, 645 (1969).
- [194] A.-L. Haenni u. J. Lucas-Lenard, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 61, 1363 (1968).
- [195] L. Skogerson u. K. Moldave, *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 497 (1968).
- [196] I. H. Goldberg u. K. Mitsugi, *Biochemistry* 6, 372 (1967).
- [197] R. E. Monro u. D. Vazquez, *J. Mol. Biol.* 28, 161 (1967).
- [198] J. Lucas-Lenard u. A.-L. Haenni, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 59, 554 (1968).
- [199] J. Waterson, G. Beaud u. P. Lengyel, *Nature* 227, 34 (1970).
- [200] R. Arlinghaus, J. Shaeffer u. R. Schweet, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 51, 1291 (1964).
- [201] R. W. Erbe u. P. Leder, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 31, 798 (1968).
- [202] R. W. Erbe, M. M. Nau u. P. Leder, *J. Mol. Biol.* 39, 441 (1969).
- [203] B. E. H. Maden, R. R. Traut u. R. E. Monro, *J. Mol. Biol.* 35, 333 (1968).
- [204] R. E. Monro, *J. Mol. Biol.* 26, 147 (1967).
- [205] R. E. Monro, T. Staehelin, M. L. Celma u. D. Vazquez, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 357 (1969).
- [206] S. Pestka, *J. Biol. Chem.* 243, 2810 (1968).
- [207] R. E. Monro, J. Cerná u. K. A. Marcker, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 61, 1042 (1968).
- [208] I. Rychlik, S. Chládek u. J. Žemlička, *Biochim. Biophys. Acta* 138, 640 (1967).
- [209] J. D. Watson, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 46, 1399 (1964).
- [210] N. Brot, R. Ertel u. H. Weissbach, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 31, 563 (1968).
- [211] S. Pestka, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 61, 726 (1968).
- [212] N. Tanaka, T. Kinoshita u. H. Masukawa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30, 278 (1968).
- [213] T. Kinoshita, G. Kawano u. N. Tanaka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 33, 769 (1968).
- [214] R. J. Collier, *J. Mol. Biol.* 25, 83 (1967).
- [215] W. Johnson, R. J. Kuchler u. M. Solotorovsky, *J. Bacteriol.* 96, 1089 (1968).
- [216] S. Brenner, A. O. W. Siretton u. S. Kaplan, *Nature* 206, 994 (1965).
- [217] J. A. Last, W. M. Stanley jr., M. Salas, M. B. Hille, A. J. Wahba u. S. Ochoa, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 57, 1062 (1967).
- [218] J. F. Sambrook, D. P. Fan u. S. Brenner, *Nature* 214, 452 (1967).
- [219] M. G. Weigert u. A. Garen, *Nature* 206, 992 (1965).
- [220] M. G. Weigert, E. Lanka u. A. Garen, *J. Mol. Biol.* 23, 391 (1967).
- [221] M. S. Bretscher, H. M. Goodman, J. R. Menninger u. J. D. Smith, *J. Mol. Biol.* 14, 634 (1965).
- [222] M. C. Ganoza, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 31, 273 (1966).
- [223] M. C. Ganoza u. T. Nakamoto, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 55, 162 (1966).
- [224] N. K. Gupta, *J. Biol. Chem.* 243, 4959 (1968).
- [225] W. Keller, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 490 (1969).
- [226] D. C. Hawthorne, *J. Mol. Biol.* 43, 71 (1969).
- [227] R. Brimacombe, J. Trupin, M. Nirenberg, P. Leder, M. Bernfield u. T. Jaouni, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 54, 954 (1965).
- [228] D. Söll, E. Ohtsuka, D. S. Jones, R. Lohrmann, H. Hayatsu, S. Nishimura u. H. G. Khorana, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 54, 1378 (1965).
- [229] H. G. Khorana, *Harvey Lectures*, Ser. 62, 79 (1968).
- [230] T. Caskey, E. Scolnick, R. Tompkins, J. Goldstein u. G. Milman, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 479 (1969).
- [231] J. L. Nichols, *Nature* 225, 147 (1970).
- [232] M. R. Capecchi, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 58, 1144 (1967).
- [233] C. T. Caskey, R. Tompkins, E. Scolnick, T. Caryk u. M. Nirenberg, *Science* 162, 135 (1968).
- [234] E. Scolnick, R. Tompkins, T. Caskey u. M. Nirenberg, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* 61, 768 (1968).
- [235] M. R. Capecchi u. H. A. Klein, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 469 (1969).
- [236] F. Chapeville, P. Yot u. D. Paulin, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 34, 493 (1969).

- [237] J. Goldstein, G. Milman, E. Scolnick u. C. T. Caskey, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 65, 430 (1970).
- [238] D. Schlessinger u. D. Apirion, Annu. Rev. Microbiol. 23, 387 (1969).
- [239] R. E. Webster u. N. D. Zinder, J. Mol. Biol. 42, 425 (1969).
- [240] I. D. Algranati, N. S. Gonzalez u. E. G. Bade, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 62, 574 (1969).
- [241] R. E. Kohler, E. Z. Ron u. B. D. Davis, J. Mol. Biol. 36, 71 (1968).
- [242] R. E. MacDonald u. D. P. Yeater, Bacteriol. Proc. 1968, 113.
- [243] E. Z. Ron, R. E. Kohler u. B. D. Davis, J. Mol. Biol. 36, 83 (1968).
- [244] A. R. Subramanian, E. Z. Ron u. B. D. Davis, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 61, 761 (1968).
- [245] J. Talens, F. Kalousek u. L. Bosch, FEBS Lett. 12, 4 (1970).
- [246] R. Kaempfer, Nature 228, 534 (1970).
- [247] J. Pêtre, Europ. J. Biochem. 14, 399 (1970).
- [248] R. E. Webster, D. L. Engelhardt u. N. D. Zinder, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 55, 155 (1966).
- [249] M. S. Bretscher, J. Mol. Biol. 34, 131 (1968).
- [250] N. D. Zinder, D. L. Engelhardt u. R. E. Webster, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 31, 251 (1966).
- [251] M. R. Capecchi u. H. A. Klein, Nature 226, 1029 (1970).
- [252] A. L. Beaudet u. C. T. Caskey, Nature 227, 38 (1970).
- [253] R. K. Tompkins, E. M. Scolnick u. C. T. Caskey, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 65, 702 (1970).
- [254] S. Fahnestock, H. Neumann, V. Shashoua u. A. Rich, Biochemistry 9, 2477 (1970).
- [255] S. Fahnestock u. A. Rich, Nature New Biol. 229, 8 (1971).
- [256] E. Scolnick, G. Milman, M. Rosman u. T. Caskey, Nature 225, 152 (1970).
- [257] E. M. Scolnick u. C. T. Caskey, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 64, 1235 (1969).
- [258] R. Kaempfer, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 61, 106 (1968).
- [259] R. O. R. Kaempfer, M. Meselson u. H. J. Raskas, J. Mol. Biol. 31, 277 (1968).
- [260] R. Kaempfer u. M. Meselson, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 209 (1969).
- [261] R. Kaempfer, Nature 222, 950 (1969).
- [262] A. K. Falvey u. T. Staehelin, J. Mol. Biol. 53, 21 (1970).
- [263] C. Vesco u. B. Colombo, J. Mol. Biol. 47, 335 (1970).
- [264] S. D. Adamson, G. A. Howard u. E. Herbert, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 547 (1969).
- [265] C. Baglioni, C. Vesco u. M. Jacobs-Lorena, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 555 (1969).
- [266] H. Diring, F. A. Anderer u. G. Schramm, Z. Naturforsch. 22b, 1280 (1967).
- [267] J. M. Wilhelm u. R. Haselkorn, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 65, 388 (1970).
- [268] D. E. Morse, R. F. Baker u. C. Yanofsky, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 60, 1428 (1968).
- [269] F. Lacroute u. G. S. Stent, J. Mol. Biol. 35, 165 (1968).
- [270] A. Kepes u. S. Bequin, Biochim. Biophys. Acta 123, 546 (1966).
- [271] H. M. Dintzis, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 47, 247 (1961).
- [272] R. E. Canfield u. C. B. Anfinsen, Biochemistry 2, 1073 (1963).
- [273] P. W. Jungblut, Biochem. Z. 337, 297 (1963).
- [274] P. M. Knopf u. H. Lamfrom, Biochim. Biophys. Acta 95, 398 (1965).
- [275] D. Kabat, J. Biol. Chem. 243, 2597 (1968).
- [276] T. Hunt, T. Hunter u. A. Munro, J. Mol. Biol. 43, 123 (1969).
- [277] A. E. V. Haschemeyer, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 62, 128 (1969).
- [278] M. S. Van Dijk-Salkinoja u. R. J. Planta, Arch. Biochem. Biophys. 141, 477 (1970).
- [279] W. S. Kelley u. M. Schaechter, J. Mol. Biol. 50, 171 (1970).
- [280] B. Nisman u. J. Pelmont in J. N. Davidson u. W. E. Cohn: Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology. Academic Press, New York 1964, Bd. 3, S. 235.
- [281] B. Nisman, H. Fukuhara, J. Demailly u. C. Genin, Biochim. Biophys. Acta 55, 704 (1962).
- [282] D. H. L. Bishop, C. Roche u. B. Nisman, Biochem. J. 90, 378 (1964).
- [283] B. Tonomura u. J. C. Rabinowitz, J. Mol. Biol. 24, 177 (1967).
- [284] L. M. Gold u. M. Schweiger, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 62, 892 (1969).
- [285] M. Schweiger u. L. M. Gold, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 763 (1969).
- [286] E. T. Young u. A. Tissière, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 766 (1969).
- [287] M. Schweiger u. L. M. Gold, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 63, 1351 (1969).
- [288] J. M. Wilhelm u. R. Haselkorn, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 793 (1969).
- [289] W. Salser, R. F. Gesteland u. A. Bolle, Nature 215, 588 (1967).
- [290] W. Salser, R. F. Gesteland u. B. Ricard, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 771 (1969).
- [291] G. Zubay u. D. A. Chambers, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 753 (1969).
- [292] J. Coolisma u. R. Haselkorn, Biochem. Biophys. Res. Commun. 34, 253 (1969).
- [293] F. C. Dohan jr., R. H. Rubman u. A. Torriani, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 768 (1969).
- [294] J. H. Parish, S. A. M. K. Bashir u. M. Brown, Biochem. J. 122, 21 P (1971).
- [295] D. Rekosh, H. F. Lodish u. D. Baltimore, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 34, 747 (1969).
- [296] R. N. Bryan, D. H. Gelfand u. M. Hayashi, Nature 224, 1019 (1969).
- [297] A. R. Hunter u. R. J. Jackson, Europ. J. Biochem. 15, 381 (1970).
- [298] P. N. Campbell, O. Greengard u. B. A. Kernot, Biochem. J. 74, 107 (1960).
- [299] A. Korner, Biochem. J. 76, 59 P (1960).
- [300] K. Ogata, R. Hirokawa u. S. Omori, Biochim. Biophys. Acta 40, 178 (1960).
- [301] P. N. Campbell in R. J. C. Harris: Protein Biosynthesis. Academic Press, New York 1961, S. 19.
- [302] N. Hirokawa, S. Omori, T. Takahashi u. K. Ogata, Biochim. Biophys. Acta 49, 612 (1961).
- [303] J. B. Lingrel u. G. Webster, Biochem. Biophys. Res. Commun. 5, 57 (1961).
- [304] K. Ogata, S. Omori, R. Hirokawa u. T. Takahashi, Proc. 5th Int. Congr. Biochem., Moskau 1961, Symposion 2, S. 183.
- [305] A. von der Decken u. P. N. Campbell, Biochem. J. 80, 38 P (1961).
- [306] A. von der Decken u. P. N. Campbell, Biochem. J. 80, 39 P (1961).
- [307] G. A. Braun, J. B. Marsh u. D. L. Drabkin, Metabolism 11, 957 (1962).
- [308] G. A. Braun, J. B. Marsh u. D. L. Drabkin, Biochem. Biophys. Res. Commun. 8, 28 (1962).
- [309] P. N. Campbell u. B. A. Kernot, Biochem. J. 82, 262 (1962).
- [310] K. Ogata, K. Ishikawa, H. Tominaga, I. Watanabe, T. Morita u. H. Sugano, Biochim. Biophys. Acta 76, 630 (1963).
- [311] A. von der Decken, Biochem. J. 88, 385 (1963).
- [312] M. C. Ganoza, C. A. Williams u. F. Lipmann, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 53, 619 (1965).
- [313] J. B. Marsh u. D. L. Drabkin, Biochim. Biophys. Acta 95, 173 (1965).
- [314] J. R. Sargent u. P. N. Campbell, Biochem. J. 96, 134 (1965).
- [315] C. A. Williams, M. C. Ganoza u. F. Lipmann, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 53, 622 (1965).
- [316] J. B. Marsh, D. L. Drabkin, G. A. Braun u. J. S. Parks, J. Biol. Chem. 241, 4168 (1966).
- [317] J. Seifert, H. Greim u. P. Chandra, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 349, 1179 (1968).
- [318] C. M. Redman, Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 845 (1968).
- [319] S. Hicks, J. W. Drysdale u. H. N. Munro, Science 164, 584 (1969).
- [320] C. M. Redman, J. Biol. Chem. 244, 4308 (1969).
- [321] G. Schreiber u. P. Feigelson, Analyt. Biochem. 21, 24 (1967).
- [322] G. Schreiber, H.-M. Rotermund, E. Dimigen u. H. Maeno, Z. Anal. Chem. 243, 173 (1968).
- [323] J. D. Judah u. M. R. Nicholls, Biochem. J. 123, 643 (1971).
- [324] G. Schreiber, H.-M. Rotermund, H. Maeno, K. Weigand u. R. Lesch, Europ. J. Biochem. 10, 355 (1969).
- [325] H.-M. Rotermund, G. Schreiber, H. Maeno, U. Weinssen u. K. Weigand, Cancer Res. 30, 2139 (1970).
- [326] H. Maeno, G. Schreiber, K. Weigand, U. Weinssen u. J. Zähringer, FEBS Lett. 6, 137 (1970).
- [327] G. Schreiber, J. Urban, J. Zähringer, W. Reutter u. U. Frosch, J. Biol. Chem. 246, 4531 (1971).