

RNA und die Welt der kleinen Moleküle

Yitzhak Tor*

Unser Verständnis vom Fluß der biochemischen Information, ausgehend von Desoxyribonucleinsäure (DNA) über Ribonucleinsäure (RNA) zu Proteinen, hat sich in den letzten Jahrzehnten gewaltig entwickelt.^[1, 2] Während der Transkription im Zellkern werden DNA-Sequenzen, die spezifische Gene codieren, in heterogene nucleäre RNAs überführt. Diese Primärtranskripte werden zu reifer Boten-RNA (Messenger-RNA, mRNA) prozessiert, die dann in das Cytoplasma transportiert wird, wo die Translation, d.h. die Proteinsynthese, an den Ribosomen stattfindet. Der Transport, die Stabilität, die zelluläre Lokalisation und Translationseffizienz von individuellen mRNA-Molekülen sind alle streng reguliert. Diese Regulation auf vielen Ebenen, vermittelt durch zahlreiche RNA-bindende Proteine und Ribonucleoprotein-Komplexe, steuert schließlich die Genexpression und deren funktionelle Festschreibung.^[3] RNA wird deshalb nicht länger als passiver Träger von genetischer Information angesehen. Eher wird sie als strukturell und funktionell komplexes Biomolekül betrachtet, das stark in zelluläre Schlüsselprozesse eingebunden ist. Als solches wird es zunehmend zu einem zentralen Ziel für das Wirkstoff-Design.^[4, 5] Es ist lehrreich zu betrachten, wie RNA diese zentrale Rolle in der modernen bioorganischen Chemie eingenommen hat.^[6]

Experimentelle Beweise dafür, daß RNA und Proteinsynthese zusammenhängen, wurden in den späten dreißiger Jahren in den Laboratorien von Caspersson und Brachet erarbeitet. In einer Veröffentlichung in *Nature* stellten Caspersson und Schultz 1939 fest: „The presence of pentose nucleotides in high concentrations in rapidly dividing tissues is probably thus a general phenomenon“.^[7] Ungefähr zur gleichen Zeit wurden kleine, RNA-reiche Partikel, die zunächst Mikrosomen und später Ribosomen genannt wurden, von Claude entdeckt.^[8] 1946 (auf dem ersten großen biologischen Symposium, das sich mit Nucleinsäuren beschäftigte) stellte Brachet die Hypothese auf, daß diese Teilchen für die Biosynthese von Proteinen verantwortlich seien.^[9] Klassische Untersuchungen mit Elektronenmikroskopie durch Palade^[10] und Pulsmarkierungsexperimente von Zamecnik et al.^[11] lieferten fast ein Jahrzehnt später die nötige experimentelle Unterstützung für diese Hypothese.^[12]

Beim Zusammenfassen einer Veröffentlichung von Boivin und Vendrely in *Experientia* aus dem Jahr 1947 folgte ein anonymen Redakteur: „Through catalytic actions the macromolecular desoxyribonucleic acids govern the building of macromolecular ribonucleic acids, and, in turn, these control the production of cytoplasmic enzymes“.^[13] Diese Aussage, obwohl in ihr das Grundprinzip des biologischen Informationsflusses formuliert ist, macht keine genauen Angaben über die tatsächlich beteiligten Komponenten und Mechanismen. Nach der Aufklärung der Doppelhelixstruktur der DNA durch Watson und Crick im Jahr 1953^[14] richtete sich das Interesse auf die Rolle der RNA bei der Genexpression. Nach der Vorstellung, die man in den späten fünfziger Jahren hatte, kontrollierte jedes Gen die Synthese eines einzelnen, spezialisierten Ribosoms, das wiederum die Synthese eines bestimmten Proteins steuerte. In diesem Schema, das als Ein-Gen-ein-Ribosom-ein-Protein-Hypothese bekannt wurde, wurde postuliert, daß ribosomale RNA die Matrize für die Proteinsynthese ist. Die mit diesem Modell verbundenen Schwierigkeiten veranlaßten Jacob und Monod zur Hypothese, daß die Information in Form kurzlebiger RNA-Moleküle transportiert werde und daß die Ribosomen keine spezialisierten Strukturen seien.^[15] Ihre Vorhersage von 1961 wurde bald durch die Entdeckung der Messenger-RNA (mRNA), eines labilen Templates, das schnell umgesetzt wird, bestätigt.^[16] Die Grundlagen der Translation wurden aufgeklärt, als gezeigt wurde, daß eine lösliche RNA, die als Transfer-RNA (tRNA) bezeichnet wurde, an der Proteinsynthese beteiligt ist, indem sie eine aktivierte Aminosäure transportiert.^[17, 18] Dieser Befund unterstützte die Adapter-Hypothese von Crick.^[19] 1966 wurde der genetische Code entziffert – ein Algorithmus, der zwischen Nucleotid-Triplets in Genen und bestimmten Aminosäuren in Proteinen einen Bezug herstellt.^[20]

Die zentrale Maschinerie der Proteinbiosynthese, an der sowohl die Decodierung als auch der Peptidyltransfer stattfinden, ist das Ribosom: ein Komplex aus ribosomaler RNA (rRNA) und zahlreichen Proteinen.^[21] Diese große und bisher nicht aufgeklärte Struktur enthält 85 % der gesamten zellulären RNA. Die Ergebnisse interessanter Experimente von Noller und Mitarbeitern führten 1992 zu dem Vorschlag, daß proteinfreie rRNA selbst eine Peptidyltransferase-Aktivität aufweist.^[22] Diese faszinierenden Befunde, die der rRNA eine eigene katalytische Aktivität zuschreiben, wurden kürzlich von Watanabe et al. bestätigt, die zeigten, daß die sechs Domänen der 23S-rRNA aus *E. coli*, die zuvor in Abwesen-

[*] Prof. Dr. Y. Tor
Department of Chemistry and Biochemistry
University of California, San Diego
La Jolla, CA 92093-0358 (USA)
Fax: (+1)619-534-5383
E-mail: ytor@ucsd.edu

heit von ribosomalen Proteinen zusammengefügt wurden, die Knüpfung von Peptidbindungen stimulierten.^[23] Zusammen mit den gut charakterisierten RNA-Enzymen (Ribozymen)^[24] ist RNA ein weiteres Mal als eines der wichtigsten funktionellen Biomoleküle im Mittelpunkt des Interesses.^[25]

Die funktionelle Diversität von RNA kann den komplexen dreidimensionalen Faltungsmustern zugeschrieben werden, die sie über eine große Zahl von Sekundärstrukturen und Wechselwirkungen innerhalb der Tertiärstruktur einnehmen kann.^[26] Diese Strukturvielfalt ermöglicht zusammen mit der räumlichen Anordnung funktioneller Gruppen und dem elektrostatischen Feld, die durch die RNA-Faltung hervorgerufen werden, die Bildung von Bindungstaschen für Ionen, kleine Moleküle und Proteine.^[27] Idealerweise sollte man diese vielversprechenden Erkennungsmöglichkeiten nutzen können, indem man häufig vorkommende Bindungsmotive identifiziert und diese für das Design neuer RNA-bindender Moleküle als Modulatoren zellulärer Funktionen verwendet.^[5]

Die Suche nach kleinen Molekülen, die an RNA binden, wurde durch frühe Befunde inspiriert, denen zufolge Antibiotika die Proteinbiosynthese beeinträchtigen können.^[28] In einer bahnbrechenden Veröffentlichung von 1987 zeigten Noller und Moazed, daß mehrere Klassen von Antibiotika, darunter Aminoglycoside, mit funktionellen Stellen von 16S-rRNA wechselwirken.^[29] Diese Entdeckung, die auf eine direkte Bindung von Wirkstoffen mit niedrigem Molekulargewicht an rRNA schließen ließen, löste ein erneutes Interesse an der RNA-Ligand-Erkennung aus. Seitdem wurde bestätigt, daß Aminoglycosid-Antibiotika mit einer Vielzahl von funktionellen RNA-Molekülen wechselwirken, wozu auch Gruppe-I-Introns,^[30] Hammerhead-Ribozyme^[31] und die humanen Hepatitis-Delta-Virus-Ribozyme gehören.^[32] Ihre Bindung an ein Analogon der A-Stelle von 16S-rRNA wurde nachgewiesen,^[33–35] und ihre Wechselwirkungen mit tRNA wurden im Detail untersucht.^[36] Aminoglycosid-spezifische RNA-Aptamere wurden in vitro selektiert,^[37] und durch NMR-spektroskopische Untersuchungen wurden ihre Strukturen im Komplex mit den jeweils zugehörigen Aminoglycosiden aufgeklärt.^[38] Für einige Aminoglycosid-Antibiotika und synthetische Liganden wurde gezeigt, daß sie die Bindung von Proteinen an RNA verhindern.^[39–43] Die Spezifität der RNA-Ligand-Wechselwirkung^[44] und der Mechanismus sowie die Dynamik des Bindungsvorgangs wurden kürzlich untersucht.^[45–47] Obwohl die Herausforderungen noch immer enorm sind, ist RNA zu einem vielversprechenden und fruchtbaren Ziel für das Design von Liganden geworden.^[5]

Werstuck und Green führten kürzlich eine aufregende neue Dimension in dieses schnell wachsende Gebiet der RNA-Erkennung ein. Sie zeigten, daß die Genexpression in lebenden Zellen durch spezifische Wechselwirkungen zwischen RNA und kleinen Molekülen kontrolliert werden kann.^[48] Durch den Einbau einzigartiger RNA-Sequenzen in mRNA aus Bakterien und Säugern können lebenswichtige zelluläre Funktionen über die Zugabe niedermolekularer, membrangängiger Verbindungen vermittelt werden. Obwohl sie künstlich konstruiert wurden, erbrachten die dort beschriebenen Systeme den Beweis eines Prinzips und zeigten

zum ersten Mal, daß kleine Moleküle als zelluläre Regulatoren auf mRNA-Ebene fungieren.

Als Zielstellen haben Werstuck und Green RNA-Aptamere gewählt, kurze RNA-Sequenzen, die in vitro danach selektiert werden, kleine Moleküle mit hoher Affinität und Selektivität zu binden. Anfänglich wurden Aptamere eingesetzt, die Tobramycin und Kanamycin, zwei Aminoglycosid-Antibiotika, erkennen (Abbildung 1). Plasmide, die diese

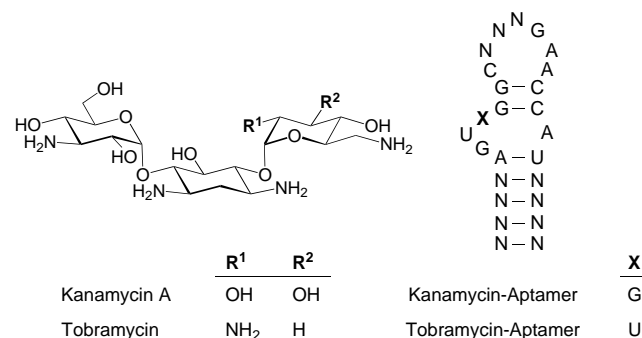


Abbildung 1. Aminoglycosid-Antibiotika und deren entsprechende RNA-Aptamere.^[48]

RNA-Aptamere codieren, wurden durch Klonieren der entsprechenden DNA-Sequenzen in einen Expressionsvektor konstruiert, dessen Transkription von T7-RNA-Polymerase abhängig ist. Dann wurde ein *Escherichia coli*-Stamm, der eine induzierbare T7-RNA-Polymerase enthält, mit diesen Plasmiden transformiert. Um die Funktion dieser RNA-Sequenzen in vivo zu testen, suchten Werstuck und Green nach einem wirkstoffresistenten Phänotyp. So konnten Bakterien, die Kanamycin-bindende Aptamere exprimieren, in Anwesenheit von Kanamycin A, dem zugehörigen bakteriiziden Antibiotikum, wachsen. Im Gegensatz dazu war das Wachstum von nichttransformierten Bakterien und einem Stamm, der Tobramycin-bindende Aptamere bildet, vernachlässigbar gering. In ähnlicher Weise konnten Bakterien mit Tobramycin-erkennenden Aptameren in Gegenwart von Tobramycin, dem zugehörigen Antibiotikum, wachsen, während ihr Wachstum durch Kanamycin A, das nicht-zugehörige kleine Molekül, signifikant unterdrückt wurde.^[48]

Diese Serie von Experimenten bestätigte, daß ein wirkstoffresistenter Bakterienstamm durch die Expression eines wirkstoffbindenden RNA-Moleküls hergestellt werden kann. Diese in vivo gebildeten RNA-Aptamere fangen eine Verbindung ab, die sonst für die Zelle toxisch wäre. In gewisser Weise erinnert dieser Ansatz von Werstuck und Green an tatsächlich in Bakterien vorkommende Resistenzmechanismen. Der bekannteste Mechanismus für die erworbene mikrobielle Resistenz gegenüber Aminoglycosiden ist die Inaktivierung dieser Antibiotika durch Plasmid-codierte Enzyme.^[49] Es sind zahlreiche Enzyme identifiziert worden, die Aminoglycoside phosphorylieren, adenylieren oder acetylieren. Es ist erwähnenswert, daß diese Aminoglycosid-modifizierenden Enzyme den klinischen Nutzen von Aminoglycosid-Antibiotika stark eingeschränkt haben.

Um die Verwendbarkeit von kleinen Molekülen als Modulatoren der eukaryotischen Genexpression zu demonstrieren,

konzentrierten sich Werstuck und Green auf die Regulierung der Initiation des Translationsvorgangs.^[48] Die Matrize für diesen Prozeß, eukaryotische mRNA, ist gewöhnlich am 5'-Ende durch ein an der N7-Position methyliertes Guanosinnucleotid, das als „Kappe“ (cap) fungiert, posttranskriptionell modifiziert. Der Translation geht typischerweise ein Abtastvorgang („scanning“) entlang des am 5'-Ende nichttranslatierten Bereichs (untranslated region, UTR) voraus – das ist die mRNA-Sequenz zwischen der 5'-Kappe und einem Start-Codon (Abbildung 2). Bei diesem Schlüsselvorgang wandert ein Präinitiationskomplex, der sich aus einer ribosomalen Untereinheit, Initiationsfaktoren und einer beladenen Initiator-tRNA^{Met} zusammensetzt, an der 5'-UTR entlang, bis er auf ein Start-Codon, normalerweise das AUG-Triplett, trifft. Die Regulierung der Translation über die 5'-UTR kann deshalb durch mehrere Mechanismen vermittelt werden, zu denen die Modifizierung der Kappenstruktur (Abbildung 2a), die Einführung von stabilen Sekundärstrukturelementen in die UTR (Abbildung 2b) oder die Protein-RNA-

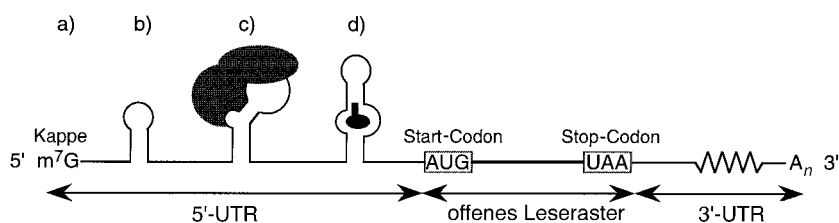


Abbildung 2. Schematische Darstellung funktioneller Elemente und deren Organisation in eukaryotischer mRNA. Die translationale Regulation an der 5'-UTR kann gesteuert werden durch a) die Modifikation der Struktur der Kappe, b) eine stabile Sekundärstruktur, c) RNA-Protein-Wechselwirkungen und, gemäß der Hypothese von Werstuck und Green, d) Wechselwirkungen zwischen RNA und kleinen Molekülen. Man beachte, daß zusätzliche regulatorische Elemente in der 3'-UTR nicht gezeigt sind.^[3b]

Bindung innerhalb der UTR (Abbildung 2c) zählen.^[3b, 50] Werstuck und Green stellten die Hypothese auf, daß der Einbau eines stabilen Komplexes aus einem kleinen Molekül und einem Aptamer in die 5'-UTR den Initiationsapparat durch Blockierung des Scanning-Prozesses oder der Bindung der mRNA an das Ribosom behindern kann (Abbildung 2d).

Aminoglycosid-Antibiotika sind bei physiologischen pH-Werten hochgeladen und schlecht membrangängig, und sie stören die Translation. Werstuck und Green haben deshalb RNA-Aptamere gewählt, die spezifisch den Benzimidazol-Farbstoff H33258 (Hoechst) binden, von dem bekannt ist, daß er in der kleinen Furche der DNA bindet (Abbildung 3). Zwei Aptamere wurden in die 5'-UTR eines Expressionsplasmids eingeführt, das Säuger- β -Galactosidase codiert, und Eizstockzellen von chinesischen Hamstern wurden mit diesem konstruierten Vektor und einem Luciferase-Reportergen cotransfiziert. Um die Funktion dieser RNA-Aptamere in vivo zu testen, haben Werstuck und Green die β -Galactosidase- und Luciferaseaktivitäten nach erfolgter Translation gemessen und so einen Hinweis auf die erfolgreiche Expression dieser Gene erhalten. Ohne den Hoechst-Farbstoff beeinflussten die eingebauten Aptamere die Genexpression nicht; dies bedeutet, daß der Translationsapparat durch die Gegenwart dieser „fremden“ Konstrukte innerhalb der 5'-

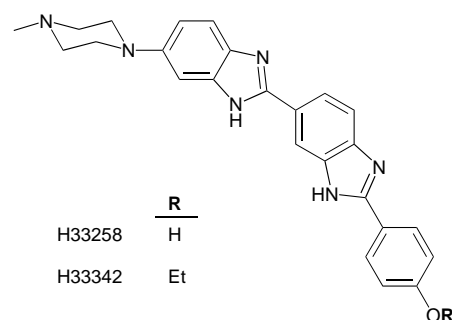


Abbildung 3. Struktur der von Hoechst hergestellten Farbstoffe H33258 und H33342. H33258 wurde zur Herstellung von RNA-Aptameren verwendet, H33342, ein besser lösliches Derivat, wurde zur Regulation der Genexpression in lebenden Zellen eingesetzt, die das entsprechende Aptamer exprimieren.^[48]

UTR nicht beeinflusst wurde. Im Unterschied dazu nahm die β -Galactosidaseaktivität in Gegenwart steigender Konzentrationen von H33342 (einem eng verwandten, besser löslichen Hoechst-Farbstoff; Abbildung 3) stark ab, ohne daß gleichzeitig ein Effekt bei der zur Kontrolle mitgemessenen Luciferaseaktivität festzustellen war.^[48]

Diese Experimente verdeutlichen, wie kleine organische Moleküle prinzipiell dazu verwendet werden können, die Genexpression in lebenden Zellen zu kontrollieren. Die Fähigkeit, die Translation von exogenen Genen durch kleine Moleküle regulieren zu können, die als Schalter fungieren, eröffnet aufregende Möglichkeiten. Dies könnte für Anwendungen bei der Gentherapie hilfreich sein, bei denen Gene mit einem eingebauten Schalter eingeführt werden, deren Expression dann durch die zugehörigen kleinen

Moleküle kontrolliert wird. Die Methode kann auch zur Manipulation spezifischer Gene eingesetzt werden, um so die biologischen Folgen von deren Expression untersuchen zu können.

Der elegante Einsatz von RNA-Aptameren zur Herstellung steuerbarer Gene umgeht ein Hauptproblem der Spezifität der RNA-Bindung. RNA-Aptamere, die unter hochstringenten Bedingungen selektiert werden, haben typischerweise eine äußerst hohe Affinität und Spezifität gegenüber ihren zugehörigen Liganden. Das ist bei „natürlich vorkommenden“ RNA-Sequenzen und den bekannten Liganden hierfür nicht der Fall. Aminoglycosid-Antibiotika beispielsweise binden eher unspezifisch an RNA. Sie binden an zahlreiche RNA-Sequenzen mit ähnlicher Affinität. Ihr wahlloses Binden ist wahrscheinlich eine Folge davon, daß sie ähnliche RNA-Faltungsmuster eher als deren Sequenzen erkennen.^[5] In bestimmten Fällen wird das Binden der Aminoglycoside von einem Wechsel der Konformation des RNA-Wirtes begleitet.^[35c] Diese Befunde, zusammen mit dem sehr kleinen Anteil an mRNA im Vergleich zu dem von rRNA und tRNA in der Zelle, machen das De-novo-Design von Molekülen, die hochselektiv an mRNA binden, zu einer gewaltigen Aufgabe. Die Verwendung von kleinen Molekülen in vivo als Regulatoren der endogenen Genexpression bleibt

eine große Herausforderung. Sie kann wahrscheinlich gelöst werden, da unser Wissen über Struktur, Faltung und Erkennung von RNA immer weiter voranschreitet.

Das Gebiet der RNA-Erkennung durch kleine Moleküle wächst ständig, weil schnelle Screening-Methoden zur Bestimmung der Affinität und Spezifität von potentiell RNA-bindenden Verbindungen entwickelt werden.^[51] Untersuchungen zur Struktur-Aktivitäts-Beziehung von kombinatorischen Bibliotheken, ergänzt durch die Entdeckung neuer, natürlich vorkommender Verbindungen, werden unser Verständnis der Wechselwirkungen zwischen RNA und kleinen Molekülen erweitern. Gleichzeitig mit der Zunahme unseres Wissens über RNA-Protein-Wechselwirkungen werden neue RNA-Zielsequenzen identifiziert und daran bindende kleine Moleküle hergestellt werden. Dabei werden wir wahrscheinlich kleine Moleküle finden, die sehr gut und spezifisch an RNA binden.

In den letzten beiden Jahrzehnten sind bakterielle und virale Infektionen in den Mittelpunkt gerückt. Zahlreiche neue Viren sind aufgetreten. Ihre Auswirkungen können unsichtbar sein (z.B. Hepatitis G), in anderen Fällen können sie verheerend sein (z.B. HIV).^[52] Gleichzeitig gab es ein Wiederaufleben von schon bekannten, durch Viren und Bakterien hervorgerufenen Krankheiten sowie ein Auftreten von resistenten Mutanten gut untersuchter Krankheitserreger.^[53] Diese Veränderungen haben neue Ziele für die antivirale und antibakterielle Therapie hervorgebracht und stellen eine große Herausforderung für die Wissenschaft dar. Die spannenden Tage der Entdeckung der Antibiotika, vor weniger als 60 Jahren, sind nun durch die tiefe Sorge um die Zukunft und die Notwendigkeit der Entwicklung neuer Ansätze für antivirale und antibakterielle Therapien ersetzt worden. Da RNA-Moleküle eine Schlüsselrolle bei der Proteinsynthese, der transkriptionellen Regulation und der viralen Replikation spielen, können neue antibiotische und antivirale Wirkstoffe wahrscheinlich unter den kleinen Molekülen gefunden werden, die an RNA-Sequenzen binden.

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1579–1582

Stichwörter: Aminoglycoside • Antibiotika • Gentechnik • RNA • Translation

- [1] Für eine wundervolle Monographie über die Evolution der molekularen Biologie, deren größte Entdeckungen und Entdecker siehe: H. F. Judson, *The Eighth Day of Creation*, Simon & Schuster, New York, **1980**.
- [2] A. Rich in *Horizons in Biochemistry* (Hrsg.: M. Kasha, B. Pullman), Academic Press, New York, **1962**, S. 103–126.
- [3] Neuere Übersichten: a) G. Varani, K. Nagai, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1998**, 27, 407–445; b) N. K. Gray, M. Wickens, *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* **1998**, 14, 399–458; c) H. Siomi, G. Dreyfuss, *Curr. Opin. Gen. Dev.* **1997**, 7, 345–353.
- [4] a) T. Hermann, E. Westhof, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1998**, 9, 66–73; b) N. D. Pearson, C. D. Prescott, *Chem. Biol.* **1997**, 4, 409–414.
- [5] K. Michael, Y. Tor, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 2091–2098.
- [6] Es ist unmöglich, alle interessanten Entwicklungen und die zugehörigen Wissenschaftler in diesem kurzen Artikel aufzuführen. Der interessierte Leser sei auf Lit. [1] und ein exzellentes Lehrbuch verwiesen: J. D. Watson, N. H. Hopkins, J. W. Roberts, J. A. Steitz,

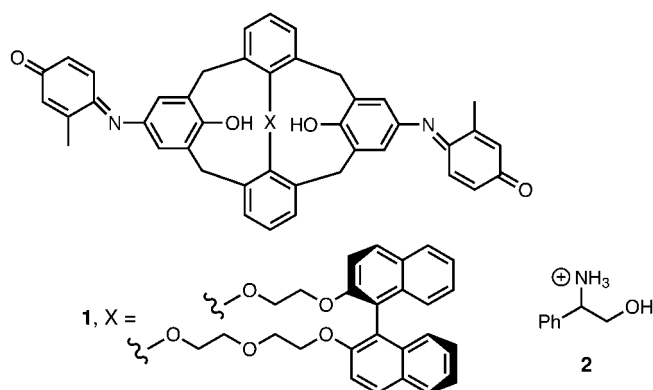
- A. M. Weiner, *Molecular Biology of the Gene*, 4. Aufl., Benjamin/Cummings, Menlo Park, **1987**.
- [7] T. Caspersson, J. Schultz, *Nature* **1939**, 143, 602–603. Damals wurde der Begriff Pentose-Nucleinsäure in Verbindung mit RNA verwendet. Siehe: T. Caspersson, *Chromosoma* **1940**, 1, 605–619.
 - [8] a) A. Claude, *Science* **1940**, 91, 77–78; b) A. Claude, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1941**, 9, 263–271.
 - [9] J. Brachet, *Symp. Soc. Exp. Biol.* **1947**, 1, 207–224.
 - [10] G. E. Palade, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **1955**, 1, 59–68.
 - [11] J. W. Littlefield, E. B. Keller, J. Gross, P. C. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* **1955**, 217, 111–123.
 - [12] Für einen historischen Beitrag siehe: A. Tissières in *Ribosomes* (Hrsg.: M. Nomura, A. Tissières), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, **1974**, S. 3–12.
 - [13] A. Boivin, R. Vendrely, *Experientia* **1947**, 3, 32–34.
 - [14] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, 171, 737–738.
 - [15] F. Jacob, J. Monod, *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 318–356.
 - [16] a) S. Brenner, F. Jacob, M. Meselson, *Nature* **1961**, 190, 576–581; b) F. Gros, H. Hiatt, W. Gilbert, C. G. Kurland, R. W. Risebrough, J. D. Watson, *Nature* **1961**, 190, 581–585.
 - [17] M. B. Hoagland, M. L. Stephenson, J. F. Scott, L. I. Hecht, P. C. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* **1958**, 231, 241–257. Siehe auch: M. Hoagland, *Trends Biochem. Sci.* **1996**, 21, 77–80.
 - [18] F. Chapeville, F. Lipman, G. von Ehrenstein, B. Weisblum, W. J. Ray, S. Benzer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1962**, 48, 1086–1092.
 - [19] F. H. C. Crick, unveröffentlichte Mitteilung an den RNA Tie Club, **1955**. Siehe auch Lit. [1] und: F. H. C. Crick, *What Mad Pursuit*, Basic Books, New York, **1988**.
 - [20] Ein Schlüsselexperiment: M. W. Nirenberg, J. H. Matthaei, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1961**, 47, 1588–1602. Siehe auch: „The Genetic Code“, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1966**, 31.
 - [21] R. Green, H. F. Noller, *Annu. Rev. Biochem.* **1997**, 66, 679–716.
 - [22] H. F. Noller, V. Hoffarth, L. Zimniak, *Science* **1992**, 256, 1416–1419.
 - [23] I. Nitta, Y. Kamada, H. Noda, T. Ueda, K. Watanabe, *Science* **1998**, 281, 666–669.
 - [24] T. R. Cech, *Science* **1987**, 236, 1532–1539.
 - [25] P. Schimmel, R. Alexander, *Science* **1998**, 281, 658–659.
 - [26] a) M. Chastain, I. Tinoco, Jr., *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* **1991**, 41, 131–177; b) J. Doudna, R. T. Batey, R. P. Rambo, *Angew. Chem.* **1999**, im Druck.
 - [27] C. S. Chow, F. M. Bogdan, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1489–1513.
 - [28] a) B. A. Newton, P. E. Reynolds, *Biochemical Studies of Antimicrobial Drugs*, University Press, Cambridge, **1966**; b) D. Vázquez, *Inhibitors of Protein Biosynthesis*, Springer, Berlin, **1979**; c) E. F. Gale, E. Cundliffe, P. E. Reynolds, M. H. Richmond, M. J. Waring, *The Molecular Basis of Antibiotics Action*, 2. Aufl., Wiley, Chichester, **1981**.
 - [29] D. Moazed, H. F. Noller, *Nature* **1987**, 327, 389–394.
 - [30] a) U. von Ahsen, J. Davies, R. Schroeder, *Nature* **1991**, 353, 368–370; b) U. von Ahsen, J. Davies, R. Schroeder, *J. Mol. Biol.* **1992**, 226, 935–941; c) J. Davies, U. von Ahsen, R. Schroeder in *The RNA World* (Hrsg.: R. F. Gesteland, J. F. Atkins), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, **1993**, S. 185–204.
 - [31] T. K. Stage, K. J. Hertel, O. C. Uhlenbeck, *RNA* **1995**, 1, 95–101.
 - [32] a) J. Rogers, A. H. Chang, U. von Ahsen, R. Schroeder, J. Davies, *J. Mol. Biol.* **1996**, 259, 916–925; b) J.-S. Chia, H.-L. Wu, H.-W. Wang, D.-S. Chen, P.-J. Chen, *J. Biomed. Sci.* **1997**, 4, 208–216.
 - [33] P. Purohit, S. Stern, *Nature* **1994**, 370, 659–662.
 - [34] H. Miyaguchi, H. Narita, K. Sakamoto, S. Yokoyama, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24, 3700–3706.
 - [35] a) M. I. Recht, D. Fourmy, S. C. Blanchard, K. D. Dahlquist, J. D. Puglisi, *J. Mol. Biol.* **1996**, 262, 421–436; b) D. Fourmy, M. I. Recht, S. C. Blanchard, J. D. Puglisi, *Science* **1996**, 274, 1367–1371; c) D. Fourmy, S. Yoshizawa, J. D. Puglisi, *J. Mol. Biol.* **1998**, 277, 333–345.
 - [36] S. R. Kirk, Y. Tor, *Bioorg. Med. Chem.*, im Druck.
 - [37] a) Y. Wang, R. R. Rando, *Chem. Biol.* **1995**, 2, 281–290; b) S. M. Lato, A. R. Boles, A. D. Ellington, *Chem. Biol.* **1995**, 2, 291–303; c) M. G. Wallis, U. von Ahsen, R. Schroeder, M. Famulok, *Chem. Biol.* **1995**, 2, 543–552; d) M. Famulok, A. Hüttenhofer, *Biochemistry* **1996**, 35, 4265–4270; e) S. T. Wallace, R. Schroeder, *RNA* **1998**, 4, 112–123.
 - [38] a) L. Jiang, A. K. Suri, R. Fiala, D. J. Patel, *Chem. Biol.* **1997**, 4, 35–50; b) L. C. Jiang, D. J. Patel, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 769–774.

- [39] M. L. Zapp, S. Stern, M. R. Green, *Cell* **1993**, 74, 969–978.
 [40] H.-Y. Mei, A. A. Galan, N. S. Halim, D. P. Mack, D. W. Moreland, K. B. Sanders, H. N. Truong, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 2755–2760.
 [41] L. Ratmeyer, M. L. Zapp, M. R. Green, R. Vinayak, A. Kumar, D. W. Boykin, W. D. Wilson, *Biochemistry* **1996**, 35, 13689–13696.
 [42] F. Hamy, V. Brondani, A. Flörsheimer, W. Stark, M. J. J. Blommers, T. Klimkait, *Biochemistry* **1998**, 37, 5086–5095.
 [43] H.-Y. Mei, M. Cui, A. Heldsinger, S. M. Lemrow, J. A. Loo, K. A. Sannes-Lowery, L. Sharmeen, A. W. Czarnik, *Biochemistry* **1998**, 37, 14204–14212.
 [44] a) M. Hendrix, E. S. Priestley, G. F. Joyce, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3641–3648; b) P. B. Alper, M. Hendrix, P. Sears, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1965–1978; c) Y. Wang, K. Hamasaki, R. R. Rando, *Biochemistry* **1997**, 36, 768–779.
 [45] H. Wang, Y. Tor, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 117–120; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 109–111.
 [46] T. Hermann, E. Westhof, *J. Mol. Biol.* **1998**, 276, 903–912.
 [47] Y. Tor, T. Hermann, E. Westhof, *Chem. Biol.* **1998**, 5, R277–R283.
 [48] G. Werstuck, M. R. Green, *Science* **1998**, 282, 296–298.
 [49] a) H. Umezawa, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1974**, 30, 183–225; b) J. Davies, D. I. Smith, *Annu. Rev. Microbiol.* **1978**, 32, 469–518.
 [49] a) H. Umezawa, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1974**, 30, 183–225; b) J. Davies, D. I. Smith, *Annu. Rev. Microbiol.* **1978**, 32, 469–518.
 [50] Für ein Kappen-bindendes RNA-Aptamer wurde nachgewiesen, daß es in zellfreien Lysaten spezifisch die Translation eines mit Kappe versehenen mRNA-Moleküls, nicht aber die eines ohne Kappe inhibiert. Siehe: A. A. Haller, P. Sarnow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 8521–8526.
 [51] a) H.-Y. Mei, M. Cui, S. T. Sutton, H. N. Truong, F.-Z. Chung, A. W. Czarnik, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24, 5051–5053; b) R. H. Griffey, M. J. Greig, H. An, H. Sasmor, S. Manalili, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 474–475.
 [52] B. W. J. Mahy, *Antiviral Res.* **1997**, 36, 75–80.
 [53] R. M. Krause, *Emerging Infections*, Academic Press, San Diego, **1998**.

Asymmetrische Phasentransferkatalyse

Adam Nelson*

Die selektive Erkennung enantiomerer Ionen und die effiziente Übertragung stereochemischer Information bei der Wechselwirkung zwischen Ionen bleiben wichtige Ziele für viele Chemiker.^[1–3] So kann der molekulare Sensor^[1] **1**



zwischen den Enantiomeren des primären Ammoniumions **2** unterscheiden und zeigt dies durch eine wahrnehmbare Farbänderung an; (1*S*)-Campher-10-sulfonat kann die selektive Faltung eines protonierten Polyguanin-Polynucleotids zu Helices mit einem deutlich bevorzugten Windungssinn bewirken.^[2]

Phasentransferkatalysatoren (PTCs) können wertvolle Reagentien sein, um Reaktionen zu beschleunigen^[4] und

[*] Dr. A. Nelson
 School of Chemistry, University of Leeds
 Leeds, LS2 9JT (Großbritannien)
 Fax: (+44) 113-233-6565
 E-mail: Adam.Nelson@chem.leeds.ac.uk

deren Regiochemie zu beeinflussen.^[5] Einzelne Beispiele hochenantioselektiver phasentransferkatalysierter Reaktionen sind zwar seit vielen Jahren bekannt,^[6] aber in einigen Fällen sind die von den Pionieren auf diesem Gebiet beanspruchten „guten“ Enantioselektivitäten auf Spurenverunreinigungen mit hohen optischen Drehwerten zurückzuführen.^[7] Kürzlich wurden jedoch die strukturellen Voraussetzungen bei Cinchonidin- (**3**) und Cinchoniniumsalzen (**4**), die zu einer wirkungsvollen asymmetrischen Phasentransferkatalyse führen, aufgeklärt.^[3]

