

# Fehlerkorrektur während der Proteinbiosynthese

Mathias Sprinzl\*

Fehlerkorrektur · Proteine · Ribosomen ·  
Terminationsfaktor · Biosynthese

Eine fehlerfreie Translation der genetischen Information in eine Aminosäuresequenz ist entscheidend für das Überleben von Zellen. Fehlerhafte Polypeptidketten sind oft nicht in der Lage, die korrekte Tertiärstruktur zu bilden, bleiben inaktiv und werden in der Zelle abgebaut. Deshalb erfordert die Synthese besonders längerer Polypeptide eine präzise Translation. Die Fehlerrate der Translation *in vivo* beträgt etwa 1 Fehler pro 10000 Aminosäurereste.<sup>[1]</sup>

Die Elongation einer Polypeptidkette um eine weitere Aminosäure am Ribosom, die in mehrere Schritte unterteilt werden kann, läuft nie vollständig korrekt ab.<sup>[2]</sup> Der Grund für diese Ungenauigkeit liegt in der Natur der chemischen Wechselwirkungen. Durch Watson-Crick-Basenpaarungen zwischen dem Codon-Triplett der mRNA und dem Anticodon der tRNA wird der genetische Code in eine Aminosäuresequenz übersetzt. Die Unterschiede in der Stabilität der passenden und nah verwandten Codons können sehr gering sein. Thermodynamisch betrachtet, hat ein einzelnes Basenpaar deshalb nur einen geringen Einfluss auf die Stabilität der Codon-Anticodon-Wechselwirkung. Es stellt sich die Frage, wie der Translationsapparat das inkorrekte Lesen eines nah verwandten Codon-Triplets vermeidet. Ein weiterer wichtiger Schritt ist die Beladung der tRNA mit der entsprechenden Aminosäure. Geringe Unterschiede in der Aminosäurestruktur, wie z. B. bei Isoleucin und Valin, müssen bei der Beladung der tRNAs erkannt werden.<sup>[3]</sup> Wie wird das Translationssystem mit diesem Problem fertig?

Die Proteinbiosynthese findet an großen Nucleoprotein-komplexen, den Ribosomen, statt. Zwar sind mehr als 150 Moleküle (Proteine, RNA-Moleküle, Nucleotide) an diesem Prozess beteiligt, das aktive Zentrum des Ribosoms besteht jedoch ausschließlich aus RNA. Die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur des Ribosoms gab neue Impulse für das Verständnis der Ribosomenfunktion.<sup>[4]</sup>

Es ist bekannt, dass einige Biosynthesen, in denen lineare Polymere, wie Nucleinsäuren oder Polypeptide, erzeugt werden, mehrstufige Mechanismen nutzen, um die Genauigkeit des gesamten Elongationsprozesses zu erhöhen. Dabei findet in der ersten Stufe eine molekulare Erkennung des Substrats statt; in der folgenden Stufe wird die Qualität des Produkts

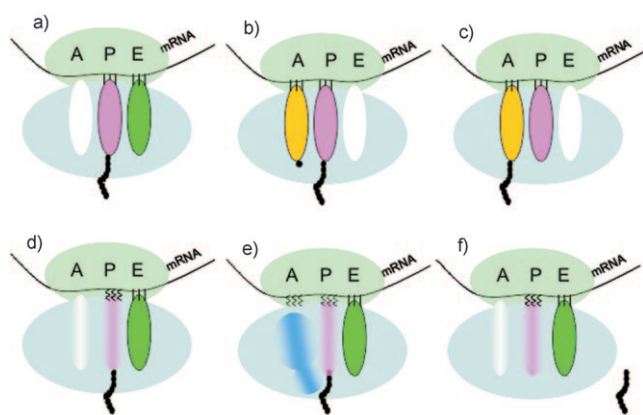
überprüft und gegebenenfalls in einer weiteren Stufe korrigiert. Damit diese Fehlerkorrektur (proofreading) stattfinden kann, müssen die beiden letzten Stufen thermodynamisch voneinander getrennt sein, um Rückreaktionen zu vermeiden.<sup>[5]</sup>

Lange Zeit wurde angenommen, dass im Falle der Polypeptidsynthese an Ribosomen eine solche Fehlerkorrektur lediglich durch die Codon-abhängige Selektion der korrekten Aminoacyl-tRNA in der Aminoacyl(A)-Stelle des Ribosoms stattfindet (Prä-Transfer-Fehlerkorrektur).<sup>[5,6]</sup> Zaher und Green zeigten nun kürzlich, dass selbst nach Einbau einer falschen Aminosäure in die entstehende Polypeptidkette eine Fehlerkorrektur stattfinden kann (Post-Transfer-Fehlerkorrektur).<sup>[7]</sup>

Eine korrekte Codon-Anticodon-Wechselwirkung erfordert eine perfekte Watson-Crick-Basenpaarung an der ersten und zweiten Codonposition zwischen der mRNA und dem Anticodon der tRNA. Das dritte Nucleotid des Codons muss hingegen nicht zwangsläufig in einem Watson-Crick-Basenpaar vorliegen (wobble). Während der Translation befinden sich neun Nucleotide der mRNA in der A-, P- und E-Stelle der 30S-Untereinheit des Ribosoms (Abbildung 1). Mindestens zwei der drei Stellen werden gleichzeitig durch tRNAs besetzt, die über Codon-Anticodon-Wechselwirkung selektiert werden (Abbildung 1 a und b).<sup>[8]</sup> Die korrekte Beladung der A-Stelle folgt dem allosterischen Drei-Stellen-Modell von Nierhaus (scharf umrandetes weißes Feld in Abbildung 1). Diesem Modell zufolge kann die A-Stelle nur dann mit tRNA besetzt werden, wenn die P- und E-Stelle des Ribosoms durch die komplementären Codon-Anticodon-Wechselwirkungen und die passgenaue Platzierung der tRNAs in diesen Stellen eine passende Struktur bilden.<sup>[8]</sup>

Unter Beteiligung des Elongationsfaktors EF-Tu-GTP wird die neue Aminoacyl-tRNA zur programmierten A-Stelle transportiert.<sup>[9]</sup> Gleichzeitig wird die durch eine tRNA besetzte E-Stelle frei. Während dieses Schrittes (a→b, Abbildung 1) erfolgt die Fehlerkorrektur, durch die fehlplatzierte Aminoacyl-tRNAs entfernt werden, noch bevor die neue Peptidbindung gebildet wird. Ist eine Aminoacyl-tRNA korrekt in der A-Stelle platziert (angezeigt in Abbildung 1 durch drei gerade Linien zwischen dem Anticodon der tRNA und dem Codon der mRNA sowie durch die scharf umrandeten Bindungsstellen), bildet sich die Peptidbindung und somit der Prätranslokationskomplex (Abbildung 1 c). Anschließend befindet sich die Peptidyl-tRNA in der A-Stelle und die nackte tRNA in der P-Stelle. Der gesamte Komplex wird durch die so genannte Translokation bewegt, wodurch sich ein

[\*] Prof. Dr. M. Sprinzl  
Laboratorium für Biochemie, Universität Bayreuth  
Universitätsstraße 30, 95440 Bayreuth (Deutschland)  
Fax: (+49) 921-55-2066  
E-Mail:  
E-Mail: mathias.sprinzl@uni-bayreuth.de



**Abbildung 1.** Unterschiedliche Zustände des Ribosoms während der fehlerfreien Elongation (a–c) und während der Post-Transfer-Fehlerkorrektur (d–f). Programmierter Komplex mit komplementärer Codon-Anticodon-Wechselwirkung in P- und E-Stelle (a). Ribosom nach der EF-Tu-vermittelten Bindung der Aminoacyl-tRNA in der A-Stelle (b) und nach erfolgtem Peptidyltransfer (c). Die von den passenden tRNAs besetzten A-, P- und E-Stellen sind gelb, violett bzw. grün dargestellt. Unbesetzte Stellen sind weiß. Die durchgezogenen Außenlinien spiegeln eine korrekte Konformation der Bindungsstelle wider. Entzieht sich eine fehlerhafte Aminoacyl-tRNA der Prä-Transfer-Fehlerkorrektur, kann diese die P-Stelle besetzen (d). Dies führt zu einer Strukturveränderung der Bindungsstelle (verschwommene Außenlinie), was in einer bevorzugten Bindung des Terminationsfaktors (blau dargestellt in e) in der A-Stelle resultiert. Die Peptidyl-tRNA in der P-Stelle wird hydrolysiert und das Peptid freigesetzt (f).

zu (a) analoger Komplex bildet, der das nächste Codon der mRNA präsentiert (nicht gezeigt).

Zaher und Green untersuchten mithilfe von kurzen synthetischen mRNAs in vitro die Auswirkungen einzelner Fehlbasenpaarungen (Abbildung 1d–f) in den P- und E-Stellen auf die tRNA-Erkennung in der A-Stelle. Sie fanden, dass eine Fehlbasenpaarung zwischen Codon und Anticodon in der P-Stelle (Abbildung 1d) oder in P- und E-Stelle (nicht dargestellt) zu einer verstärkten Terminationsfaktor-abhängigen Hydrolyse der Peptidylreste von der an der P-Stelle gebundenen Peptidyl-tRNA führt. Eine solche Hydrolyse findet normalerweise nur statt, wenn sich ein Nonsense-Codon (eines der drei Codons, für das keine tRNA existiert) in der A-Stelle befindet. In einem solchen Fall besetzen Terminationsfaktoren die A-Stelle und beenden die Polypeptidsynthese durch Hydrolyse der Esterbindung zwischen gebildeter Polypeptidkette und der an der P-Stelle gebundenen tRNA. Die Arbeit von Zaher und Green zeigt nun, dass eine Fehlbasenpaarung in der P-Stelle (oder P- und E-Stelle) die A-Stelle neu programmiert, um sie für den Terminationsfaktor und die damit verbundene Hydrolyse des Peptidyl-tRNA-Esters zugänglich zu machen (Abbildung 1e). Das hydrolysierte Peptid wird vom Ribosom freigesetzt (Abbildung 1f). Diese Reaktionsfolge entspricht einem neuartigen Mechanismus der Post-Transfer-Korrektur von fehlerhaften Peptidbindungen.

Der genaue molekulare Ablauf dieses Mechanismus bleibt jedoch unklar. Die drei tRNA-Bindungsstellen des Ribosoms dürfen nicht als getrennte Einheiten betrachtet werden, wie es Abbildung 1 andeuten könnte. Tatsächlich wird die Struktur der einen Stelle von der Besetzung der

anderen Stelle beeinflusst. Erwiesenermaßen hängt die Codon-Anticodon-Wechselwirkung von weiteren Wechselwirkungen der ribosomalen Bindungsstellen mit der tRNA ab.<sup>[10,11]</sup> Die ribosomale RNA bildet das Gerüst für die Bindung von tRNAs, und die 16S-rRNA sorgt für die korrekte Ausrichtung der Codon-Triplets der mRNA; deshalb kann eine fehlerhafte Codon-Anticodon-Wechselwirkung in der P-Stelle eine strukturelle Störung der A-Stelle durch eine Veränderung der ribosomalen Tertiärstruktur verursachen (dargestellt durch Felder mit unscharfem Rand in Abbildung 1d–f). Daher sinkt die Affinität der Aminoacyl-tRNA für die A-Stelle, und die Bindung des Terminationsfaktors wird gewährleistet.

Daneben gibt es auch andere Möglichkeiten einer Post-Transfer-Fehlerkorrektur während der Translation: Es ist bekannt, dass falsch translatierte Codons zu einer Verschiebung des Leserahmens führen können. Dies resultiert zwangsläufig in einem Nonsense-Codon in der A-Stelle, gefolgt von einer Terminationsfaktor-abhängigen Termination. Eine weitere Möglichkeit ist die Dissoziation der Peptidyl-tRNA aufgrund fehlerhafter Codon-Anticodon-Wechselwirkung während der Translokation. Die Peptidyl-tRNA wird in diesen Fall außerhalb des Ribosoms durch die Peptidyl-tRNA-Hydrolase hydrolysiert.<sup>[12]</sup>

Den von Zaher und Green für die ribosomale Translation beschriebene Post-Transfer-Korrekturmechanismus gibt es in analoger Form für DNA-Polymerasen. Diese für die exakte DNA-Replikation zuständigen Enzyme sind in der Lage, falsch eingebaute Nucleotide zu entfernen. Der Polymerisationsschritt wird ab dem fehlerhaften Nucleotid wieder aufgenommen. Sie Post-Transfer-Fehlerkorrektur der ribosomalen Translation ist allerdings energetisch aufwändiger als dieser Korrekturmechanismus, da hier das komplette Polypeptid verworfen und schließlich abgebaut wird. Da die Polypeptidketten aber viel kürzer sind als Desoxyribonucleinsäuren, ist ein solch verschwenderischer Korrekturmechanismus für die Proteinbiosynthese aber durchaus akzeptabel.

Online veröffentlicht am 23. März 2009

- [1] F. Bouadloun, D. Donner, C. G. Kurland, *EMBO J.* **1983**, 2, 1351–1356.
- [2] M. V. Rodnina, K. B. Gromadski, U. Kothe, H. J. Wieden, *FEBS Lett.* **2005**, 579, 938–942.
- [3] L. Pauling, *Festschrift Arthur Stoll*, Birkhäuser, Basel, **1958**, S. 597–602.
- [4] A. Korostelev, H. F. Noller, *Trends Biochem. Sci.* **2007**, 32, 434–441.
- [5] J. J. Hopfield, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, 71, 4135–4139.
- [6] J. Ninio, *Biochimie* **1975**, 57, 587–595.
- [7] H. S. Zaher, R. Green, *Nature* **2009**, 457, 161–166.
- [8] K. H. Nierhaus, *Biochimie* **2006**, 88, 1013–1019.
- [9] E. Villa, J. Sengupta, L. G. Trabuco, J. LeBarron, W. T. Baxter, T. R. Shaikh, R. A. Grassucci, P. Nissen, M. Ehrenberg, K. Schulten, J. Frank, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, 106, 1063–1068.
- [10] D. Smith, M. Yarus, *J. Mol. Biol.* **1989**, 206, 503–511.
- [11] L. Cochella, R. Green, *Science* **2005**, 308, 1178–1180.
- [12] R. P. Anderson, J. R. Menninger, *Mol. Gen. Genet.* **1987**, 209, 313–318.