

Flüchtige atomare Einblicke in eine Milliarden Jahre alte molekulare Maschine

Eric Westhof* und Neocles Leontis

Das Ribosom ist die universelle molekulare Maschine zur Synthese von Proteinen in lebenden Zellen. Jede *Escherichia coli*-Zelle enthält ca. 30000 Ribosomen. Eubakterielle Ribosomen bestehen aus zwei Hauptkomponenten, die jeweils aus Proteinen und RNAs in einer komplizierten Anordnung zusammengesetzt sind und aus insgesamt ungefähr 270000 Atomen bestehen. In Prokaryoten besteht die kleinere Komponente (die 30S-Untereinheit) aus der 16S-RNA und 21 Proteinen, während die große Komponente (die 50S-Untereinheit) aus zwei RNAs, der 5S-RNA und der 23S-RNA, und 33 Proteinen aufgebaut ist.^[1] Funktionell betrachtet dient die kleinere Untereinheit der Erkennung der Boten-RNAs (messenger RNAs, mRNAs) und Transfer-RNAs (tRNAs), dagegen ist die große Untereinheit das Zentrum der eigentlichen Proteinbiosynthese. Ein prokaryotisches Ribosom misst circa 200 Å in beiden Richtungen; dies entspricht der komprimierten Packung von ungefähr 16 Nucleosomen, den fundamentalen Bestandteilen des Chromatins. In letzter Zeit wurden Kristallstrukturen von beiden prokaryotischen Ribosomenuntereinheiten^[2–4] und vom gesamten prokaryotischen Ribosom (der 70S-Partikel) veröffentlicht.^[5] Die Auflösung der Strukturen ist bisher recht gering (4.5–7.8 Å; Tabelle 1), aber die Aussichten für eine schnelle Verbesserung der Auflösung sind realistisch.

Wie bei allen großen Anstrengungen in den Naturwissenschaften war die Suche nach Strukturinformationen über das

Ribosom ereignisreich. Dies sollte junge, ehrgeizige Wissenschaftler begeistern, und das gerade in Zeiten, in denen die Naturwissenschaften von Studenten gemieden werden. Die Strukturen, die wir derzeit bewundern können, wurden in Laboratorien von Wissenschaftlern geklärt, die an der Untersuchung der Ribosomen bereits seit Jahrzehnten beteiligt sind. Ada Yonath vom Weizmann Institute in Rehovot, Israel, begann als Erste Anfang der achtziger Jahre mit der enthusiastischen Unterstützung von H. G. Wittmann am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin. Ada Yonath hielt, offener Skepsis trotzend, all die Jahre durch.^[6] Laufend verbesserte sie die Qualität der Kristalle, indem sie die Ribosomen aus halophilen und thermophilen Bakterien isolierte und ständig technische Fortschritte in der Röntgenstrukturanalyse nutzte. Zu nennen wären hier die Anwendung der Kryokristallographie, um Strahlungsschäden zu verhindern,^[7] und der Synchrotronstrahlung, um die geringe Streukraft der Kristalle auszugleichen. Ihre Arbeitsgruppe hat nun die Struktur der 30S-Untereinheit bei einer Auflösung von 4.5 Å veröffentlicht.^[2]

In der Zwischenzeit aber hatte sie so erfolgreich andere Kristallographen von der Durchführbarkeit des Projektes überzeugt, dass andere Arbeitsgruppen sich der Thematik zuwandten und sich nicht mehr länger nur mit der Untersuchung von einzelnen ribosomalen Bestandteilen beschäftigten. Peter Moore von der Yale University hatte mit Neu-

Tabelle 1. Kristallstrukturanalysen des Ribosoms oder seiner Untereinheiten.

Teilchen	Größe [MDa] ^[a]	Bestandteile ^[a]	Elementarzellparameter [Å]	Raum- gruppe	Auflösung [Å] (Zahl der Reflexe)
30S <i>Thermus thermophilus</i>	0.9	16S-rRNA (1542 nt), 21 Proteine	$a = b = 407, c = 176$	P4 ₁ 2 ₁ 2	4.5 (85 991), ^[2] 5.5 ^[3]
50S <i>Haloarcula marismortui</i> ^[4]	1.6	23S-rRNA (2900 nt), 5S-rRNA (120 nt), 34 Proteine	$a = 212, b = 301, c = 576$	C222 ₁	5 (185 190)
70S <i>Thermus thermophilus</i> ^[5]	ca. 2.5		$a = b = 508, c = 803$	I422	7.8 (121 730)

[a] Für *E.-coli*-Ribosomen. nt = Nucleotide.

[*] E. Westhof

Institut de Biologie Moléculaire et cellulaire du CNRS
UPR9002
15, rue René Descartes, 67084 Strasbourg-Cedex (Frankreich)
Fax: (+33) 3-88-41-70-66
E-mail: e.westhof@ibmc.u-strasbg.fr
N. Leontis
Chemistry Department, Bowling Green State University
Bowling Green, OH 43403 (USA)

tronenstreuung die relativen Positionen von Proteinen der 30S-Untereinheit bestimmte.^[8, 9] Hierfür war über ein Jahrzehnt gezielter Arbeit erforderlich, da jedes Protein zuerst isoliert und in deuterierter Form gereinigt werden musste, bevor es einzeln oder in paarweiser Kombination mit anderen Proteinen in rekonstituierte Ribosomen eingebaut werden konnte. Peter Moore tat sich mit dem bekannten Strukturbiologen Tom Steitz, ebenfalls an der Yale University tätig,

zusammen, und die beiden Arbeitsgruppen bestimmten gemeinsam die Struktur der 50S-Untereinheit, zunächst bei einer Auflösung von 9 Å.^[10] dann bei 5 Å.^[4] Parallel dazu schaffte es Venki Ramakrishnan (zuerst an der University of Utah in Salt Lake City und später am Medical Research Council in Cambridge) mit seiner Arbeitsgruppe, die Struktur der 30S-Untereinheit bei einer Auflösung von 5.5 Å zu bestimmen.^[3] Er hatte zuvor zusammen mit Peter Moore an der relativen Positionierung von ribosomalen Proteinen in den Ribosomen und anschließend an der Strukturaufklärung zahlreicher ribosomaler Proteine in isolierter Form^[11] gearbeitet. Beide Gruppen arbeiteten mit Kristallen von isolierten Untereinheiten, deren Kristallisierbarkeit zuvor von Yonaths Arbeitsgruppe gezeigt worden war.^[12-13]

Seit Mitte der achtziger Jahre produzierten G. Yusupova und M. Yusopov in der Arbeitsgruppe des Ribosomenforschers A. Spirin am Protein Research Institute in Puschino, Russland, immer bessere Kristalle des kompletten Ribosoms eines thermophilen Bakteriums.^[14] Beide brachten später ihre biochemischen und kristallographischen Kenntnisse in das Labor von Harry Noller ein, einem Pionier der Sequenzierung und Charakterisierung ribosomaler RNAs (rRNAs)^[15-18] an der University of California in Santa Cruz. Nollers Gruppe gelang die Aufklärung der Struktur des kompletten Ribosoms,^[5] nicht zuletzt durch die Beteiligung von Jamie Cate, der zuvor schon an der bahnbrechenden Strukturaufklärung der P4-P6-Domäne von Gruppe-I-Introns beteiligt war.^[19]

Die erste Herausforderung war die Gewinnung stabiler und gut streuender Kristalle. Sobald diese überwunden waren, stellte sich den Kristallographen das enorme Problem der Phasierung der Reflexe eines so großen asymmetrischen Objektes. Die Struktur der 30S-Untereinheiten wurde mit der Methode des multiplen isomorphen Ersatzes, wobei Metallcluster auf Tantal- oder Wolframbasis eingesetzt wurden,^[20] und durch Berücksichtigung der anomalen Streuung in einem Fall^[3] oder durch Verwendung von Oligomeren, die mit Metallclustern modifiziert waren, im anderen Fall bestimmt.^[2] Bei den 50S-Untereinheiten wurde das kristallographische Problem dadurch vergrößert, dass die Kristalle verzwilligt waren. Aber auch hier lag die Lösung im multiplen isomorphen Ersatz und der anomalen Streuung bei mehreren Wellenlängen, nachdem die Phasen bei einer geringeren Auflösung mit Kryoelektronenmikroskopie (Kryo-EM) bestimmt worden waren.^[10] Die Aufklärung der Struktur des kompletten Ribosoms basierte außerdem auf einer Reihe von theoretischen Methoden und experimentellen Techniken: 1) Verschiedene Komplexe des 70S-Ribosoms (mit mRNA und tRNA oder deren Analoga) wurden kristallisiert und vermessen, um die Konsistenz der Ribosomenstruktur in allen Fällen sicherzustellen; 2) Phasen wurden bei geringer Auflösung bestimmt, indem aus der Kryoelektronenmikroskopie abgeleitete Molekülkonturen (molecular envelopes) verwendet wurden; 3) abschließend wurde eine Phasenerweiterung zu hoher Auflösung erreicht, indem zur Bestimmung der Positionen der Schweratomcluster die anomale Streuung bei mehreren Wellenlängen benutzt wurde.^[5]

Die Auflösung ist zwar nicht hoch genug, um einzelne RNA-Basen oder Aminosäuren von Proteinen identifizieren zu können. Dennoch können α -Helices in Proteinen von

RNA-Doppelhelices unterschieden werden. Die Strukturbilder enthüllen damit die generelle Anordnung der Proteine relativ zu den RNAs. Bereits in den siebziger Jahren entwickelten Kristallographen zur Strukturmodellierung von tRNAs Programme, mit denen die zuvor einzeln bestimmten Strukturen von RNA-Bausteinen, wie Phosphatgruppen, Zuckereinheiten, Basen und Mononucleotiden, in der Elektronendichtheckarte der tRNA-Polynucleotidkette positioniert werden konnten.^[21] Um die hier diskutierten Strukturen zu bestimmen, mussten ganze Domänen – RNA-Helices, konservierte RNA-Haarnadelschleifen, häufig vorkommende RNA-Module^[22, 23] und bekannte Komplexe von RNA-Fragmenten mit Proteinen^[24, 25] – identifiziert und in die Elektronendichte eingepasst werden. Alle sieben Proteine der 30S-Untereinheit, die zuvor kristallisiert und deren Strukturen bei atomarer Auflösung bestimmt werden konnten (S4, S5, S6, S7, SS8, S15 und S17),^[11] wurden in der Elektronendichtheckarte der kleinen Untereinheit lokalisiert. Außerdem konnten mit Daten aus niedrig aufgelösten Neutronenstreuungskarten^[9] und biochemischen Befunden die Positionen von einigen anderen Proteinen der 30S-Untereinheit (S2, S3, S11, S16, S18 und S20) bestimmt werden. In der großen Untereinheit wurden zwölf Proteine lokalisiert. Die Atomkoordinaten von fünf Proteinen bekannter Struktur (L1, L2, L6, L11 und L14) und von zwei RNA-Fragmenten (der Sarcin/Ricin-Haarnadelschleife und der L11-Bindungsstelle der 23S-RNA) wurden in die Elektronendichte eingepasst. Drei dieser Proteine (L6, L11 und L14) und die beiden RNA-Fragmente stellen den größten Teil der Bindungstelle für G-Proteine (Translationsfaktoren) dar.

Insgesamt bestätigen die gezeigten Strukturen deutlich die wunderbaren Rekonstruktionen, die aus der Kryoelektronenmikroskopie erhalten wurden.^[26-30] Die meisten Charakteristika der kleinen Untereinheit (Kopf und Nacken verbunden mit der Plattform und dem Körper; Abbildung 1) sind in den äußeren Umrissen erkennbar. Einige Modifikationen scheinen vom untersuchten Kristall und vornehmlich vom Funktionszustand des Partikels abhängig zu sein. Bei der großen Untereinheit sind so einige bedeutsame Unterschiede zwischen den Strukturen, die man durch Kryo-EM und Kristallstrukturanalyse erhalten hat, links- (L1) und rechtsseitig (L7/L12) des zentralen Vorsprungs feststellbar (Abbildung 1). Kryo-EM-Bilder und biochemische Daten dienten weiterhin dazu, an dieser Stelle die zuvor unabhängig bestimmten Strukturmodelle der Translationsfaktoren EF-G und EF-Tu (im Komplex mit Aminoacyl-tRNA und GTP) anzudocken.^[29, 30]

Die Synergieeffekte dieser beiden experimentellen Vorgehensweisen zeigen deutlich ein großes Potential für die Zukunft. Zwei neuere Entwicklungen verdeutlichen dies besonders.^[31, 32] Die Insertion einer tRNA-Sequenz in das bakterielle 23S-rRNA-Gen ermöglicht die Isolierung von Ribosomen, bei denen die typische L-förmige Struktur der tRNA sichtbar ist, wodurch spezifische Regionen innerhalb des ganzen Moleküls eindeutig identifiziert werden können.^[31] Die Kryo-EM-Struktur der 50S-Untereinheit von *E. coli* bei einer Auflösung von 7.5 Å deckt neue Details bezüglich der L7/L12-Region und des L8-Komplexes sowie über die weitreichenden Konformationsänderungen auf, die

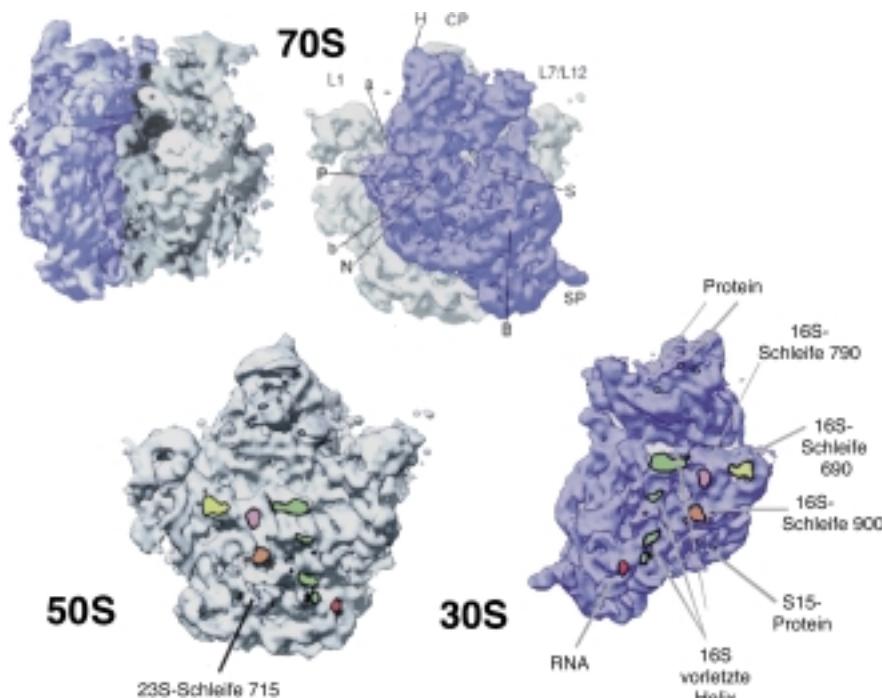


Abbildung 1. Aus der bei 7.8 Å Auflösung bestimmten Struktur abgeleitete Wechselwirkungen zwischen der kleinen (30S) und der großen ribosomalen Untereinheit (50S), die am Aufbau des funktionellen 70S-Ribosoms beteiligt sind. Oben: Zwei Ansichten des 70S-Partikels; eine Frontalansicht, die andere ist um 90° gedreht, um die Orientierung der 30S- und 50S-Untereinheiten relativ zueinander zu verdeutlichen. Unten: Die 70S-Partikel ist geöffnet dargestellt, um die jeweiligen Kontaktstellen in den beiden Untereinheiten zu zeigen. Die Kontaktstellen sind farbig gezeichnet und markiert, um die entsprechenden Brücken, die zuerst durch Kryoelektronenmikroskopie identifiziert wurden, und die spezifischen RNA-Haarnadelschleifen oder -Helices sowie ribosomale Proteine zu zeigen, die nun in den höher aufgelösten Strukturen^[41] zugeordnet werden können (siehe Tabelle 2). Die Abbildung ist in Anlehnung an Abbildungen 2 und 3 aus Lit. [5] mit freundlicher Genehmigung der American Association for the Advancement of Science erstellt worden (Copyright 1999).

tinuierlichen Stapel aus drei Basen (5'-NRA-3') erkennen.^[33] Drittens konnten einige interne Schleifen mit einem charakteristischen S-Motiv nachgewiesen^[34] und zwei davon auch funktionell bedeutenden Regionen in beiden Untereinheiten zugeordnet werden. Eine entspricht der Haarnadelschleife 900 in der kleinen Untereinheit (Nucleotide 890–910 der 16S-RNA), welche die so genannte Schalt-Helix („switch helix“) an ihrer Basis enthält. Eine weitere konnte als die Sarcin/Ricin-Haarnadelschleife identifiziert werden. Sie ist an der Bindung der Translationsfaktoren an die große Untereinheit (Nucleotide 2650–2670 der 23S-RNA) beteiligt. Schließlich wurden verschiedene RNA-Helices erkannt, die miteinander eventuell über den Ribose-Reißverschluss („ribose zipper“) in Kontakt stehen.^[19] Bei der Auflösung der vorliegenden Strukturen ist es jedoch nicht möglich, einzelsträngige Bereiche über eine längere Distanz zu identifizieren. In der kleinen Untereinheit kann allerdings das Rückgrat der 16S-rRNA über weite Bereiche der zentralen Domäne verfolgt werden.^[3] Zusätzlich konnte eine bemerkenswerte 100 Å lange, leicht verzerrte RNA-Doppelhelix, die sowohl in den 30S-^[2, 3] als auch in den 70S-Partikeln^[5] sichtbar ist, als vorletzte Helix der 16S-RNA zuge-

während der Bindung an die 30S-Untereinheit ablaufen.^[32] Die funktionale Bedeutung der Unterschiede zwischen der Kristall- und der EM-Struktur ist derzeit schwierig zu bewerten. Größere Bewegungen und Verschiebungen innerhalb des Ribosoms während der Stadien der Proteinsynthese (Bindung und Freisetzung von tRNAs, Fortschreiten entlang der mRNA und Freisetzung der synthetisierten Peptidketten etc.) sind zu erwarten.^[18]

Verschiedene Beispiele für bekannte RNA-Strukturmotive treten deutlich in den Elektronendichtekarten hervor (Abbildung 2). Erstens können die meisten der kanonischen doppelhelicalen Strukturelemente als solche identifiziert werden, indem man die regelmäßig wiederkehrenden „Knubbel“ hoher Elektronendichte den Phosphatgruppen zuordnet. Zweitens kann man mit 5'-GNRA-3'-Tetraschleifen verschlossene Haarnadelmotive leicht an ihren Konformationsmerkmalen wie einem kon-

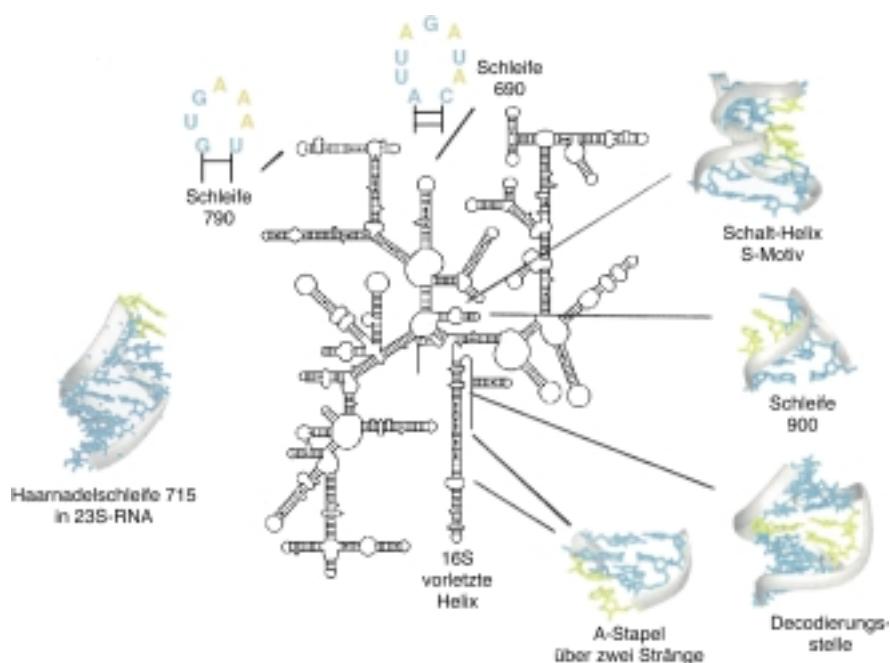


Abbildung 2. Darstellung von RNA-Tertiärstrukturelementen, die an Wechselwirkungen zwischen den Untereinheiten beteiligt sind, und ihrer Positionen innerhalb der Sekundärstruktur der 16S-rRNA. Konservierte, exponierte Adeninreste, die wiederholt in Tertiärstrukturelementen vorkommen,^[46] sind in Gelb gezeichnet.

ordnet werden (Positionen 1400–1500). Dieser funktionell wichtige Bereich beinhaltet die Decodierungsstelle der 16S-rRNA und bildet einen entscheidenden Teil der Kontaktfläche zur 50S-Untereinheit einschließlich der Brücken B2a, B3 und B5 (Tabelle 2). Außerdem steht er direkt mit der Haarnadelschleife 900 in Kontakt, die das S-Motiv und die Schalt-Helix enthält, welche an der Modulation der Translationsgenauigkeit beteiligt ist, und die ihrerseits mit der 50S-Untereinheit an einer von deren Haarnadelschleifen in Kontakt steht (Brücke B2c).

Welche Aufgabe haben die Proteine? Eine Antwort auf diese Frage kommt auch langsam ans Licht. Die ribosomalen Proteine sind gleichmäßig über die beiden Untereinheiten verteilt und scheinen zwei oder mehrere RNA-Helices hauptsächlich nichtkovalent miteinander zu verbinden. Dies steht mit zahllosen Daten aus chemischen Untersuchungen zum Schutz vor Abbau und aus Quervernetzungsexperimenten in Einklang. Ein Protein scheint gleichzeitig mit mehreren RNA-Bereichen in Verbindung zu stehen, die in der Primär- oder Sekundärstruktur weit voneinander entfernt sind. Damit wäre eine generelle Antwort auf die oben gestellte Frage, dass die ribosomalen Proteine helfen, Tertiärstrukturelemente der RNAs aufzubauen und zu stabilisieren. Die RNA selbst ist um ein Gerüst von konventionellen Watson-Crick-Helices herum aufgebaut, die wiederum andere Strukturmotive verbinden und positionieren. Diese Motive wiederholen sich und sind selbst über Nicht-Watson-Crick-Basenpaare aufgebaut,^[35] wobei sich eine Vielzahl zugänglicher Bindungsstellen ergibt. Es ist aber noch zu früh, um die relativen Beiträge von RNA-Protein- und RNA-RNA-Wechselwirkungen in Bezug auf die Zusammenlagerung der Untereinheiten und des gesamten Ribosoms zu diskutieren (siehe Tabelle 2 für einen Überblick über den gegenwärtigen Stand der Forschung).

Andererseits kann eine direktere Rolle für einige ribosomale Proteine nicht außer Frage gestellt werden. Tatsächlich warten die neuen Strukturen mit einigen Überraschungen auf, z.B. mit dem Befund, dass die Proteine S5 und S4 in der kleinen Untereinheit direkt miteinander wechselwirken. Es ist bekannt, dass die Mutation von Aminosäuren in dieser Kontaktfläche die Fähigkeit des Ribosoms zur Auswahl der korrekt aminoacylierten tRNA beeinflusst (*ram*-Mutationen). Weiterhin reicht die Auflösung der Strukturmodelle aus, um einige Hohlräume und Tunnels zu erkennen, von

denen einige dazu dienen könnten, während des sich wiederholenden und hoch prozessiven Kreislaufs der Proteinbiosynthese Substrate und Produkte zu binden und weiterzuleiten. Das Vorhandensein eines Kanals, der direkt vom aktiven Zentrum der Peptidyltransferase gerade durch den Körper der großen Untereinheit verläuft und dem Weg zugeschrieben wird, den ein neusynthetisiertes Polypeptid nimmt, ist ein solches herausragendes Merkmal in der Struktur der 50S-Untereinheit. Seitdem dieser Tunnel, der schon vor 30 Jahren erstmals postuliert worden ist,^[36] in den Rekonstruktionsmodellen der 50S- und 70S-Partikel sichtbar wurde,^[37] regt er zu heftigen Diskussion an. Durch Kryo-EM-Untersuchungen wurden vor kurzem erste Beweise für seine Existenz in Heferibosomen erhalten.^[38] Er ist 20 Å breit und 100 Å lang, und in den Kristallen der 50S-Untereinheit enthält er vier W₁₁-Cluster.^[4] Sehr bemerkenswert ist die fast gänzliche Abwesenheit von Proteinen an der Kontaktfläche zwischen der 30S- und der 50S-Untereinheit. An dieser Kontaktfläche werden Substrate gebunden und die Peptidbindung geknüpft. Dies führt zu der Frage: Ist das Ribosom ein Ribozym, oder anders ausgedrückt, ist die RNA die chemisch aktive Komponente bei der Katalyse der Bildung einer Peptidbindung? Obwohl experimentelle Befunde diese Deutung unterstützen, steht ein eindeutiger Beweis noch aus.^[39] Brücken, die Kontaktpunkte zwischen den beiden Untereinheiten darstellen (Tabelle 2), wurden erstmals in niedrig aufgelösten Kryo-EM-Aufnahmen nachgewiesen.^[40] Auf der Basis der vorliegenden Struktur der 70S-Untereinheit^[5] konnte, gestützt durch zusätzliche biochemische Daten, eine RNA-Protein-Brücke zwischen den Kontaktflächen der Untereinheiten identifiziert werden, die aus dem Protein S15 der kleinen Untereinheit und der Haarnadelschleife 715 der 23S-rRNA der großen Untereinheit besteht.^[41]

Die neuen Kristallstrukturen krönen die jahrzehntelange intensive Forschungsarbeit und öffnen neue Wege und Möglichkeiten für Grundlagen- und angewandte Forschung. Die 16S-rRNA hat schon eine entscheidende Rolle bei der Klassifizierung der Lebensformen gespielt. Die Unterteilung der Lebewesen in drei Königreiche (Archaea, Eubakterien und Eukarya) basierte auf der Analyse der 16S-rRNA-Sequenzen.^[42] Aus der Sicht der Strukturbioologie ist das Ribosom eine Goldmine zum Entdecken von Strukturmotiven und Wechselwirkungen. Ausführliche Vergleiche zwi-

Tabelle 2. RNA-Protein- und RNA-RNA-Wechselwirkungen zwischen den Untereinheiten im eubakteriellen 70S-Ribosom im Bereich der Kernregion, wo die Bindung von mRNA und tRNAs stattfindet.^{[5, 41][a]}

Wechselwirkung	Art	Ort	kleine Untereinheit	große Untereinheit
B1a	RNA-Protein	Peripherie	Protein	RNA
B1b	RNA-Protein	Peripherie	Protein	RNA
B4	RNA-Protein	Peripherie	S15-Protein	Haarnadelschleife 715
B6	RNA-Protein	Peripherie	RNA	Protein
B2b	RNA-RNA	Kernregion	Haarnadelschleife 790	RNA
B7	RNA-RNA	Kernregion	Haarnadelschleife 690	RNA
B2c	RNA-RNA	Kernregion	Haarnadelschleife 900	Haarnadelschleife 1700
B2a	RNA-RNA	Kernregion	vH (oberer Teil; ff)	Haarnadelschleife 1910
B3	RNA-RNA	Kernregion	vH (ff)	RNA
B5	RNA-RNA	Kernregion	vH (tf)	RNA

[a] Die Wechselwirkungsstellen wurden zuerst mit Kryo-EM identifiziert und als Elektronendichte-„Brücken“ bezeichnet.^[41] Die Abkürzung vH steht für die vorletzte Helix in der 16S-rRNA, die die Decodierungsstelle enthält; mit ff ist die flache (und breite) Furche, mit tf die tiefe (und schmale) Furche der RNA-Helix bezeichnet (entsprechend der kleinen bzw. großen Furche in der B-DNA-Helix).

schen den dreidimensionalen Strukturmotiven und den verfügbaren Sequenzen sollten es uns in Zukunft ermöglichen, die Regeln zu entziffern, die die Sequenz mit der Struktur verknüpfen, und auch die, auf denen die RNA-Protein-Wechselwirkungen beruhen. Das Ribosom war das Ziel intensiver Modellierungsstudien,^[43] und die neu bestimmten Strukturen sollten dabei helfen, deren Grenzen und zukünftige Möglichkeiten aufzuzeigen. Einige Antibiotika hemmen die Proteinbiosynthese, indem sie entweder an der 50S-Untereinheit angreifen, wie die Makrolide, oder an der 30S-Untereinheit, wie die Aminoglycoside. Doch treten in letzter Zeit verstärkt Mikroorganismen auf, die gegen nahezu alle verfügbaren Antibiotika resistent sind.^[44] Unser Wissen über die Antibiotika-Bindungsstellen an den eubakteriellen Ribosomen auf der atomaren Ebene ist aber noch sehr dürftig.^[45] Wir hoffen nun darauf, dass in Zukunft auch Strukturen von Ribosomen im Komplex mit Antibiotika aufgeklärt werden. Die daraus abgeleiteten Strukturinformationen würden von großer Bedeutung für die gezielte Entwicklung von neuen Wirkstoffen sein, die zur Bekämpfung der drohenden Krise in der antibakteriellen Therapie dringend benötigt werden.

- [1] P. B. Moore, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1998**, *27*, 35–58.
- [2] A. Tocilj, F. Schlünzen, D. Janel, M. Glühmann, H. A. Hansen, J. Harms, A. Bashan, H. Bartels, I. Agmon, F. Franceschi, A. Yonath, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 14252–14257.
- [3] W. M. Clemons, Jr., J. L. May, B. T. Wimberly, J. P. McCutcheon, M. S. Capel, V. Ramakrishnan, *Nature* **1999**, *400*, 833–840.
- [4] N. Ban, P. Nissen, J. Hansen, M. Capel, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Nature* **1999**, *400*, 841–847.
- [5] J. H. Cate, M. M. Yusupov, G. Z. Yusupova, T. N. Earnest, H. F. Noller, *Science* **1999**, *285*, 2095–2104.
- [6] A. Yonath, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1992**, *21*, 77–93.
- [7] H. Hope, F. Frolov, K. von Bohlen, I. Makowski, C. Kratky, Y. Halfon, H. Danz, P. Webster, K. S. Bartels, H. G. Wittmann, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1989**, *45*, 190–199.
- [8] M. S. Capel, D. M. Engelmann, B. R. Freeborn, M. Kjeldgaard, J. A. Langer, V. Ramakrishnan, D. G. Schindler, D. K. Schneider, B. P. Schoenborn, I. Y. Sillers, *Science* **1987**, *238*, 1403–1406.
- [9] M. S. Capel, M. Kjeldgaard, D. M. Engelmann, P. B. Moore, *J. Mol. Biol.* **1988**, *200*, 65–87.
- [10] N. Ban, B. Freeborn, P. Nissen, P. Penczek, R. A. Grassucci, R. Sweet, J. Frank, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Cell* **1998**, *93*, 1105–1115.
- [11] V. Ramakrishnan, S. W. White, *Trends Biochem. Sci.* **1998**, *23*, 208–212.
- [12] A. Yonath, C. Glotz, H. S. Gewitz, K. S. Bartels, K. von Bohlen, I. Makowski, H. G. Wittmann, *J. Mol. Biol.* **1988**, *203*, 831–834.
- [13] K. von Bohlen, I. Makowski, H. A. Hansen, H. Bartels, Z. Berkovitch-Yellin, A. Zaytzev-Bashan, S. Meyer, C. Paulke, F. Franceschi, A. Yonath, *J. Mol. Biol.* **1991**, *222*, 11–15.
- [14] S. Trakhanov, M. Yusupov, V. Shirokov, M. Garber, A. Mitschler, M. Ruff, J. C. Thierry, D. Moras, *J. Mol. Biol.* **1989**, *209*, 327–328.
- [15] H. F. Noller, C. R. Woese, *Science* **1981**, *212*, 403–411.
- [16] H. F. Noller, J. Kop, V. Wheaton, J. Brosius, R. R. Gutell, A. M. Kopylov, F. Dohme, W. Herr, D. A. Stahl, R. Gupta, C. R. Woese, *Nucleic Acids Res.* **1981**, *9*, 6167–6189.
- [17] H. F. Noller, *Annu. Rev. Biochem.* **1991**, *60*, 191–227.
- [18] K. S. Wilson, H. F. Noller, *Cell* **1998**, *92*, 337–349.
- [19] J. H. Cate, A. R. Gooding, E. Podell, K. Zhou, B. L. Golden, C. E. Kundrot, T. R. Cech, J. A. Doudna, *Science* **1996**, *273*, 1678–1685.
- [20] J. Thygesen, S. Weinstein, F. Franceschi, A. Yonath, *Structure* **1996**, *4*, 513–518.
- [21] J. L. Sussman, S. R. Holbrook, R. W. Warrant, G. M. Church, S. H. Kim, *J. Mol. Biol.* **1978**, *123*, 607–630.
- [22] R. T. Batey, R. P. Rambo, J. A. Doudna, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2472–2491; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2326–2343.
- [23] P. B. Moore, *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *67*, 287–300.
- [24] T. Hermann, E. Westhof, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, R335–R343.
- [25] D. E. Draper, *J. Mol. Biol.* **1999**, *293*, 255–270.
- [26] A. Malhotra, P. Penczek, R. K. Agrawal, I. S. Gabashvili, R. A. Grassucci, R. Junemann, N. Burkhardt, K. H. Nierhaus, J. Frank, *J. Mol. Biol.* **1998**, *280*, 103–116.
- [27] R. K. Agrawal, P. Penczek, R. A. Grassucci, J. Frank, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 6134–6138.
- [28] R. K. Agrawal, P. Penczek, R. A. Grassucci, Y. Li, A. Leith, K. H. Nierhaus, J. Frank, *Science* **1996**, *271*, 1000–1002.
- [29] H. Stark, M. V. Rodnina, J. Rinke-Appel, R. Brimacombe, W. Wintermeyer, M. van Heel, *Nature* **1997**, *389*, 403–406.
- [30] H. Stark, E. V. Orlova, J. Rinke-Appel, N. Junke, F. Mueller, M. Rodnina, W. Wintermeyer, R. Brimacombe, M. van Heel, *Cell* **1997**, *88*, 19–28.
- [31] C. M. Spahn, R. Grassucci, P. Penczek, J. Frank, *Structure* **1999**, *7*, 1567–1573.
- [32] R. Matadeen, A. Patwardhan, B. Gowen, E. V. Orlova, T. Pape, M. Cuff, F. Mueller, R. Brimacombe, M. van Heel, *Structure* **1999**, *7*, 1575–1583.
- [33] C. C. Correll, A. Munishkin, Y. L. Chan, Z. Ren, I. G. Wool, T. A. Steitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 13436–13441.
- [34] C. C. Correll, I. G. Wool, A. Munishkin, *J. Mol. Biol.* **1999**, *292*, 275–287.
- [35] Übersicht: N. B. Leontis, E. Westhof, *Q. Rev. Biophys.* **1998**, *31*, 399–455.
- [36] L. I. Malkin, A. Rich, *J. Mol. Biol.* **1967**, *26*, 329–346.
- [37] A. Yonath, K. R. Leonard, H. G. Wittmann, *Science* **1987**, *236*, 813–816.
- [38] R. Beckmann, D. Bubeck, R. Grassucci, P. Penczek, A. Verschoor, G. Blobel, J. Frank, *Science* **1997**, *278*, 2123–2126.
- [39] R. Green, C. Switzer, H. F. Noller, *Science* **1998**, *280*, 286–289.
- [40] J. Frank, A. Verschoor, Y. Li, J. Zhu, R. K. Lata, M. Radermacher, P. Penczek, R. Grassucci, R. K. Agrawal, S. Srivastava, *Biochem. Cell Biol.* **1995**, *73*, 757–765.
- [41] G. M. Culver, J. H. Cate, G. Z. Yusupova, M. M. Yusupov, H. F. Noller, *Science* **1999**, *285*, 2133–2136.
- [42] W. E. Balch, L. J. Magrum, G. E. Fox, R. S. Wolfe, C. R. Woese, *J. Mol. Evol.* **1977**, *9*, 305–311.
- [43] R. Brimacombe, *Eur. J. Biochem.* **1995**, *230*, 365–383.
- [44] R. M. Anderson, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 147–149.
- [45] D. Fourmy, M. I. Recht, J. D. Puglisi, *J. Mol. Biol.* **1998**, *277*, 347–362.
- [46] L. Ortoleva-Donnelly, A. A. Szewczak, R. R. Gutell, S. A. Strobel, *RNA* **1998**, *4*, 498–519.