

- [6] M. A. Cambor, M. Constantini, A. Corma, L. Gilbert, P. Esteve, A. Martinez, S. Valencia, *Chem. Commun.* **1996**, 1339.
- [7] a) T. Sato, J. Dakka, R. A. Sheldon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1887; b) M. Cambor, A. Corma, J. Perez-Pariente, *ibid.* **1992**, 589.
- [8] a) S. M. Kuznicki (Engelhard Corporation), US Pat. 4938939, **1990**, *Chem. Abstr.* **1990**, 113, 175033s; b) S. M. Kuznicki (Engelhard Corporation), US Pat. 4853202, **1989**, *Chem. Abstr.* **1989**, 111, 216705s; c) V. Valtchev, S. Mintova, *Zeolites*, **1994**, 14, 697; d) M. W. Anderson, O. Terasaki, T. Ohsuna, A. Philippou, S. P. MacKay, A. Ferreira, J. Rocha, S. Lidin, *Nature* **1994**, 367, 347; e) G. Sankar, R. G. Bell, J. M. Thomas, M. W. Anderson, P. A. Wright, J. Rocha, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 449.
- [9] a) T. K. Das, A. J. Chandwadkar, S. Sivasanker, *Chem. Commun.* **1996**, 1105; b) X. Liu, J. K. Thomas, *ibid.* **1996**, 1435.
- [10] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* **1992**, 359, 710.
- [11] a) P. T. Tanev, M. Chibwe, T. J. Pinnavia, *Nature* **1994**, 368, 321; b) W. Zhang, J. Wang, P. T. Tanev, T. J. Pinnavia, *Chem. Commun.* **1996**, 979; c) W. Zhang, M. Fröba, J. Wang, P. T. Tanev, J. Wong, T. J. Pinnavia, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9164; d) S. Inagaki, Y. Fukushima, K. Kuroda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 680; e) K. A. Koyano, T. Tatsumi, *Chem. Commun.* **1996**, 145.
- [12] a) T. Maschmeyer, F. Rey, G. Sankar, J. M. Thomas, *Nature* **1995**, 378, 159; b) J. Haggin, *Chem. Eng. News* **1995**, 73 (46), 6.
- [13] a) M. A. Roberts, G. Sankar, J. M. Thomas, R. H. Jones, H. Du, J. Chen, W. Pang, R. Xu, *Nature* **1996**, 381, 401; b) M. Freemantle, *Chem. Eng. News* **1996**, 74(31), 47.
- [14] A. Voigt, R. Murugavel, M. L. Montero, H. Wessel, F.-Q. Liu, H. W. Roesky, I. Uson, T. Albers, E. Parisini, *Angew. Chem.*, eingereicht.
- [15] W. T. A. Harrison, T. E. Gier, G. D. Stucky, *Zeolites* **1995**, 15, 408.
- [16] H. Yoshida, T. Tanaka, M. Yamamoto, T. Funabiki, S. Yoshida, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, 2125.

Wie in vitro selektierte RNA-Aptamere funktionieren – die räumlichen Strukturen von Substrat-RNA-Aptamer-Komplexen**

Martin Egli*

Der Entwicklung neuer Medikamente geht heutzutage oft die Aufklärung der räumlichen Struktur eines Rezeptors, auf den man einwirken möchte, voraus. Handelt es sich dabei um ein Protein, ist die Kenntnis der räumlichen Gestalt der Bindungstasche und der Anordnung der mit dem Substrat wechselwirkenden Gruppen eine wertvolle Grundlage für zahlreiche methodische Ansätze zur Ermittlung des besten Inhibitors, darunter rechnergestützte Verfahren, organische Synthesen und die kombinatorische Chemie. Dieses von der Struktur des Rezeptors ausgehende Design trug wesentlich zur Entwicklung der HIV-Protease-Inhibitoren bei, die große Fortschritte bei der Behandlung von AIDS erwarten lassen. Wenn auch diese Vorgehensweise noch weit davon entfernt ist, zur Routine zu werden, so ist doch der umgekehrte Weg, d. h. die Herstellung eines maßgeschneiderten Rezeptors für ein chemisch und strukturell gut charakterisiertes Molekül, eine noch größere Herausforderung. Vor allem die große Zahl kleiner Energiebeiträge von Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophoben Wechselwirkungen in wäbrigem Milieu richtig zu berücksichtigen ist sehr schwierig. Das Aufkommen der In-vitro-Selektion, das durch Hilfsmittel wie die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und die reverse Transkription beschleunigt wurde, ermöglichte schließlich die Isolierung von aus Ribonucleinsäuren bestehenden Rezeptoren mit bestimmten erwünschten Fähigkeiten, die von der spezifischen Erkennung eines vorgegebenen Substrats bis zur Katalyse einer speziellen chemischen Reaktion reichen.^[1–3]

[*] Prof. M. Egli
Department of Molecular Pharmacology & Biological Chemistry
Northwestern University Medical School
303 East Chicago Avenue, Chicago, IL 60611-3008 (USA)
Telefax: Int. + 312/503-0796
E-mail: m-egli@nwu.edu

[**] Ich danke Dr. Michael Famulok und Prof. Dinshaw Patel für die Übersendung der Koordinaten der Aptamer-Komplexe von Arginin und Citrullin bzw. von ATP.

Ausgehend von Zufallsgemischen aus 10^{10} bis 10^{15} Molekülen wurden RNA- und DNA-Spezies erhalten, die einfache Farbstoffmoleküle, wichtige biologische Cofaktoren, Aminosäuren oder Antibiotika erkennen.^[4] Die Liste der selektierten Nucleinsäuremoleküle mit katalytischer Aktivität umfaßt unter anderem RNA mit Polynucleotidkinase-Aktivität,^[5] ein selbstalkylierendes Ribozym,^[6] RNA- und DNA-Moleküle mit Ligase-Aktivität^[7–9] und sowohl RNA- als auch DNA-Moleküle, die eine durch Metallionen vermittelte autolytische Spaltung eingehen.^[10–12] Die RNA-Aptamere – selektierte und optimierte RNA-Spezies, die mit Dissoziationskonstanten im mM- bis nM-Bereich kleine organische Moleküle an sich zu binden vermögen – sind ziemlich kompakt gebaut und etwa 40 Nucleotide lang. Ihre aus den Nucleotidsequenzen abgeleiteten Sekundärstrukturen weisen einige gemeinsame Merkmale auf, unter denen vor allem asymmetrische innere Schleifen zu erwähnen sind (siehe Abb. 1). Chemische Untersuchungsmethoden eignen sich zwar sehr gut zur Bestimmung der für die Substraterkennung essentiellen Bereiche einer substratbindenden RNA, nicht jedoch für eine detaillierte Aufklärung der Faltung der Kette und der räumlichen Gestalt der Bindungstasche. Einen plastischen Eindruck von den Möglichkeiten der RNA-Substrat-Bindung haben jetzt vier NMR-Untersuchungen entsprechender Komplexe in Lösung vermittelt. Drei davon wurden an Bindungspartnern wichtiger biologischer Cofaktoren – Adenosintriphosphat (ATP; Abb. 1a; zwei unabhängige Arbeiten^[13, 14]) und Flavin-Mononucleotid (FMN)^[15] – vorgenommen, die zuvor in den Arbeitsgruppen von Jack Szostak^[16] bzw. Michael Famulok^[17] selektiert worden waren. Die vierte galt RNA-Aptameren für die Aminosäuren Citrullin und Arginin^[18] und stammt von der gleichen Arbeitsgruppe, der auch die Selektion der Aptamere gelungen war^[19] (Abb. 1b).

Die Lösungs-NMR-spektroskopischen Daten des Komplexes zwischen dem ATP-Aptamer und Adenosinmonophosphat

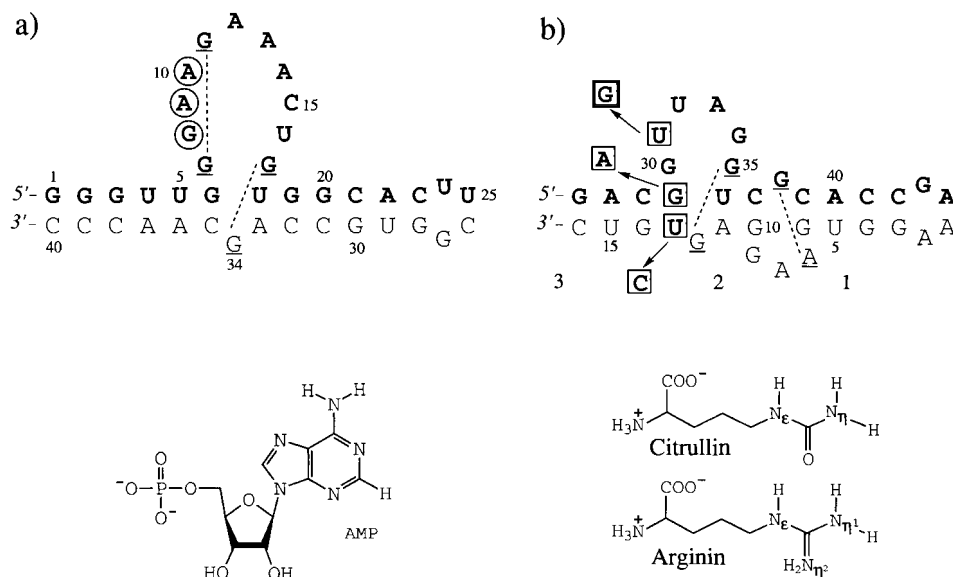


Abb. 1. Basensequenzen, Numerierungen und Sekundärstruktur-Vorschläge (letztere wurden nun durch NMR-Experimente in Lösung im wesentlichen bestätigt) der RNA-Aptamere von ATP (a) sowie von Arginin und Citrullin (b) und Strukturen der in den NMR-Experimenten eingesetzten Substrate. Die Basen eines Stranges sind fett gedruckt, um das Verfolgen der gefalteten Ketten in den Abbildungen 2 und 3 zu erleichtern. Die gestrichelten Linien zeigen die Bildung nichtkanonischer Homo-Purinbasenpaare an (G-G und G-A; diese Basen sind unterstrichen). Im ATP-Aptamer (a) bilden die eingekreisten Nucleotide zusammen mit dem Substrat AMP eine GNRA-Schleife. In (b) sind die drei veränderlichen, für die Arginin- bzw. Citrullin-Spezifität ausschlaggebenden Nucleotide von Quadraten umrahmt, und die Ziffern 1-3 unter dem Rezeptor kennzeichnen die Stammbereiche der Schleife.

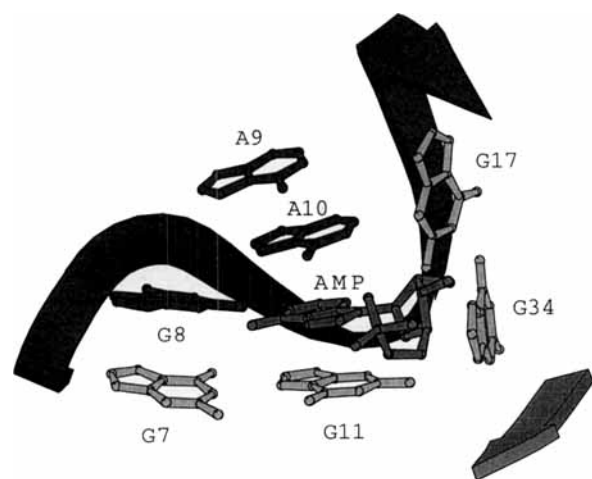


Abb. 2. Schematische Darstellung der Substratbindungsstelle des ATP-Aptamers mit dem gebundenen AMP-Molekül (in der Mitte). Die Rückgratstränge sind durch Bänder dargestellt, die den Abschnitten von G6 bis U18 (dunkelgraues Band) bzw. von A33 bis C35 (hellgraues Band) entsprechen. Die Faltung des größeren Teils der asymmetrischen Schleife zu zwei benachbarten Haarnadelschleifen ist deutlich zu erkennen. Die Substratbindungsstelle befindet sich am Übergang zwischen ihnen, und das AMP-Molekül ist in eine stabile Schleife G8-A9-A10-A(MP) integriert (dunkelgrau dargestellte Basen). Die G-G-Basenpaare, die die beiden Haarnadelschleifen abschließen und das Substrat umgeben, sind hellgrau wiedergegeben.

(AMP) als Substrat lassen sich mit einer L-förmigen Gestalt des RNA-Moleküls erklären (Abb. 2). Die innere Schleife ist zu zwei dichtgepackten Haarnadelschleifen gefaltet, die jeweils durch ein nichtkanonisches G-G-Basenpaar geschlossen werden; einer der Guaninreste ist hierbei das ausgelenkte G34 (Abb. 1a). Die Substratbindungstasche befindet sich am Übergang zwischen den beiden Haarnadelschleifen und wird durch den Rest A10 auf der einen und die Reste G7 und G11 auf der

anderen Seite (oben bzw. unten in Abb. 2) gebildet. Die letzteren beiden Basen bilden ein asymmetrisches Homo-Purinpaar, in dem die Watson-Crick-Seite von G7 der Hoogsteen-Seite von G11 gegenüberliegt. Die anderen Wandungen der Tasche werden von den Resten G8, A12 (in Abb. 2 nicht gezeigt) und G17 gebildet. Der erste bildet ein Paar mit der Adeninbase des Substrats (H-Brücken zu den Atomen N1 und N6 von AMP), die beiden anderen sind über ihre exocyclischen Aminogruppen an das N3-Atom von AMP H-Brücken-gebunden. A12 ist auf den Rest G34 gestapelt, der gleichzeitig mit G17 ein Basenpaar vom Hoogsteen-Typ bildet und dabei eine *syn*-Konformation einnimmt. Neben diesen spezifischen H-Brücken zur Substratbase tragen mehrere Stapelwechselwirkungen dazu bei, das AMP-Molekül in der

Bindungstasche zu halten. Eine Besonderheit dieses Aptamer-Komplexes besteht darin, daß die RNA das Substrat in eine thermodynamisch stabile GNRA-Schleife (N = beliebige Base, R = Purinbase) einbindet, die G8, A9, A10 und den Adeninrest des AMP-Moleküls umfaßt (Abb. 1a und 2). Auf raffinierte Weise stabilisiert hier die RNA die Substratbindung, indem sie das Substrat selbst für die Formung zumindest eines Teils seiner Bindungstasche sorgen läßt.

Der L-Arginin-Rezeptor wurde aus einem RNA-Pool selektiert, der auf L-Citrullin voreingestellt worden war. Das RNA-Molekül erwarb die Spezifität für L-Arginin durch Mutationen an drei Nucleotid-Positionen, von denen sich eine im längeren Teil der inneren Schleife befindet (U31 → G31) und die anderen diese Schleife zum angrenzenden Stammbereich 3 abschließen (G29·U13 → A29·C13; Abb. 1b). In beiden Komplexen weisen die Watson-Crick- und die Hoogsteen-Seiten von Basen aus dieser Schleife zur kleinen Furche hin, die sich nahezu durchgehend über die coaxial gestapelten Stammbereiche 2 und 3 erstreckt (Abb. 1b und 3), und bilden so eine Tasche für das Substrat. Die Nucleotide G9 (in Abb. 3 nicht gezeigt), G12 und G35 bilden die Decke des Hohlraumes, G14 und G(U)31 fügen sich unterhalb davon ein, C(U)13 und A33 bilden die Seitenwände, und G30 deckt die Rückseite ab.

Von den Basen, die in den beiden Aptameren unterschiedlich sind, stehen zwei – C(U)13 und G(U)31 – in direktem Kontakt mit der Guanidinio- oder Harnstoffgruppe der Substrate Arginin bzw. Citrullin. Allerdings unterscheiden sich die Orientierungen dieser Substratgruppen relativ zur kleinen Furche deutlich: Die Arginin-Guanidiniogruppe ist nahezu coplanar zur Ebene der Base C13 im Stammbereich 3, während die Citrullin-Harnstoffgruppe etwa 90° gedreht und somit nahezu senkrecht zur Ebene der Base U13 orientiert ist. Das Nucleotid 13 ist also direkt an der spezifischen Erkennung des Substrats beteiligt,

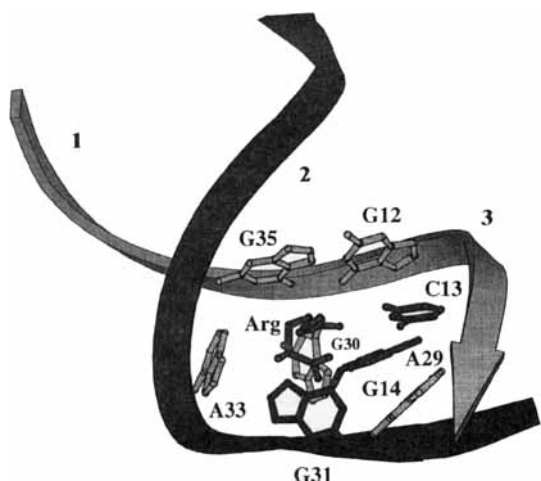


Abb. 3. Schematische Darstellung der Substratbindungsstelle des Arginin-Aptamers mit dem gebundenen Argininmolekül (in der Mitte). Die Rückgratstränge sind durch Bänder dargestellt, die den Abschnitten von A27 bis A40 (dunkelgraues Band) bzw. von U5 bis U15 (hellgraues Band) entsprechen. Der links im Vordergrund sichtbare größere Abschnitt der asymmetrischen inneren Schleife befindet sich gegenüber der kleinen Furche, die von den Stammbereichen 2 und 3 gebildet wird. Die drei veränderlichen Reste 13, 29 und 31 sind dunkelgrau wiedergegeben; die übrigen die Bindungstasche begrenzenden Reste, darunter das die innere Schleife abschließende G·G-Paar, sind hellgrau dargestellt.

und die Base C13 des Arginin-Aptamers bindet über ihre Atome O2 und N3 an das N_ϵ - bzw. N_{η_1} -Proton. Im Citrullinkomplex ist U13 das passende Gegenstück zur veränderten Anordnung von Wasserstoffbrücken-Donoren und -Acceptoren im Substrat und tritt über seine Atome O2 und N3 in Kontakt zum N_ϵ -Atom bzw. zum Carbonyl-Sauerstoffatom von Citrullin. Das Nucleotid 13 wird seinerseits durch eine Wasserstoffbrückenbindung zu dem – zusammen mit ihm veränderlichen – Nucleotid 29 in seiner Position fixiert. Obwohl die Guanidinio- und Harnstoffgruppen in den Bindungstaschen der beiden Komplexe relativ zueinander verdreht sind, sind die Ebenen der Basen G31 und U31 in beiden ähnlich ausgerichtet. Das spricht dafür, daß die unterschiedlichen Gerüste von Guanin und Uracil auf diese Art jeweils eine gute Überlappung zwischen den freien Elektronenpaaren ihrer Carbonyl-Sauerstoffatome und den π^* -Orbitalen der Guanidinio- bzw. Harnstoffgruppe ermöglichen, die in den beiden Aptamer-Komplexen ähnlich zur Stabilisierung beiträgt. Diese Strukturen zeigen deutlich, wie RNA-Moleküle hochstabile Komplexe mit kleinen Ligand-Molekülen bilden können, und sie ermöglichen einen Blick auf die strukturellen Ursprünge der molekularen Erkennung, indem sie eine direkte Beziehung zwischen Positionen veränderlicher Nucleotide und substratspezifischen Wechselwirkungen über Wasserstoffbrückenbindungen sowie stereoelektronische Effekte aufzeigen.

Die Strukturen der ATP- und Aminosäuren-Aptamere veranschaulichen zwei grundlegend verschiedene Weisen, wie RNA-Moleküle eines der gängigen Elemente ihrer Sekundärstrukturen – eine asymmetrische innere Schleife – nutzen, um eine spezielle Fähigkeit zu erlangen, nämlich kleine, geladene organische Moleküle mit Hilfe hydrophiler und hydrophober Wechselwirkungen zu erkennen. Beide inneren Schleifen sind reich an Purinbasen, von denen viele bei den nach mehreren Selektionscyclen isolierten Molekülen übereinstimmen. Die Schleife des ATP-Aptamers ist länger als die des Arginin-Aptamers, was eine kompliziertere Faltung ermöglicht. Die tatsächlich nachgewie-

sene doppelte Haarnadelfaltung ist jedoch etwas Unerwartetes, und es wäre völlig unmöglich gewesen, die Entstehung dieses markanten Strukturmerkmals nur anhand des GAA-Abschnitts und des Substrats vorherzusagen.

Die Struktur des FMN-Aptamers verrät noch eine weitere Möglichkeit zur Einlagerung eines Substrats: das Schließen einer inneren Schleife zu einem nichtkanonischen Duplex.^[15, 17] Hierbei bewirkt die Bildung eines Abschnitts aus nichtkanonischen Purin-Purin-Basenpaaren eine Aufweitung der großen Furche unter Beibehaltung der Basenstapelung, wodurch eine Intercalationsstelle für den FMN-Chromophor entsteht. Das aromatische Isoalloxazinsystem wird von einem Basentripel und einem G·G-Basenpaar flankiert, so daß umfangreiche Stapelwechselwirkungen zwischen Substrat und RNA auftreten. Eine zusätzliche Stabilisierung des Liganden wird durch Wasserstoffbrückenbindung an einen gegenüberliegenden Adeninrest gewährleistet, so daß der FMN-Chromophor den Platz einer Uracyl-Base einnimmt. Homo-Purinbasenpaare mit einer wichtigen Funktion, besonders solche aus Guaninresten, sind in allen hier genannten Aptamer-Komplexen anzutreffen. Ein gemeinsames Merkmal der ATP-, Arginin- und Citrullin-spezifischen Aptamere ist das Heranziehen des dem großen Teil der Schleife gegenüberliegenden, ausgelenkten Guaninrests (Abb. 1) für die Bildung eines G·G-Paares, durch das die Schleife abgeschlossen und die Basenstapelung über die Stammbereiche mit regulärer Watson-Crick-Basenpaarung hinaus fortgesetzt wird.

Es besteht, was kaum überrascht, kein Kontakt zwischen der RNA und den Bereichen der Substratmoleküle, die sich in der Nähe von Positionen befinden, über die diese Moleküle während der Selektion auf der Säule immobilisiert waren. Somit sind die Atome N7 und C8 des AMP-Moleküls dem Lösungsmittel zugewandt, und die α -Aminogruppen von Arginin und Citrullin werden nur lose gebunden. Bemerkenswerterweise besteht kein Kontakt zwischen dem Aptamer und der AMP-Phosphatgruppe. Man könnte vermuten, daß der tatsächliche Wechselwirkungsmodus von der bei den Selektionsexperimenten vorliegenden Metallionen-Konzentration abhängt und daß die Phosphatgruppen des gefalteten RNA-Rückgrats womöglich keine Einlagerung der Phosphatgruppe des Substrats in eine Bindungstasche zulassen. Die Stapelung einer Phosphatgruppe über eine benachbarte Base im stabilen „U-turn“-Motiv von tRNA-Molekülen und im Hammerhead-Ribozym demonstriert jedoch überzeugend, daß RNA-Moleküle auch mit einer solchen Situation klar kommen. Ferner werden geringe Abstände zwischen Phosphatgruppen in alternativen Nucleinsäurestrukturen toleriert, wenn dafür ein Ausgleich durch eine Reihe von stabilisierenden Faktoren erfolgt.^[20] Ein weiteres Merkmal des Arginin-Aptamer-Komplexes ist das Fehlen einer Wechselwirkung zwischen der Guanidiniogruppe des Substrats und einem Phosphatrest. Ganz anders verhält es sich bei Protein-DNA-Komplexen, in denen solche Wechselwirkungen häufig vorkommen und zur Ausrichtung einer Vielzahl von sequenzerkennenden Proteinfaltungsmotiven relativ zur großen und zur kleinen DNA-Furche beitragen. Auch der gleichzeitige Kontakt mehrerer Basen zur Guanidiniogruppe im RNA-Aptamer-Komplex steht im Gegensatz zur gängigeren 1:1-Wechselwirkung zwischen Arginin und der Hoogsteen-Seite von Guanin in Protein-DNA-Komplexen. Hier zeigt sich ein fundamentaler Unterschied zwi-

schen Protein-DNA- und Protein-RNA-Wechselwirkungen: Statt lediglich die Sequenz zu „analysieren“, können Proteine RNA-Moleküle auch an bestimmten räumlichen Strukturelementen erkennen.

Was können wir aus diesen Strukturen lernen? Scheinbar ähnliche Elemente der RNA-Sekundärstruktur können zu unterschiedlichen Tertiär- und Quartärstrukturen führen. Die Rückgrate innerer Schleifen können sich gleichförmig um einen Stammbereich winden, in Teilbereiche gegliedert sein oder einen durch nichtkanonische Basenpaare zusammengehaltenen Doppelstrang bilden. Ebenso wie die Kleeblatt-Darstellung der tRNA nur wenig Ähnlichkeit mit der wirklichen räumlichen Gestalt des Moleküls hat, können Schleifen unterschiedlich scharfe Knicke und damit eine Vielzahl von Topologien erzeugen. Trotz der geringen Zahl bekannter räumlicher Strukturen von RNA-Molekülen kennt man einige wiederholt auftretende Strukturelemente, z.B. die GNRA-Schleife und Homo-Purinbasenpaare an Positionen, die in funktioneller Hinsicht wichtig sind. So wie man es vielleicht erwartet hat, nutzt die RNA zur Substraterkennung und -bindung die gleichen Werkzeuge wie Proteine. Die Bildung der GAAA-Schleife erfordert das Andocken des Substrats und stellt daher eine induzierte Anpassung („induced fit“) dar. Eine weitere Ähnlichkeit besteht in der Verwendung des gleichen, vielleicht geringfügig variierten Strukturelements in völlig unterschiedlichen Funktionszusammenhän-

gen. Noch ist die Vielseitigkeit der RNA hinsichtlich ihrer räumlichen Konformation weitgehend unerforscht. Die Tür ist gerade einen Spaltbreit geöffnet; stoßen wir sie weit auf!

Stichworte: Molekulare Erkennung · RNA-Aptamere · Wasserstoffbrücken

- [1] A. D. Ellington, J. W. Szostak, *Nature* **1990**, *346*, 818–822.
- [2] D. P. Bartel, J. W. Szostak, *Science* **1993**, *261*, 1411–1418.
- [3] G. F. Joyce, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 331–336.
- [4] M. Famulok, J. W. Szostak, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1001–1011; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 979–988; K. W. Uphoff, S. D. Bell, A. D. Ellington, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 281–288.
- [5] J. R. Lorsch, J. W. Szostak, *Nature* **1994**, *371*, 31–36.
- [6] C. Wilson, J. W. Szostak, *Nature* **1995**, *374*, 777–782.
- [7] E. H. Eklund, J. W. Szostak, D. P. Bartel, *Science* **1995**, *269*, 364–370.
- [8] B. Cuenoud, J. W. Szostak, *Nature* **1995**, *375*, 611–614.
- [9] E. H. Eklund, D. P. Bartel, *Nature* **1996**, *382*, 373–376.
- [10] D. L. Robertson, G. F. Joyce, *Nature* **1990**, *344*, 467–468.
- [11] T. Pan, O. C. Uhlenbeck, *Nature* **1992**, *358*, 560–563.
- [12] R. R. Breaker, G. F. Joyce, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 655–660.
- [13] F. Jiang, R. A. Kumar, R. A. Jones, D. J. Patel, *Nature* **1996**, *382*, 183–186.
- [14] T. Dieckmann, E. Suzuki, G. K. Nakamura, J. Feigon, *RNA* **1996**, *2*, 628–640.
- [15] P. Fan, A. K. Suri, R. Fiala, D. Live, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **1996**, *258*, 480–500.
- [16] M. Sassanfar, J. W. Szostak, *Nature* **1993**, *364*, 550–553.
- [17] P. Burgstaller, M. Famulok, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1163–1167; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1084–1087.
- [18] Y. Yang, M. Kochoyan, P. Burgstaller, E. Westhof, M. Famulok, *Science* **1996**, *272*, 1343–1346.
- [19] M. Famulok, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1698–1706.
- [20] I. Berger, M. Egli, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 12116–12121.