

# Die Aufklärung der Ribosomenstruktur (Nobel-Aufsatz)\*\*

V. Ramakrishnan\*

Antibiotika · Nobel-Vortrag · Proteinsynthese ·  
Ribosomen

## Autobiographie. Von Chidambaram nach Cambridge: ein Leben in der Wissenschaft

### Kindheit

Ich wurde 1952 in Chidambaram geboren, einer alten Tempelstadt in Tamil Nadu, die für den Tempel des Nataraja, dem König des Tanzes, bekannt ist. Zu der Zeit, als ich geboren wurde, absolvierte mein Vater, C. V. Ramakrishnan, ein Postdoktorat in Madison, Wisconsin, bei dem berühmten Enzymologen David Green. Er kam aus einer armen Familie und glaubte, er könne mit seinem Einkommen meine Mutter und mich nicht versorgen, sodass er allein nach Amerika ging. Ich sage oft zum Scherz, dass ich auch in Madison hätte geboren werden können und dann womöglich Präsident der Vereinigten Staaten geworden wäre. Tatsächlich sah ich meinen Vater das erste Mal, als ich ungefähr sechs Monate alt war. Meine Mutter, R. Rajalakshmi, war Dozentin an der Annamalai University in Chidambaram, und tagsüber kümmerten sich Tanten und Großeltern um mich, wie es bei indischen Großfamilien typisch ist. Als ich ungefähr eineinhalb Jahre alt war, gingen meine Eltern nach Ottawa, wo mein Vater mit einem Stipendium des National Research Council forschte. Sie kehrten nach etwas mehr als einem Jahr wieder zurück, und während ihrer Abwesenheit wurde ich von meiner Großmutter und meiner Tante Gomathi, der ich bis heute sehr nahestehe, erzogen.

Als ich drei war zogen meine Eltern nach Baroda (heute besser unter dem gujaratischen Namen Vadodara bekannt, der auf das häufige Vorkommen von Banyanbäumen anspielt), wo meinem Vater in ungewöhnlich jungem Alter die Leitung der neuen Abteilung für Biochemie an der Maharaja Sayajirao University übertragen wurde. Die Abteilung bestand anfangs aus nichts als den bloßen Räumlichkeiten, und weder Personal noch Ausrüstung waren vorhanden. Mein Vater kaufte eine Tischzentrifuge zur Aufreinigung von Enzymen, wobei er Eis aus einer nahegelegenen Eisfabrik beschaffte, um damit die Zentrifuge zu kühlen und die empfindlichen Enzyme während der Prozedur kalt zu halten. Mit diesem Instrumentarium schaffte er es, kurz hintereinander zwei Paper in *Nature* zu veröffentlichen. Innerhalb weniger Jahre war die Abteilung in Lehre und Forschung gut etabliert und besaß nun Instrumente, eine Kühlkammer und ein Tierhaus.

Mein Vater war sich der intellektuellen Fähigkeiten meiner Mutter sehr bewusst und unterstützte sie bei ihrem Vorhaben, im Ausland zu promovieren (eine Einstellung, die für einen indischen Mann seiner Generation ungewöhnlich war). Sie erhielt ein Promotionsstipendium für Psychologie an der McGill University. Einer ihrer Mentoren war der berühmte Psychologe Donald Hebb, dessen Theorien den modernen Vorstellungen über die synaptische Plastizität als Grundlage von Gedächtnisvorgängen vorausgingen. Wohl aus einem schlechten Gewissen mir und meinem Vater gegenüber schloss sie ihre Promotion in weniger als 18 Monaten ab, was so etwas wie ein Rekord sein muss. Nach ihrer Rückkehr konnte sie keine geeignete Anstellung am Psychology Department in Baroda finden. Da sie eine ausgezeichnete analytische Begabung hatte, half sie stattdessen meinem Vater bei seinen biochemischen Forschungen. Ihre Stelle wurde durch ein spezielles Programm der indischen Regierung für akademische Auslandsrückkehrer finanziert. Dies war der Beginn einer lebenslangen gemeinsamen Arbeit meiner Eltern. In meiner Kindheit und Jugend erlebte ich viele Besuche von indischen und ausländischen Wissenschaftlern, von denen viele bei uns zu Hause unterkamen. Ein Leben in der Wissenschaft erschien mir damals interessant und vor allem international zu sein.

Unser Umzug nach Baroda war wie ein Kulturschock für mich, weil ich bis zum Alter von drei Jahren nur Tamilisch sprach (eine Sprache, die ich leider nicht mehr gut kann). Eine meiner ersten Erinnerungen ist, dass ich auf einem Spielplatz stand und kein Wort von dem Gujarati verstand, das die Kinder sprachen. Dieses Gefühl, ein Außenseiter zu sein, ist mir für lange Zeit meines Lebens geblieben, da mich meine Karriere immer wieder in andere Länder geführt hat. Weil meine Eltern ebenfalls kein Gujarati sprachen, schickten sie mich auf die damals einzige englische Schule der Stadt, die Convent of Jesus and Mary School, die direkt neben einer großen Kaserne lag. Meine Mutter konnte die Schule überreden, mich das erste Jahr nach dem Kindergarten überspringen zu lassen. 1960, kurz nach der Geburt meiner

[\*] Dr. V. Ramakrishnan  
MRC Laboratory of Molecular Biology  
Hills Road, Cambridge CB2 0QH (UK)

[\*\*] Copyright© Nobel-Stiftung 2009. Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck einer deutschen Fassung dieses Aufsatzes.

Schwester Lalita, ging meine Familie nach Adelaide, wo ich die vierte und Teile der fünften Klasse absolvierte. Ich erinnere mich an das Jahr in Adelaide als die unbekümmertste Zeit meiner Kindheit, und ich kehrte mit einem australischen Akzent zurück, den meine früheren Klassenkameraden kaum verstanden. Wegen der sechsmonatigen Differenz zwischen den australischen und indischen Schuljahren, hatte ich bei meiner Rückkehr praktisch eine Klasse übersprungen. Den Rest meiner Schulzeit verbrachte ich dann auf der Convent School. Mittlerweile waren noch andere englische Schulen in Baroda entstanden, und die Nonnen, die die Schule leiteten, beschlossen, sie in eine reine Mädchenschule umzuformen. Die Jungen durften vorerst noch bleiben, allerdings schwand ihre Zahl immer mehr, und am Ende war das Verhältnis zwischen Mädchen und Jungen ungefähr vier zu eins. Vielleicht deswegen und wegen der Tatsache, dass meine Mutter und meine Schwester beide in die Wissenschaft gegangen sind, habe ich mich auch als einziger Mann unter Frauen immer sehr wohlgefühlt. Es gab Zeiten, in denen meine Arbeitsgruppe fast ausschließlich aus Frauen bestand.

Zwischen der siebten und neunten Klasse fiel ich mit meinen schulischen Leistungen vom fast Klassenbesten an das Ende des ersten Drittels ab. Statt zu lernen, verbrachte ich meine Zeit mit Spielen und dem Lesen von Romanen und anderen außerschulischen Büchern. Glücklicherweise hatte ich in meinen zwei letzten Schuljahren einen passionierten Naturkunde- und Mathematiklehrer, T. C. Patel (Abbildung 1), der es verstand, einen lebendigen Unterricht zu halten. Patel war ein strenger Zuchtmeister, aber er hatte immer ein Augenzwinkern dabei, wenn er uns ein besonders schwieriges Problem stellte. Dies entfachte mein Interesse am

Lernen aufs Neue, sodass ich meinen Abschluss als zweitbesten der Klasse machte, und dies trotz der Tatsache, dass ich sehr schlecht in Hindi war (und diese Sprache auch später nie gut beherrschte).

### Entscheidung für die Naturwissenschaften

In Indien gibt es nach dem Ende der Highschool getrennte Studiengänge (wie in England, aber anders als in Amerika), etwa für Naturwissenschaften, Medizin, Ingenieurwissenschaften und Geisteswissenschaften. Obwohl ich Literatur mochte und auch gut in Englisch war, zog ich ein Anglizistikstudium nie ernsthaft in Betracht – noch dazu bei dem naturwissenschaftlich geprägten Umfeld, in dem ich aufwuchs. Dazu kommt, dass indische Eltern ein Studium der Geisteswissenschaften gewöhnlich als riskante Karrierewahl betrachten, und man schon allergrößten Willen aufbringen muss, um sich hier durchzusetzen. Also schrieb ich mich für einen Vorbereitungskurs in Naturwissenschaften an der örtlichen Maharaja Sayajirao (M.S.) University von Baroda ein, wie ihn Studenten vor dem eigentlichen Medizin-, Ingenieur- oder Wissenschaftsstudium zu absolvieren hatten. Der Kurs hatte einen ausgezeichneten, modernen Lehrplan in Physik und Mathematik. Botanik und Zoologie wurden dagegen sehr altmodisch gelehrt, und man musste mühsam und oft ohne Zusammenhang viel auswendig lernen. Dies hatte zur Folge, dass ich an den Biowissenschaften kein großes Interesse entwickelte.

Eine wichtige Entscheidung, die Studenten nach ihrem Vorbereitungsjahr treffen müssen, ist, ob man in der Medizin oder einem Ingenieurfach weiterstudiert. Im Allgemeinen war es so, dass diejenigen Studenten, die in keinem der beiden Studiengänge angenommen wurden, als „letzte Zuflucht“ in die Naturwissenschaften gingen. Allerdings hatte meine Mutter gerade vom National Science Talent Search Scholarship der indischen Regierung erfahren, das nach dem Vorbild der Westinghouse (heute Intel) Science Talent Scholarships in den USA aufgezogen wurde. Eine Bedingung war, dass der Empfänger des Stipendiums eine Naturwissenschaft als Hauptfach studieren musste. Sie ermutigte mich, die Aufnahmeprüfung zu machen und arrangierte mir das außerdem erforderliche Forschungsprojekt bei einem ihrer Kollegen am Biochemistry Department. Das Projekt war die Bestimmung der Stickstoffmenge, die von Hülsenfrüchten fixiert wird, was in Anbetracht meines allgemeinen Desinteresses an der Biologie nicht ohne Ironie war.

Am Ende des Jahres versuchte ich mich auch an den landesweiten Aufnahmeprüfungen für die berühmten Indian Institutes of Technology (IITs) und für das Christian Medical College in Vellore, eine der besten Medizinschulen in Indien, die aber nur sehr geringe Aufnahmequoten für Männer hatte, weil sie ursprünglich zur Ausbildung weiblicher Ärzte gegründet worden war. Meine Ergebnisse waren für beide Institute nicht gut genug. Weil ich aber an der Universität gute Noten schrieb, bot man mir eine Zulassung zum Medizinstudium in Baroda an. In der Zwischenzeit wiederum wurde mir auch das Stipendium der National Science Talent Scholarship in Aussicht gestellt. Mit meinem Vater, der wollte, dass



**Abbildung 1.** Erste Lehrer und Professoren. Obere Reihe: T. C. Patel, Mathematik- und Naturkundelehrer an der Highschool. S. D. Manerikar, Mathematikprofessor an der Baroda University. Untere Reihe: die Physikprofessoren S. K. Shah und H. S. Desai, Baroda University.

ich Medizin studiere, hatte ich eine Übereinkunft getroffen, dass ich, wenn ich dieses Stipendium bekäme, Naturwissenschaften studieren könne. Nachdem diese Entscheidung also gefallen war, stellte sich als nächstes die Frage, wo ich mein Grundstudium absolvieren sollte. Ich zog kurzzeitig Madras in Erwägung – wegen meiner tamilischen Wurzeln –, allerdings erzählte mir ein Tutor am Physikinstitut in Baroda, S. K. Shah (Abbildung 1), von einem brandneuen Lehrplan, der für das Grundstudium aufgestellt werden sollte. Dieser sah als Grundlage den Berkeley-Physikkurs vor, der dann durch die Feynman Lectures ergänzt wurde, bevor es in spezialisiertere Gebiete ging. Ich entschied mich deshalb, mich für den Bachelorkurs in Physik in Baroda, meiner Heimatstadt, einzuschreiben. Ich war erst 16 und spürte, dass meine Eltern, vor allem mein Vater, erleichtert waren, dass ich mein Zuhause nicht in einem für ihr Gefühl zu jungen Alter verlassen würde.

Meine Physik-Tutoren, vor allem S. K. Shah und H. S. Desai, waren sehr aufgeregt, den neuen Lehrplan zum ersten Mal vortragen zu können, und ihr Enthusiasmus war ansteckend. Ich hatte auch mehrere ausgezeichnete Mathematiklehrer, darunter S. D. Manerikar, der unsere prüfungsorientierten indischen Lehrbücher beiseite legte und aus Büchern wie Hardys *A Course of Pure Mathematics* und Courants Algebra-Lehrbüchern vortrug. Es war während dieser Zeit, als ich das erste Mal Sudhir Trivedi traf, der später eine erfolgreiche Karriere in angewandter Physik in den USA machte und ein lebenslanger Freund der Familie wurde. Oft ließen wir einen langweiligen Unterricht aus. Einmal hatten wir ausgemacht, mit dem Pausenläuten gleich aus dem Fenster zu flüchten, aber Sudhir kam so laut unten auf, dass ich es nicht mehr schaffte hinterherzuspringen, weil der Professor mich direkt anstarrte.

Gegen Ende meines Studiums musste ich mich entscheiden, wohin ich für meine Promotion gehen sollte. Der normale Weg für Studenten der Naturwissenschaften war, an einer Universität in Indien seinen Master zu machen, bevor man daran denken konnte, ins Ausland zu gehen. Als Science Talent Scholar mit ordentlichen Zensuren wäre ich fast überall angenommen worden. Meine Eltern verbrachten jedoch zu der Zeit ein Forschungssemester an der University of Illinois in Urbana, und es reizte mich natürlich, den Sommer bei ihnen zu verbringen und dann in den Vereinigten Staaten zu promovieren. Als ich mich bewarb, war es zu spät für die GRE-Tests (Graduate Record Examinations; standardisierte Tests für ausländische Bewerber an amerikanischen Hochschulen), und ohne diesen Test würde mich fast keine Universität aufnehmen. Von der University of Illinois erhielt ich eine Zusage für ein Hauptstudium in Physik, aber als man herausfand, dass ich noch nicht einmal 19 war und fast keine fachfremden Kurse absolviert hatte, änderten sie ihre Meinung und sagten, ich müsse mich für das Grundstudium einschreiben! Überflüssig zu sagen, dass dies keine Option für mich sein konnte, nicht zuletzt weil es finanziell unmöglich gewesen wäre. Zu etwa dieser Zeit machte mich mein Obmann N. S. Pandya auf einen Brief des Physik-Departments der Ohio University aufmerksam, der besagte, dass man nach qualifizierten Studenten für den dortigen Hauptstudienkurs suchte. Ich schrieb eine Bewerbung und wurde bald darauf mit einem Stipendium angenommen. Ich freute

mich wahnsinnig, zum Studieren in die USA gehen zu können, ein Land, das ich mit vielen der großen Wissenschaftler, deren Lehrbücher ich gelesen hatte, wie Feynman, Purcell und andere, in Verbindung brachte. Ich kam einen Monat nach meinem 19. Geburtstag in Amerika an und verbrachte den Sommer in Champaign-Urbana mit meinen Eltern. Ich ging dort in eine Reihe von Mathematik- und Physikvorlesungen, um sicherzugehen, dass ich keine ernstlichen Defizite für Ohio hatte.

### Promotion in den USA

Als ich nach Ohio kam, war ich überrascht, dass über die Hälfte unserer Klasse Ausländer waren, viele aus Indien. Ich bestand die Pflichtprüfung nach dem zweiten Jahr und entschied mich dann für eine Vertiefung in Festkörpertheorie bei Tomoyasu Tanaka. In meiner Themaufstellung hatte ich theoretische Arbeiten an biologischen Systemen vorgeschlagen, aber da weder er noch ich irgendetwas von Biologie verstanden, führte dies zu nichts. Das Problem, dessen ich mich stattdessen annahm, war die Untersuchung ferroelektrischer Phasenübergänge in Kaliumdihydrogenphosphat. Dies war eine sehr schwierige Zeit für mich, weil ich kein Gefühl für das Problem hatte und ich mir nicht einmal über die grundlegenden Fragen im Klaren war. Es war das erste Mal in vielen Jahren, dass ich das Gefühl hatte, das falsche Gebiet gewählt zu haben. Zur gleichen Zeit fand ich die Biologie-Artikel im *Scientific American* ungemein faszinierend. Es schien, dass kaum ein Monat verging ohne einen großen Durchbruch in den Biowissenschaften, während sich grundlegende Fortschritte in der Physik eher zäh gestalteten. Ich fühlte, dass ich, wenn ich in der Physik bliebe, langweilige und mühsame Rechnungen machen würde, statt wirklich interessante Fortschritte zu machen. Das Resultat war, dass ich mich so frustriert fühlte, dass ich meine Doktorarbeit vernachlässigte und übermäßig viel Zeit mit anderen Aktivitäten verbrachte. Ich ging Wandern und sprang auf Güterzüge mit meinem guten Freund und Klassenkameraden Sudhir Kaicker, ließ mich von einem anderen Freund, Anthony Grimaldi, an die westliche klassische Musik heranzuführen, spielte im Schachteam, las Literatur und ging auf Konzerte. Kurz: Ich machte alles, nur keine Fortschritte bei meiner Arbeit. Tomoyasu war viel zu nett und geduldig, aber selbst er wurde alle paar Monate besorgt und fragte, wie ich vorankäme. Ich war zu beschämt, als dass ich ihm hätte sagen können, dass ich gar nicht weiterkam! Ich scherzte oft, dass ich Doktoranden wie mich feuern würde! Im Nachhinein glaube ich, dass es bei meiner Veranlagung ein Fehler war, ein theoretisches statt eines experimentellen Themas für meine Doktorarbeit zu wählen. Wahrscheinlich hätte ich es bei jemandem wie Ron Cappelletti (jetzt am NIST), der nicht nur ein guter Experimentator war, sondern auch ein strengerer Lehrer, der einen unverantwortlichen Studenten vermutlich nicht so leicht geduldet hätte, besser gemacht. Interessanterweise wurde ich mit Ron später gut befreundet.

Es war während dieser Zeit, als ich Vera Rosenberry kennenlernte, die Malerei studierte. Gemeinsame Freunde machten uns gegenseitig bekannt, weil wir beide – unge-



wöhnlich für die frühen 70er in Ohio – Vegetarier waren. Nach einer Zeit des Brautwerbens, die insgesamt nur 11 Monate dauerte, wurden wir 1975 verheiratet. Vera ist seither meine Lebensgefährtin, und sie hat nicht nur den größten Anteil zur Erziehung unserer Kinder beigetragen, sondern viele Male ihre Wurzeln aufgegeben, um mit mir durch die ganze USA und nach England umzuziehen. Die seelische Unterstützung und stabile häusliche Umgebung, die sie mir gegeben hat, waren unschätzbar wertvoll für mich und meine Arbeit. Zur Malerei kam später das Schreiben hinzu, und sie hat über 30 Kinderbücher geschrieben und illustriert.

Nach meiner Heirat im Alter von 23 war ich plötzlich nicht länger allein, sondern hatte eine Frau und eine fünfjährige Stieftochter, Tanya Kapka. Mit dieser neuen Verantwortung wurde mir mit einem Male klar, dass ich mit meiner Karriere vorankommen musste. Ich produzierte im nächsten Jahr eine passable Doktorarbeit und promovierte 1976 in Physik, gerade ein Monat bevor unser Sohn Raman geboren wurde. Zu der Zeit hatte ich bereits entschieden, dass ich in die Biologie wechseln würde.

### Wechsel in die Biologie

Da ich von Biologie kaum etwas wusste, brauchte ich eine formale Ausbildung in diesem Fach. Ich hätte nochmals ein Hauptstudium absolvieren können, mit der Option, einen zweiten Doktor zu machen. Ich hätte auch Medizin studieren können, was nicht ohne Ironie gewesen wäre, weil ich ja ebendiese Option in jüngeren Jahren ausgeschlagen hatte. Ich absolvierte die MCAT-Tests (eine landesweite Zulassungsprüfung für medizinische Hochschulen), aber obwohl ich in allen Fächern über der 99. Perzentile lag, bekam ich nur ein Vorstellungsgespräch (in Yale). Ich war kein US-Bürger und hatte zum damaligen Zeitpunkt noch nicht einmal einen dauerhaften Aufenthalt. Im Vorstellungsgespräch sagte ich, dass ich hauptsächlich an der Forschung interessiert sei und am Praktizieren keine Interesse hätte, weil ich der Meinung war, dass dem medizinischen System in den USA ein fundamentaler Interessenskonflikt zwischen Arzt und Patient innewohnt. Überflüssig zu sagen, dass ich nicht genommen wurde.

Daneben hatte ich mich bei einer Reihe von Promotionsstiftungen beworben. Viele sagten mir, sie nähmen niemanden auf, der bereits einen Dokortitel hatte. Der Leiter des Departments für Molekulare Biophysik und Biochemie (MB&B) in Yale, Franklin Hutchinson, schrieb mir, dass er mich zwar nicht aufnehmen könne, meinen Lebenslauf aber an Fakultätsmitglieder für ein mögliches Postdoktorat weiterleiten würde. Zwei von ihnen antworteten: Der eine war Don Engelman und der andere, kurioserweise, Tom Steitz, mit dem ich den Nobelpreis teile. Obwohl ich ihre Arbeit sehr interessant fand, war ich der Meinung, dass ich als Physiker auf einer zu schmalen Grundlage stand, um in der Biologie effektiv forschen zu können. So entschied ich mich von den drei Universitäten, die mich zum Biologiestudium zugelassen hatten, für die University of California in San Diego (UCSD), vor allem wegen ihrer großen und vielseitigen Fakultät und weil La Jolla ein guter Ort schien, um Kinder großzuziehen.

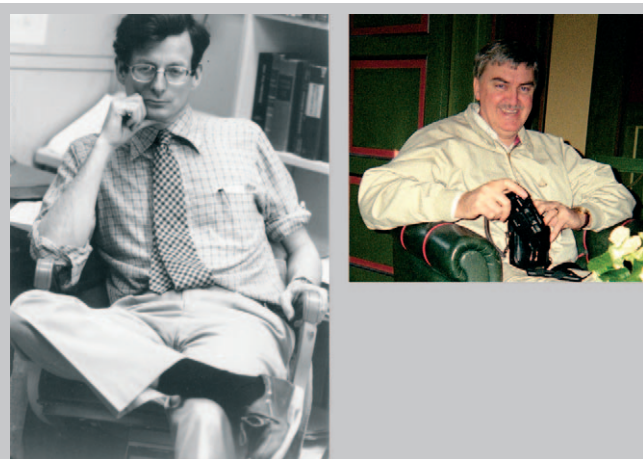
Im ersten Jahr belegte ich so viele Kurse und Praktika wie ich nur konnte, darunter den Genetik-Kurs von Dan Lindsley, einem berühmten Drosophila-Forscher, und den Biochemie-Kurs von Paul Price, der brillante Vorlesungen zu halten verstand. Bei einem Praktikum in Milton Sainers Arbeitsgruppe, wo Zuckertransporter in Bakterien untersucht wurden, sollte ich die Geschwindigkeit der Zuckeraufnahme in verschiedenen Mutanten untersuchen. Der Plan war, 20  $\mu\text{L}$  einer Stammlösung von  $^{14}\text{C}$ -Glucose in die Kulturlösung zu pipettieren und dann in regelmäßigen Abständen aliquote Proben zu entnehmen und die Menge an aufgenommenen Glucose durch Filterbindung zu messen. Ich fragte, wie man ein so kleines Volumen wie 20  $\mu\text{L}$  messen könne. Die Laborantin zeigte mir eine Mikropipette und wie man ihr Volumen einstellt und sie benutzt. Wir fingen an zu experimentieren, aber wie ich die Mikropipette in die radioaktive Glucoselösung tauchte, schrie sie mich an: „Was glaubst du, was du da tust? Du musst SPITZEN benutzen!“ Diese Episode hat mich immer sehr nachsichtig werden lassen, wenn meine Studenten etwas aus Unwissenheit taten, weil man es ihnen nicht richtig erklärt hatte.

Mein erstes Jahr an der UCSD war unglaublich aufregend. Zum ersten Mal in meinem Leben war ich an einer Universität, die an der Spitze der internationalen Forschung stand. Ich schloss auch wundervolle Freundschaften, so etwa mit Robert Anholt, der heute Professor in North Carolina ist und über Olfaktion forscht, und mit Mark Troll, einem brillanten Physikochemiker, der viele Jahre später meine Schwester heiratete.

In meinem zweiten Jahr wurde ich sesshafter und machte ein Praktikum im Arbeitskreis von Mauricio Montal. Mauricio hatte eine geniale Methode entwickelt, um leitfähige Kanäle in Lipiddoppelschichten einzubauen, die durch Zusammenführen zweier definierter Monoschichten erhalten wurden. Er betrieb damit Einzelmolekül-Biophysik zu einer Zeit, als es noch keiner so nannte. Ich las damals einen Artikel von Don Engelman und Peter Moore (Abbildung 2) im *Scientific American* über ihre Arbeiten am Ribosom und begann mich dafür zu interessieren. Mir war auch klar geworden, dass es keinen Grund mehr gab, einen zweiten Doktor zu machen, denn ich hatte nun alle Grundlagen erarbeitet, die ich brauchte. Ich schrieb also Don Engelman an, einen der beiden Professoren in Yale, bei denen ich mich zuvor schon beworben hatte. Don war an Membranproteinen interessiert, ein Thema, an dem ich bei Mauricio bereits arbeitete. Er schrieb zurück und sagte, dass er und Peter eine freie Stelle in ihrem Ribosomenprojekt hätten und ich dabei immer auch an membranbezogenen Projekten arbeiten könne. Peter arrangierte ein Treffen in San Diego Anfang 1978 und bot mir danach eine Postdoc-Stelle an. Damit begann mein lebenslanges Interesse am Ribosom.

### Postdoc bei Peter Moore in Yale

Peter Moore hatte eine kleine Gruppe mit normalerweise nicht mehr als vier oder fünf Mitarbeitern. Eine davon war Betty Rennie (heute Freeborn), die uns beibrachte, wie man Ribosomen reinigte, rekonstituierte und prüfte. Die speziali-



**Abbildung 2.** Peter Moore (links), der mich als Postdoc an das Gebiet der Ribosomen heranführte. Stephen White (rechts), der mich ermutigte, die Kristallographie ribosomaler Proteine zu verfolgen.

sierten Methoden, die ich dabei lernte, waren für meine späteren Forschungen zur Struktur der 30S-Untereinheit, die zum Nobelpreis führten, unschätzbar wertvoll. Peter war mir das ganze Leben ein Vorbild. Er ist brillant, streng, gerecht, geradeheraus und ehrlich mit seinen Meinungen. Das langjährige Projekt, an dem ich in seiner Arbeitsgruppe teilnahm, war die räumliche Kartierung der Proteine in der 30S-Untereinheit, wobei Ribosomen rekonstituiert wurden, in denen ein bestimmtes Paar von Proteinen durch ihre deuterierten Homologen ersetzt war. Die erhaltenen Proben wurden anschließend am Brookhaven National Laboratory durch Kleinwinkel-Neutronenstreuung vermessen, um den Abstand zwischen den Massezentren der beiden deuterierten Proteine zu ermitteln. Mir gelang es, während meines Aufenthalts bei Peter ungefähr ein Drittel der Proteine zu kartieren, und ich trug außerdem viel zur Implementierung der Bayesian-Verfahren zur Datenauswertung bei.

Als Postdoc und Familienvater war ich so ausgelastet, dass mir wenig Zeit blieb, mich mit anderen Studenten oder Postdocs anzufreunden. Dennoch ist mir diese Zeit als sehr glücklich in Erinnerung geblieben, weil ich große Fortschritte bei einem echten Forschungsprojekt machte und spürte, dass meine Karriere allmählich Formen annahm. Dieses Gefühl wurde jedoch rasch von der Realität eingeholt, als ich mich während meines letzten Jahres in Yale um eine große Zahl von Anstellungen bewarb und nicht ein einziges Vorstellungsgespräch bekam. Dies lag zum Teil an meinem ungewöhnlichen Werdegang und der Tatsache, dass die Universitäten, an denen ich meine Abschlüsse gemacht hatte, nicht zu den allerersten Einrichtungen zählten. Aber wichtiger war vielleicht noch, dass man offenbar nicht wusste, was man von einem Physiker halten sollte, der sich in einen Biologen verwandelt hatte und eine esoterische Technik wie die Neutronenstreuung benutzte. Ich begann mich sehr entmutigt zu fühlen, als sich schließlich zwei Angebote auftaten. Das eine war eine befristete Anstellung am National Bureau of Standards bei Alex Wlodawer. Das andere resultierte aus einem Telefonat von Don Engelman mit Wally Koehler vom Oak Ridge National Laboratory, der einen Biologen für die Be-

treuung der dortigen Kleinwinkel-Neutronenanlage suchte. Ich entschied mich für Oak Ridge, weil es eine Daueranstellung war und man mir außerdem erklärte, dass ich der Biology Division angegliedert sei und zusätzlich zur Betreuung der Neutronenstreuexperimente eigene Forschungen anstellen könne. Ich hätte mit meinem Umzug bis zum Ende des Semesters warten sollen, brach stattdessen aber schon im Februar auf, inmitten eines Schneesturms.

### *Intermezzo in Oak Ridge*

Schon bald nachdem ich in Oak Ridge angekommen war, stellte ich fest, dass die Voraussetzungen ganz anders waren, als ich dachte. Die Biology Division betrachtete mich als reinen Angestellten für die Betreuung der Neutronenbeugungseinrichtung und stellte mir außer einer Ecke in einem leeren Labor keinerlei Ressourcen zur Verfügung. Ich versuchte, positiv zu bleiben und sagte meinem Boss Wally Koehler, dass ich mich ja um NIH-Gelder bewerben könnte, um meine eigene Forschung zu finanzieren. Er meinte, dass es nicht gut aussehen würde, wenn ich externe Gelder bekäme, während seine Wissenschaftler schwer zu kämpfen hätten, und außerdem hätte er mich nicht als Biologen angestellt, sondern um Biologen die Anwendung von Neutronen schmackhaft zu machen. Ich empfand diese Haltung als ignorant, sowohl der biologischen Forschung gegenüber als auch was die Rolle von Neutronen zum Studium wichtiger biologischer Probleme betrifft. Infolgedessen begann ich schon einen Monat nach meiner Ankunft in Oak Ridge, mich nach Alternativen umzusehen, und das, obwohl wir törichterweise gerade ein Haus gekauft hatten.

Während ich nach einem neuen Job suchte, unterhielt ich mich mit verschiedenen Leuten aus der Biology Division und machte mehrere Projekte aus, wo Neutronenbeugungsexperimente hilfreich sein konnten. Ich teilte ein Büro mit Rose Feldman, einer langjährigen Laborantin, die für Salil Niyogi gearbeitet hatte. Rose war in vielen Dingen meine psychologische Stütze. Ich begann gemeinsame Projekte mit Mark Donnelly und Rick Wobbe, die beide, zusammen mit Marks Frau Veta Bonnewell, lebenslange Freunde der Familie wurden. Ich habe noch nie so dauerhafte Freundschaften in solch kurzer Zeit geschlossen. Eines der nützlichsten Gemeinschaftsprojekte war die Arbeit über das Nucleosom mit Gerry Bunick, Ed Uberbacher und Don und Ada Olins. Dies entzündete mein Interesse am Chromatin, das bis 1998, als ich mich dann ganz dem Ribosom widmete, anhielt.

### *Start einer unabhängigen Laufbahn in Brookhaven*

Die Neutronenbeugungsexperimente an Ribosomen in Yale hatten ihren direkten Vorläufer in Arbeiten von Benno Schoenborn, der am Brookhaven National Laboratory die Neutronenkristallographie an biologischen Proben etabliert hatte. Als Benno von meiner Situation in Oak Ridge erfuhr, riet er mir zu Geduld und sagte mir, dass in Brookhaven bald eine passende Stelle als wissenschaftlicher Mitarbeiter frei würde, die genügend Unterstützung und Freiraum für unab-

hängige Forschungen böte. Ich bin Benno für immer dankbar, dass er mich in Brookhaven eingestellt hat und mich damit vor der akademischen Vergessenheit bewahrte.

Privat fiel mir der Umzug nach Brookhaven nicht leicht. Vera und ich mochten Oak Ridge und die schöne Landschaft. In Long Island missfielen uns die vielen Autos und vor allem der Berufsverkehr. Aber der Job in Brookhaven war exzellent, und so zogen wir 1983 um. Wir verkauften unser Haus in Oak Ridge mit rund 25 % Verlust und kauften ein Haus in East Patchogue, außerhalb von Bellport am südlichen Strand von Long Island gelegen. Zum Labor waren es 12 Meilen, die ich morgens und abends pendeln musste. In East Patchogue schlossen wir Freundschaft mit Karen und Bruce Brunschwig. Bruce spielte später eine entscheidende Rolle bei unserer Ribosomenforschung, indem er ein Schlüsselerivat, das Osmiumhexamin, synthetisierte.

Anders, als ich es in Oak Ridge erlebt hatte, gab man mir in Brookhaven genau das, was man mir versprochen hatte. Benno sagte, es wäre nett, wenn ich einige Neutronenbeugungsexperimente machen würde, dass man aber großzügig sei und ich grundsätzlich tun könne, was ich wollte. Man gab mir den Rat, nicht einfach mit dem weiterzumachen, was ich als Postdoc in Peters Arbeitsgruppe getan hatte, sondern eine gewisse Unabhängigkeit an den Tag legen musste. Mein erstes Experiment machte ich dennoch mit Ribosomen, wobei ich versuchte, eine aufkommende Kontroverse zu lösen, nämlich ob Proteine und RNA in der 30S-Untereinheit asymmetrisch verteilt waren. Die Arbeiten führten zu meinem ersten unabhängigen Paper mit mir als alleinigem Autor in *Science*. Als das Manuskript angenommen war, schrieb ich meinem Vater einen Brief nach Indien und bekam ungefähr einen Monat später seine Antwort, dass er sich über meinen guten Start freue, und ich, wenn ich weiter so hart arbeiten würde, eines Tages sogar ein Paper in *Nature* haben würde!

Ich arbeitete auch weiter am Chromatin. Histon H1 bindet an Nucleosomen und unterstützt ihre Anordnung zu einer höher geordneten Struktur, dem 30-nm-Filament. Ich versuchte, die Lage von deuteriertem Histon H1 im Filament durch Neutronenstreuung zu bestimmen. Es war aber gänzlich unklar, wie man deuterierte Histone bekommen sollte, und ich mühte mich mindestens ein Jahr lang erfolglos mit der Züchtung von *Euglena gracilis* in deuterierten Medien ab, aus denen ich dann die Histone isolieren wollte.

Um etwa diese Zeit gab es zwei entscheidende Entwicklungen. Die erste war, dass Steve White (Abbildung 2) eine Stelle in Brookhaven antrat. Er kam vom Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin, wo er in Wittmanns Abteilung über die Kristallstrukturen mehrerer ribosomaler Proteine geforscht hatte. In Anbetracht unseres gemeinsamen Interesses an Ribosomen bot er mir freundlicherweise eine Zusammenarbeit an. Zu Anfang trug ich nicht viel zu dem Projekt bei, weil ich mich darauf konzentrierte, meine eigenen Projekte auf den Weg zu bringen und ich außerdem ein gemeinsames Projekt mit Wally Mangel über die Konformation von Plasminogen in Lösung hatte. Ich begann die Zusammenarbeit mit Steve, indem ich ihm half, große Mengen von Bakterien in einer Brutkammer in Yale zu züchten, aber als ich die niedrigen Ausbeuten sah, die beim Aufreinigen von Proteinen aus nativen Ribosomen von *Bacillus stearother-*

*mophilus* erhalten wurden, wurde mir klar, dass es einen besseren Weg geben musste. Den gab es tatsächlich, und ich hätte an keinem besseren Ort sein können, um ihn zu finden.

Die zweite Entwicklung war, dass ungefähr zu dieser Zeit meine Kollegen Bill Studier und John Dunn (Abbildung 3) das Genom des Bakteriophagen T7 sequenziert hatten und



**Abbildung 3.** Kollegen in Brookhaven. Oben: Bob Sweet, Bill Studier und John Dunn. Unten: Malcolm Capel und Bruce Brunschwig.

damit begannen, eine Reihe seiner Gene zu klonieren. Die RNA-Polymerase von T7 trug ihren eigenen Promoter, und Bill und John erkannten, dass man Zielgene in *E. coli* durch Verwendung des T7-Promoters und einer klonierten Kopie der T7-RNA-Polymerase kontrolliert überexprimieren konnte. Sie konnten auch die T7-RNA-Polymerase verwenden, um Ziel-RNAs zu transkribieren. Ihre Arbeiten haben die Biochemie revolutioniert, und es gibt heute kaum ein Labor auf der Welt, das nicht irgendwann einmal ihr System zur Herstellung von großen Proteinmengen in *E. coli* genutzt hat. John und Bill – zusammen mit ihrem Mitarbeiter Alan Rosenberg und den beiden Pflanzengenetikern Ben und Frances Burr – nahmen mich unter ihre Fittiche und brachten mir alles bei über das Klonieren, den Aufbau von Substanzbibliotheken, Southern-Blots und eine damals neue Technik namens Polymerasekettenreaktion (PCR). Dies führte dazu, dass ich einer der wenigen Strukturbiologen war, der damals mit diesen Werkzeugen vertraut war. Glücklicherweise hatte ich zwei wundervolle Laboranten, Sue Ellen Gerchman und Vito Graziano, die diese Techniken ebenfalls rasch lernten und für unsere Arbeit anwenden konnten. Später kam noch Helen Kycia hinzu. Mit diesen Techniken konnte ich nun darüber nachdenken, die Gene der verschiedenen ribosomalen Proteine, die man aus nativen Quellen kristallisiert hatte, ab initio zu klonieren. Tatsächlich funktionierte dies sehr gut



und führte dazu, dass das Material nicht länger der limitierende Faktor war. Darüber hinaus exprimierten wir Histon H1 in *E. coli* und nutzten dies als Methode zur Deuterierung.

Nachdem ich einige Jahre in Brookhaven gearbeitet hatte, fragte mich das Beurteilungsgremium des Instituts, was ich tun würde, wenn man mir eine dauerhafte Stelle gäbe. Ich sagte, ich würde wahrscheinlich mit den Neutronenbeugungsexperimenten aufhören und anderswo ein Sabbatical einlegen, um Kristallographie zu lernen, weil ich damit die wirklich wichtigen Fragen auf meinem Gebiet lösen konnte. Zu meiner Erleichterung waren sie ziemlich begeistert von der Idee und gaben mir eine Festanstellung. Mein Kollege und Freund John Dunn brachte mir einen langen, in Alufolie eingewickelten Stock nach Hause und überreichte mir den symbolischen Stab mit den Worten: „*Willkommen beim festen Personalstab.*“

Steve ermutigte mich, dass es jemandem mit meinen Kenntnissen in Physik und der Kleinwinkel-Röntgenbeugung keine Mühe bereiten würde, Kristallographie zu lernen. Er war es, der letztlich den Anstoß für meinen Einstieg in die Kristallographie gab, indem er in meinem Namen die ersten Testläufe zur Kristallisation der globulären Domäne des Histons GH5 ansetzte. Kurze Zeit später, im Herbst 1988, nahm ich am ersten Kurs in Kristallographie in Cold Spring Harbor teil, der in den folgenden Jahren von etlichen bekannten Wissenschaftlern besucht wurde, darunter Rod MacKinnon und Art Horwich. Während des darauffolgenden Jahres erhielten wir gut beugende Kristalle von GH5, außerdem war es uns gelungen, mehrere der ribosomalen Proteine, die wir überexprimiert hatten, zur Kristallisation zu bringen. Es gab also mehrere kristallographische Projekte, die ausgeführt werden mussten. Der beste Weg, um zu lernen, wie man diese Strukturen lösen konnte, war meiner Meinung nach ein Sabbatical, in dem ich mich auf nichts anderes konzentrieren konnte. Es gab nur einen Ort, wo ich hingehen wollte: das MRC Laboratory of Molecular Biology in Cambridge, England. Hierfür gab es mehrere Gründe: Es war der Geburtsort der Kristallographie, und viele technische Entwicklungen hatten dort stattgefunden; es hatte eine gewaltige Reputation in Molekularbiologie; der damalige Direktor, Aaron Klug, galt als Gigant auf dem Gebiet der Chromatinstruktur; und schließlich waren Vera und ich beide anglophil und mochten die Vorstellung, ein Jahr in England zu verbringen. Ich schrieb einen Brief an Aaron Klug, in dem ich darauf hinwies, dass ich GH5 kristallisiert hatte und für ein Jahr kommen wollte, um genug über Kristallographie zu lernen, um die Struktur von GH5 zu lösen. Er schrieb einen freundlichen Brief zurück und unterstützte meine Bewerbung um ein Guggenheim-Stipendium, das die Hälfte meines Einkommens deckte, während Brookhaven die andere Hälfte zahlte.

In Brookhaven brachte mir Bob Sweet (Abbildung 3) viel über Datensammlung und Kristallographie im Allgemeinen bei. Mit diesen Kenntnissen gelang es mir, von zwei Proben Daten zu sammeln, die ich mit nach Cambridge nahm. Zusammen mit Steve White erhielt ich unter Verwendung eines Gold-Derivats Daten des ribosomalen Proteins S5, und mit Vito Graziano sammelte ich MAD-Daten (MAD: anomale Multiwellenlängenstreuung) von Kristallen von Selenome-

thionyl-GH5. Ende August reiste ich mit Vera, unserem 15-jährigen Sohn Raman und unserer Tochter Tanya, die gerade ihren Abschluss am Oberlin College gemacht hatte und ein paar Wochen durch England touren wollte, nach Cambridge ab.

### Sabbatical in Cambridge

Meine Ankunft am MRC Laboratory of Molecular Biology (LMB) bot einige Überraschungen. Wir hatten am Flughafen ein großes Auto gemietet, um unser ganzes Gepäck und Fahrräder zu transportieren. Auf der linken Seite der Straße zu fahren, war nach dem langen Flug aus New York eine echte Herausforderung. Am Addenbrooke's Hospital hatte ich mich verfahren und fragte jemanden, wo das berühmte MRC Laboratory of Molecular Biology sei. Zu meiner großen Überraschung hatten die ersten paar Leute, die ich fragte, keinerlei Ahnung! Dies erinnerte mich an die Geschichte in Cricks Autobiographie (*What Mad Pursuit*), in der sein Taxifahrer keine Ahnung hat, wo das Cavendish-Laboratorium ist.

Ich wusste schon, dass das LMB sehr überfüllt war und z. B. Schüttler und Kühlschränke in den Fluren stehen mussten. Allerdings war unser Institut in Brookhaven früher auch nur eine Bowlingbahn in einer Kaserne gewesen, sodass mich die fehlende Eleganz des Gebäudes nicht weiter störte. Bei meiner Ankunft erklärte mir John Finch, ein Fellow der Royal Society of Chemistry und langjähriger Freund von Aaron, dass man unglücklicherweise noch keine Laborbank oder Schreibtisch für mich hätte. Naiverweise sagte ich ihm, dass ich nicht mehr bräuchte als eine kleine Ecke in seinem Labor. John lächelte darüber höflich, und am nächsten Tag fand ich heraus, dass er – ein weltberühmter Wissenschaftler – auch nur einen Tisch und ein kleines Stück einer Laborbank besaß! Dies war ein Ort, wo leitende Wissenschaftler Laborarbeit verrichteten und ihre Büros teilen mussten – sofern sie überhaupt eines hatten.

An meinem ersten vollen Arbeitstag kam ich so gegen 9 Uhr ins Institut. Etwa anderthalb Stunden später kam John vorbei und fragte, ob ich zu einem Kaffee in die Kantine mitkommen wolle. Ich dachte, dass ich bis jetzt kaum etwas getan hatte und schlug die Einladung aus, indem ich sagte, ich tränke keinen Kaffee. Wieder schenkte mir John sein geheimnisvolles Lächeln. Ein anderer Kollege, der die Begegnung beobachtet hatte, meinte nur: „*Er hat noch nicht verstanden, wie es hier läuft.*“ Im Laufe der nächsten Tage wurde mir bewusst, dass diese regelmäßigen Unterbrechungen von der Arbeit den Wissenschaftlern erlaubten, sich in der berühmten Kantine im Obergeschoss untereinander auszutauschen. Es ist auch wahr, dass der menschliche Geist sich nur für ein paar Stunden konzentrieren kann, und die Pausen gaben den Leuten Energie zurück. Für einen Gastwissenschaftler war die Kantine besonders wunderbar, denn ich lernte rasch eine Menge Wissenschaftler kennen. Zwei von ihnen, Daniela Rhodes und Kiyoshi Nagai, hatten ihre Labors direkt neben meinem und waren sehr einladend und freundlich. Beide wurden mit der Zeit zu lebenslangen Freunden und Kollegen.

Es gab zwei weitere wichtige Lehren, die ich am LMB lernte. Ich fand, dass fast niemand an Routineproblemen arbeitete, nur weil man so zu publizierbaren Ergebnissen kommen würde. Stattdessen versuchte man, die interessanteren Fragen auf dem Gebiet zu stellen und dann Lösungsansätze dafür zu entwickeln. Die andere Lehre war, dass selbst sehr berühmte Wissenschaftler in Seminaren Fragen stellten, die für Leute aus dem Gebiet oft trivial waren. Dies bestärkte mich in dem Gefühl, dass Unkenntnis nichts ist, dessen man sich schämen muss und dass keine Frage zu dumm ist, wenn man die Antwort wissen will.

Ich hatte meine MAD-Daten zum GH5 mitgebracht, aber Aaron hielt die Struktur des Proteins selbst für nicht interessant genug und schlug stattdessen vor, einen Komplex von GH5 mit DNA zu kristallisieren. Das Problem war, dass GH5 kein sequenzspezifisches Protein ist, und es war nicht einmal klar, ob ein DNA-Doppelstrang ein geeigneter Ligand war. Da ich aber große Ehrfurcht vor seiner Reputation hatte, begann ich, zusammen mit seinem brillanten Postdoc Wes Sundquist (Abbildung 4), mit der Arbeit an diesem Projekt.



**Abbildung 4.** Kollegen in Utah. Dana Carroll (mein Institutsdirektor), Wes Sundquist und Chris Hill.

Nach ungefähr einem Monat war mir klar geworden, dass diese Aufgabe in der Zeitdauer meines Sabbaticals nicht zu schaffen war, wenn überhaupt. Etwas bange erklärte ich Aaron, warum ich dies nicht für einen sinnvollen Ansatz hielt und dass ich mich den zwei Strukturen widmen wollte, deren Daten ich mitgebracht hatte. Zu meiner gelinden Überraschung gab er mir ohne weiteres recht, und ich denke, dass sein Respekt für mich stieg. Für den Rest des Sabbaticals machte ich keine experimentellen Arbeiten mehr. Mein letztes Gel blieb unberührt auf der Laborbank zurück, und Wes schaute in den nächsten Monaten genüsslich zu, wie es allmählich austrocknete.

Mit der Unterstützung vieler Leute, darunter Phil Evans, Andrew Leslie und insbesondere Paul McLaughlin, lernte ich das nötige Handwerkszeug für die Lösung von Proteinstrukturen. Ganz wichtig war der Besuch von Alwyn Jones aus Uppsala, der mir zeigte, wie man mithilfe seines Programms O mit dem Aufbau einer Struktur begann. Das Resultat war, dass ich am Ende meines Sabbaticals beide Strukturen gelöst hatte und die Ergebnisse schließlich in *Nature* veröffentlichte. Beim GH5 zeigte ich, dass man MAD-Daten als einen Spezialfall des isomorphen Ersatzes mit anomaler Beugung behandeln konnte. Dieser Befund folgte direkt einem Vorschlag von Eleanor Dodson, den sie mir über Phil Evans übermittelte. Das Verfahren funktionierte extrem gut und erleichterte in der Praxis die Lösung von MAD-Strukturen enorm.

Ich war besonders stolz, als mir wegen meiner Beiträge zur Methodik der Kristallographie eine eigene Vorlesung angeboten wurde, weil ich ja nur wenige Jahre vorher selbst meinen ersten Kristallographiekurs in Cold Spring Harbor absolviert hatte.

### Umzug nach Utah

Bei meiner Rückkehr nach Brookhaven schlossen wir unser letztes Neutronenbeugungsexperiment zur Lokalisierung von H1 im 30-nm-Filament des Chromatins ab und widmeten uns dann fast ausschließlich der Kristallographie ribosomaler Proteine und Faktoren. Allerdings ließen mich die Erfahrungen, die ich am LMB gemacht hatte, mit der Umgebung in Brookhaven unzufrieden werden. Obwohl ich exzellente Kollegen hatte, ging das Department of Energy, das das Institut betrieb, immer mehr zur Förderung von Großprojekten anstelle eigeninitiierten Forschungen über. Es wurde sehr schwierig, neues Wissenschaftspersonal zu rekrutieren, insbesondere für neue Gebiete der Biologie. Die Unterstützung reichte selbst für eine kleine Arbeitsgruppe kaum aus, und Fördermittel, z. B. der NIH, waren nicht leicht zu bekommen.

Ich schrieb Richard Henderson, dem Direktor der Structural Studies Division am LMB und fragte an, ob er irgendeine Stelle für mich frei hätte. Er schrieb einen freundlichen Brief zurück, in dem stand, dass während meines Sabbaticals alle mich mochten, er aber keine freie Stelle hatte und wir in Kontakt bleiben sollten. Ich kannte Richard nicht und fasste dies einfach als ein höfliches Nein auf. In der Zwischenzeit war Wes Sundquist, mit dem ich am LMB die Laborbank geteilt hatte, Assistant Professor in Utah geworden, und er lud mich ein, einen Seminarvortrag zu halten. Ein paar Monate später bot mir sein Institut einen Job an. Ich mochte die Fakultät in Utah und auch die spektakuläre Lage Salt Lake Citys, wie es in einem Tal inmitten schöner Berge liegt. Es gab dort eine Menge von Leuten, die sich für Ribosomen und RNA interessierten, darunter Ray Gesteland, John Atkins, Brenda Bass und Jim McCloskey. Vor allem mochte ich auch Wes und den charismatischen und ehrgeizigen Kristallographen Chris Hill. Auch staunte ich nicht schlecht über das angebotene Gehalt, das \$20000 (oder 30 %) mehr war als ich zu der Zeit verdiente. Ich hatte ein bisschen das Gefühl, dass man mehr von mir erwartete als ich vielleicht leisten konnte. Ich nahm den Job an, geriet aber eine Woche später in Panik bei dem Gedanken, dass ich gänzlich auf externe Fördermittel angewiesen wäre, sobald meine Startgelder aufgebraucht waren. Ich rief Dana Carroll an, den Institutsdirektor (Abbildung 4), und entschuldigte mich, dass ich nun doch nicht kommen könne. Verständlicherweise war man nicht besonders froh über meinen plötzlichen Sinneswandel, aber man bot mir an, die Stelle trotzdem vorerst offenzuhalten und mir etwas Zeit zum Nachdenken zu geben. Nach langem Ringen entschied ich dann, meine Furcht über Fördermittel beiseite zu legen und nach Utah zu gehen.

Das Biochemistry Department an der University of Utah war ein kleines, aber dynamisches Institut mit einer verhältnismäßig jungen und ehrgeizigen Fakultät, die an spannenden



Problemen arbeitete. Das Institut wurde all seinen Versprechungen gerecht, und innerhalb weniger Monate hatte ich mich eingelebt und mein Labor zum Laufen gebracht. Wes und Chris waren wunderbare Kollegen, die mich ein ums andere Mal therapierten, wenn mich Gedanken an ein mögliches Scheitern überkamen. Mein Institutsdirektor, Dana, wurde zu einem persönlichen Freund, weil wir im ungefähr gleichen Alter waren und gemeinsame Interessen wie Kammermusik und Radfahren hatten.

Bob Dutnall, der bei Daniela Rhodes am LMB promoviert hatte, kam als Postdoc in meine Gruppe, um an Chromatin-modifizierenden Enzymen zu arbeiten. In einem gemeinsamen Projekt mit Rolf Sternglanz aus Stony Brook und mit der Hilfe unseres Laboranten Adrian Hahn lösten wir außerdem die erste Struktur einer Histonacetyltransferase, Hat1. Mit Ausnahme von Bob und einem anderen Postdoc, Mabel Ng, widmete sich die ganze Gruppe nun der Strukturlösung ribosomaler Proteine. Bil Clemons kam zur Gruppe, um anfangs am ribosomalen Protein S15 zu arbeiten. Brian Wimberly hatte ein Job-Angebot abgelehnt, um ein zweites Postdoktorat bei mir zu machen. Er löste zuerst die Struktur eines ribosomalen Proteins und dann die Struktur des ersten Protein-RNA-Komplexes, des L11-Proteins, im Ribosom. Dieser Teil des Ribosoms ist auch das Angriffsziel von Antibiotika wie Thiostrepton. Bei den Mühen, die dieses Projekt erforderte, wurde mir klar, wie viel Arbeit es machen würde, all die binären Protein-RNA-Komplexe im Ribosom zu lösen und wie wenig wir dabei über die eigentliche Funktion des Ribosoms erfahren würden. Schon bevor ich nach Utah kam, schwebten mir Ideen über die Strukturlösung des Ribosoms vor, wobei ich mit der kleinen 30S-Untereinheit beginnen würde. Einzelheiten hierzu sind in meinem Nobelvortrag dargelegt und werden hier nicht näher besprochen. Vielleicht ist es aber interessant, welche menschlichen Hintergründe hierbei eine Rolle gespielt haben.

Meine erste Aufgabe war, jemanden aus meiner Gruppe davon zu überzeugen, dass dies ein lohnendes Projekt war. Brian war vorsichtig. Vielleicht wusste er zu viel um die Schwierigkeiten, und weil es sein zweites Postdoktorat war, schien ihm wohl das Risiko zu groß. Er entschied vielmehr, sich auf die Struktur des Komplexes aus dem S7-Protein mit RNA im Bindungszentrum zu konzentrieren. Ich schlug ihm die wilde Wette vor, dass wir die ganze 30S-Untereinheit (einschließlich S7) lösen würden, bevor er mit seinem Komplex fertig wäre. Ein anderer Postdoc, Matt Firpo, arbeitete ungefähr ein Jahr lang an dem Problem, musste dann aber gehen, weil seine Fördermittel ausliefen.

Richtig in Gang kam das Projekt mit meinen zwei Doktoranden Bil Clemons und John McCutcheon. Bil war ein kluger und ehrgeiziger Student, der glücklicherweise an einem Punkt angelangt war, an dem er sich an etwas wirklich Großem versuchen wollte. Seine Augen leuchteten auf bei meinem Vorschlag, und er sagte sofort, dass er das Projekt übernehmen wolle. Er übte zunächst an zwei kleinen Proteinen, um sich das kristallographische Rüstzeug anzueignen, bevor er seine volle Aufmerksamkeit der 30S-Untereinheit zuwandte. Mein zweiter Doktorand, John McCutcheon, war ebenfalls begeistert von der Sache. Ich wusste, dass ich Brian

Wimberly wegen seiner enzyklopädischen Kenntnisse der RNA-Struktur mit an Bord haben musste, und sobald wir einige handfeste Fortschritte gemacht hatten, schloss auch er sich dem Projekt an. Eine fähige Laborantin, Joanna May, war noch mit dabei, und dann ging es los.

Schon bald nach Beginn des Projekts kamen mir wieder Gedanken wegen der Fördermittel. Ich konnte mir nur zu gut vorstellen, was mit einem Antrag an die NIH passieren würde, in dem stand, dass wir keine guten Kristalle der 30S-Untereinheit hatten, aber einige Ideen, wie wir diese bekommen könnten, und wir außerdem auch Ideen über die 50S-Untereinheit hatten, obwohl eine andere Gruppe schon seit fast einem Jahrzehnt an guten Kristallen arbeitete. Da ich selbst schon als Gutachter tätig war, konnte ich mir ausmalen, wie man über meinem Antrag in Gelächter ausbrechen würde. Auf der anderen Seite wusste ich, dass das LMB, wo ich mein Sabbatical verbracht hatte, eine lange Tradition in der Förderung genau dieser Art schwieriger, aber fundamental wichtiger Projekte pflegte. Darüber hinaus könnte ich auf weltweit führende Expertise in kristallographischen Methoden zurückgreifen, falls es technische Probleme gäbe.

Also schrieb ich erneut Richard Henderson, der mittlerweile der Direktor des LMB war, und wir vereinbarten ein Treffen am Rande einer Ribosomen-Konferenz in Stockholm, zu der ich ohnehin unterwegs war. Nach meinem Vortrag, den ich über ribosomale Proteine hielt, unterhielt ich mich für ein paar Stunden mit Richard und Tony Crowther (der gemeinsam mit Richard die Abteilung leitete) über das „Ribosomen-Problem“. Sie waren an meinen Ideen interessiert, wollten wissen, wie es mit der Konkurrenzsituation auf dem Gebiet aussah, welche Ansätze fehlgeschlagen waren, welche Auflösung man erreichen musste, um einen merklichen Durchbruch zu erzielen, und wie lange es wohl dauern würde. Die Unterhaltung war ganz anders als jedes andere Vorstellungsgespräch. Es ging weder um Räumlichkeiten, Gehalt oder Ausrüstung, sondern nur um Wissenschaft und Ideen. Kristalle hatte ich zu der Zeit keine; trotzdem schrieb mir Richard kurz nach meinem Besuch, dass sie interessiert wären, mich zu unterstützen und mir Bescheid geben würden, sobald sie einen Platz für mich hätten. Aaron, Daniela und Kiyoshi unterstützten ebenfalls mein Vorhaben. Einige Monate später schrieb Richard erneut und sagte, dass nun alles vorbereitet war. Mit einem Male musste ich eine Entscheidung treffen, die eine der härtesten in meinem Leben war: entweder alles aufs Spiel setzen, ans LMB gehen und nur noch an diesem Projekt arbeiten (was bedeutete, große Einschnitte bei meinem Gehalt hinzunehmen und meine inzwischen erwachsenen Kinder in den USA zu verlassen) oder weiter in Utah bleiben, wo ich mich mit zusätzlichen, „sicheren“ Projekten absichern konnte. Am Ende entschied ich, dass die Struktur des Ribosoms das wichtigste Ziel auf meinem Gebiet war und es ein Fehler wäre, mich durch andere Projekte davon ablenken zu lassen, zumal abzusehen war, dass es nicht lange dauern würde, bis auch andere Gruppen auf dem Gebiet arbeiten würden, das bis dahin von nur einer Person, nämlich Ada Yonath, dominiert wurde.

Die meisten Leute hielten mich für wahnsinnig, nach England zu ziehen und alles auf dieses eine riskante Projekt zu setzen. Zwei Leute, die mich zum Gehen ermutigten,

waren Peter Moore und Steve Harrison. Beide kannten aus eigener Erfahrung das Gefühl, ein fundamentales Problem lösen zu wollen, ganz gleich wie groß die Herausforderungen waren. Auch in meiner Familie war man geteilter Meinung, Aufmunterung gab es aber von meiner Mutter. Vera und ich entschieden uns letztendlich, Utah, wo wir glücklich waren, zu verlassen, auf 40 % meines Gehalts zu verzichten und ans LMB zu gehen. Es war ein sehr schwieriger Moment für mich, als ich Dana, Wes und Chris meine Entscheidung mitteilen musste. Ich musste noch für ein Jahr in Utah bleiben und mich um die ganze Logistik des Umzugs kümmern. Während dieser Zeit wurde mir klar, wie wirklich wundervoll meine Kollegen in Utah waren. Sie überspielten jede Enttäuschung, zeigten Verständnis für meine Entscheidung und unterstützten mich das ganze Jahr über auf jede erdenkliche Weise. Beinahe hätte ich es mir noch anders überlegt, als ich erfuhr, dass ich John McCutcheon verlieren würde, der aus privaten Gründen nicht mitkommen konnte, und ich bei den Studententagen in Cambridge nicht fähig war, irgendjemanden für das Projekt zu begeistern. Glücklicherweise fanden sich dann noch Leute, die sich mutig meiner Gruppe am LMB anschlossen, ohne mich vorher je getroffen zu haben: Andrew Carter aus Oxford, der bei mir promovieren wollte, und Ditlev Brodersen, ein Postdoc, der mit besten Empfehlungen aus Århus in Dänemark kam, wo ich seinen Doktorvater, Morten Kjeldgaard, kannte. Die beiden waren ein Glücksfall, denn es bedeutete, dass ich ein brauchbares Team am LMB hatte.

Mit der Entscheidung für das LMB konzentrierte ich mich nun gänzlich auf die 30S-Untereinheit. Innerhalb weniger Monate hatten wir Kristalle, und ein paar Monate später hatten wir das Problem gelöst, wie man die Kristalle dazu brachte, gut zu beugen. Zu verdanken war dies der harten Arbeit von John und Bil und vor allem ihrer Bereitschaft, vollständig neue Ansätze zur Aufreinigung der 30S-Untereinheit auszuprobieren. Außerdem half uns Malcolm Capel, der uns große Mengen unserer ersten Kristalle an der National Synchrotron Light Source untersuchen ließ. Schon bald hatten wir am LMB Daten mehrerer Derivate in 5–6 Å Auflösung gesammelt.

#### **Forschungen am MRC Laboratory of Molecular Biology**

Ich zog im April 1999 nach Cambridge, während Brian, Bil und Joanna zurückblieben. So konnte ich die Rechnerressourcen am LMB benutzen, um mehrere Phasierungen parallel laufen zu lassen, und ich schickte die Elektronendichtekarten dann nach Utah, wo Brian und Bil sie in Augenschein nahmen. Wegen der 7 Stunden Zeitverschiebung waren wir wohl die einzige Forschungsgruppe, die ihre Arbeit infolge eines Umzugs beschleunigen konnte. Ich sagte Brian, der sich bis dahin ausschließlich auf die RNA-Komponente in den Elektronendichtekarten konzentriert hatte, dass einige der Röhren, die wir sahen,  $\alpha$ -Helices von Proteinen sein könnten. Noch am selben Tag meldete er mir, er habe in den Elektronendichtekarten ein Protein identifiziert, nämlich das S6-Protein. Als ich am nächsten Morgen ans LMB kam, staunte ich nicht schlecht, denn er hatte alle Proteine bekannter Struktur in den Elektronendichtekarten identifiziert!

Er meinte, es sei wie Kartoffelchips essen: Hatte er erst einmal eines identifiziert, konnte er nicht mehr aufhören. Mit diesen Daten der Protein-RNA-Wechselwirkung und seinem Gespür für RNA-Faltungen klärte er dann die ganze zentrale Domäne der 30S-Untereinheit auf und identifizierte außerdem ein Protein mit einer zuvor unbekannten Struktur, S20. So hatten wir nur wenige Monate nach meinem Umzug nach Cambridge, und obwohl der Rest meiner Gruppe noch in Utah war, einen wichtigen Durchbruch erzielt. Als wir unsere Befunde auf dem dreijährlichen Ribosomen-Meeting in Dänemark im Juni offenlegten, konnte ich den Schock des Auditoriums spüren, vor allem weil praktisch niemand wusste, dass wir an dem Problem arbeiteten. Bald danach, im August 1999, wurde unsere Arbeit mit großem Aufsehen in *Nature* publiziert.

Obwohl uns Tony, Kiyoshi und Daniela sehr freundlich aufnahmen, taten wir uns schwer, in Cambridge heimisch zu werden. Vera und ich waren geschockt von den rasch ansteigenden Immobilienpreisen, und für eine Weile waren wir am verzweifeln, ob wir jemals ein Haus kaufen konnten, denn wir wurden jedesmal überboten. Als ich einmal für Synchrotronmessungen in Brookhaven war, fand Vera ein Haus in Grantchester, einer historischen Ortschaft außerhalb von Cambridge, von dem aus man mit dem Fahrrad ins Stadtzentrum und ans LMB gelangen konnte, und tatsächlich machte sie ein Gebot, das dieses Mal angenommen wurde. So hatten wir endlich ein eigenes Haus in Cambridge. Um die gleiche Zeit etwa waren auch Brian und Bil aus Utah gekommen, und unsere einzige Aufgabe war nun, hohe Auflösungen zu erhalten.

#### **Strukturlösung der 30S-Untereinheit**

Um die hochaufgelöste Struktur der 30S-Untereinheit zu bekommen, mussten wir uns mit einigen Problemen herumschlagen, die im Nobelvortrag beschrieben sind. Für mich und meine Mitarbeiter (Abbildung 5) war dies eine besonders stressreiche Zeit. Die Gruppe in Yale um Tom Steitz und Peter Moore machte stetige Fortschritte mit ihrer Struktur der 50S-Untereinheit. Noch wichtiger für uns war, dass ich bald nachdem wir in Utah den Schwerpunkt auf die 30S-Untereinheit gelegt hatten, herausfand, dass Ada Yonath, die erstmals die 50S-Untereinheit kristallisiert und über ein Jahrzehnt an ihrer Strukturbestimmung gearbeitet hatte, nun im Wesentlichen zur Strukturbestimmung der 30S-Untereinheit übergegangen war. Anstatt also eine ruhige Nische zu haben, befanden wir uns in einem harten Wettlauf. Unsere Fortschritte wurden langsamer, weil die Kristalle nicht gut genug waren, um in Brookhaven hohe Auflösungen zu erhalten. Der einzige Hochintensitätsstrahlengang, wo wir Kristalle bezüglich einer Spiegelebene anordnen konnten, war der neue SBC-19ID-Strahlengang an der Advanced Photon Source (APS) in Argonne. Eine solche Anordnung schien uns notwendig, um die besten anomalen Signale unserer Kristalle zu verstärken. Allerdings wurde der Strahlengang erst in Betrieb genommen und war noch nicht für die Öffentlichkeit zugänglich. Unsere Konkurrenten hatten dort schon Daten gesammelt, aber es war nicht klar, ob wir



**Abbildung 5.** Mitglieder meiner Forschungsgruppe (1996–2009), die zu den Arbeiten an der Ribosomenstruktur beitrugen, in chronologischer Reihenfolge ihres Eintritts in die Gruppe. Reihe 1: Bil Clemons, John McCutcheon, Brian Wimberly, Joanna May, Andrew Carter, Ditlev Brodersen, Robert Morgan-Warren. Reihe 2: Mike Tarry, James Ogle, Frank Murphy, Reynald Gillet, Maria Selmer, Ann Kelley, Tina Daviter. Reihe 3: Sabine Petry, Albert Weixlbaumer, Christine Dunham, John Weir, Lori Passmore, Martin Schmeing, Caj Neubauer. Reihe 4: Rebecca Voorhees, Hong Jin, Leong Ng, Yong-Gui Gao, Kathrin Lang, Israel Sanchez

Strahlzeit bekommen würden. Wir baten Peter Moore, in unserem Namen eine Anfrage an Paul Sigler zu richten, der im Leitungsgremium des Strahlengangs saß, und glücklicherweise genehmigte man uns mit einer Wartezeit von 2 bis 3 Monaten Strahlzeit, sodass wir im Februar an die Arbeit gehen konnten. Es war tragisch, dass Paul nur wenige Tage, nachdem er für uns vermittelt hatte, an einem Herzanfall starb.

In Anbetracht der Konkurrenzsituation wollten wir sichergehen, dass unsere Datensammlung in Argonne ein Erfolg wurde. Sollte die Messung schiefgehen, war nicht auszuschließen, dass uns andere zuvorkommen würden. Bil Clemons und Rob Morgan-Warren, ein Laborant, der am LMB zu uns gestoßen war, froren mehr als tausend Kristalle im Kälteraum ein, während sie Jonny Cash auf einer Ministereoanlage hörten. Wir brachten die Kristalle dann nach Daresbury, um sie nach ihren Zellabmessungen zu gruppieren und gut beugende Exemplare zu selektieren. Ich war unzufrieden mit dem Ergebnis und schickte Bil allein nach Brookhaven, wo er niedrig aufgelöste Daten jedes Derivats sammelte, um sicherzustellen, dass sie komplexiert waren. Nach 48 Stunden ohne Schlaf war er völlig erschöpft.

Bei unserem alles entscheidenden Ausflug nach Argonne Ende Februar 2000 arbeiteten wir zu viert in 12-Stunden-Schichten. Wir benutzten eine große Tabelle, aus der wir ablesen konnten, welche Kristalle wir als nächstes zu vermessen hatten. Ditlev nutzte seine Computerkenntnisse, um unsere Datensammlung und -analyse zu vereinfachen. Noch am Strahlengang berechneten wir die anomale Differenz-Fourier-Karte, und als wir die große Zahl starker Signale sahen, tanzte ich zu Robs großer Belustigung durch das Büro und sang dabei: „Wir werden berühmt sein!“

Die Elektronendichtekarten, die wir aus den verbesserten Daten erhielten, waren überwältigend, und wir waren in der Lage, innerhalb von nur wenigen Wochen ein vollständiges atomares Modell der Untereinheit zu bauen. Noch bevor wir fertig waren, hatte Andrew Carter die Untereinheit mit drei verschiedenen Antibiotika kristallisiert, und es war ein weiterer Höhepunkt, diese Strukturen direkt in den Differenz-Fourier-Karten sehen zu können.

Die Struktur der 30S-Untereinheit führte zu einer Reihe von Folgestudien zur Bindung von Antibiotika und Liganden. Die wichtigste dieser Arbeiten, die hauptsächlich von James Ogle ausgeführt wurde, gab Aufschluss darüber, wie das



Ribosom die genaue Translation beim Entschlüsseln der genetischen Botschaft sicherstellt. Unsere Studien zur Entschlüsselung setzen sich im Kontext des ganzen Ribosoms bis heute fort.

### **Das gesamte Ribosom und seine Zustände**

Mir war von Anfang an klar, dass wir hochaufgelöste Strukturen des gesamten Ribosoms in vielen Funktionszuständen brauchten, um die zugrundeliegenden Translationsmechanismen zu verstehen. Das Problem erwies sich als weitaus härter als erwartet, wo wir doch so schnell mit unserer Arbeit an der 30S-Untereinheit Fortschritte gemacht hatten. Unzählige Postdocs und Studenten rangen viele Jahre mit dem Problem. Mit Unterstützung von Mike Tarry erarbeitete Frank Murphy Prozeduren zur Erzeugung von Ribosomen, die rein genug für die Kristallisation waren. Tina Daviter und Ann Kelley führten Methoden zur Aufreinigung großer Mengen von Ribosomen ein. Maria Selmer und Christine Dunham arbeiteten gemeinsam an einem Projekt, das zu hochaufgelösten Kristallen des gesamten Ribosoms mit gebundener mRNA und tRNA führte, und Frank, Sabine Petry und Albert Weixlbaumer schlossen sich den beiden an, um die Struktur zu konstruieren. Dies war eine weitere hektische Anstrengung, die wir im Wettlauf um die 30S-Struktur unternahmen, denn wir hatten plötzlich gehört, dass Harry Noller, dessen Gruppe die Struktur des ganzen Ribosoms in niedriger Auflösung erhalten hatte, nun verbesserte Kristalle eines Ribosomenkomplexes besaß, und wir wollten nach so vielen Jahren der Arbeit nicht geschlagen werden.

Von den derzeitigen Mitgliedern der Arbeitsgruppe arbeiten Martin Schmeing, Caj Neubauer, Rebecca Voorhees, Hong Jin und Yong-Gui Gao an vielen verschiedenen Aspekten des Translationsmechanismus, einschließlich der Peptidverlängerung, der Termination und der Qualitätskontrolle. Zwei Postdocs, Leong Ng und Israel Sanchez, haben sich mutig des eukaryotischen Ribosoms angenommen, und Alexey Amunts forscht im Rahmen eines gemeinsamen Projekts mit John Walker am mitochondrialen Ribosom. Unterdessen ist Ann Kelley zur führenden Figur der Arbeitsgruppe geworden. Als langjährige Mitarbeiterin ist sie diejenige Person, die die Gruppe zusammenhält, neue Leute anlernt, unentbehrliche Reagentien präpariert und alles behält, was in der Gruppe je an Wissen zusammengetragen wurde. Sie tut dies alles in der ihr eigenen nüchternen Weise, ohne sich je zu beschweren, und in Anbetracht meiner anderen Verpflichtungen in den letzten Jahren würden wir ohne sie in große Schwierigkeiten kommen.

### **Das Leben in Cambridge**

Während meines Sabbaticals hatte es Vera und mir in Cambridge gut gefallen, und deshalb waren wir etwas überrascht, dass uns unser Umzug 1999 doch so schwer fiel. Das geringere Einkommen und die gestiegenen Lebenshaltungskosten waren weniger ein Problem, weil wir einfach lebten und eigentlich keinen Unterschied in unserem Lebensstan-

dard bemerkten. Aber wir hatten unsere Familien zurückgelassen, vor allem natürlich die Kinder, und es gab nur uns beide in England.

Zum Ausgleich hatten wir das Leben in Cambridge. Unser einfacher autofreier Lebensstil, verbunden mit dem reichen kulturellen Leben in Cambridge und der Nähe zu London machten unseren Alltag zum Vergnügen. Wir hatten viele gute Freunde, die unser Leben bereicherten. Am Institut gehörten Kiyoshi Nagai, Daniela Rhodes, Phil Evans und Andrew Leslie zu den vielen Leuten, mit denen ich über die Jahre Freundschaft schloss. Jedes Ostern gingen wir mit Phil und seiner Frau Carol, Guy und Eleanor Dodson und Peter und Judith Murray-Rust in England wandern. Wir unternahmen Radtouren und Wanderungen mit Alan Coulson (der Fred Sangers langjähriger Mitarbeiter und Coautor des Papers zur Didesoxy-Sequenzierung war) und seiner Frau Sue, und auch mit Ray und Judy Steward. So kam es mit den Jahren, dass England zu unserer Heimat wurde.

Glücklicherweise hat auch unsere Familie die transatlantische Trennung überstanden. Tanya arbeitet in Portland, Oregon, als Ärztin für die Gesundheitsbehörde und kümmert sich vor allem um arme Einwanderer. Raman machte nach dem Physikstudium seinen Master in Musik an der Juilliard School und spielt Cello im Daedalus-Quartett. Meine Schwester Lalita arbeitet in der Tuberkuloseforschung an der University of Washington in Seattle, wo sie mithilfe neuartiger Modellorganismen sowohl des Bakteriums als auch der Wirte wichtige Entdeckungen macht. Meine Eltern wohnten ganz in der Nähe in Seattle, aber traurigerweise starb meine Mutter, die mich damals zuallererst ermutigt hatte, in die Grundlagenforschung zu gehen und später nach Cambridge zu wechseln, zwei Jahre bevor der Nobelpreis für das Ribosom vergeben wurde. Mein Vater, der jetzt 84 ist, half meiner Schwester bei der Erziehung der Kinder und ist noch immer körperlich aktiv und geistig rege. Moderne Kommunikationsmittel, etwa mit Programmen wie Skype, helfen viel, die geographische Trennung zu verschmerzen.

### **Wieder zurück in Indien**

Seit ich Indien im Alter von 19 Jahren verlassen hatte, war ich in 28 Jahren nur dreimal dorthin zurückgekehrt. Anfang 2002 wurde ich eingeladen, die erste G. N. Ramachandran Memorial Lecture in Chennai zu halten und stattete auf dieser Reise auch dem Indian Institute of Science in Bangalore einen Besuch ab. Es war mein erster Besuch in Indien nach 13 Jahren und mein erster Kontakt mit der Wissenschaft in Indien. Dies löste einen Prozess aus, durch den ich nicht nur mit der wissenschaftlichen Forschung an einigen Instituten in Indien vertraut wurde, sondern auch einige Wissenschaftler persönlich gut kennenlernte. In den letzten paar Jahren hatte ich die G.N. Ramachandran-Gastprofessur am Indian Institute of Science in Bangalore inne, und ich nutze diese Gelegenheit regelmäßig, um den dunklen und trostlosen Tagen in Cambridge zwischen Ende Dezember und Anfang Januar zu entfliehen, um in Bangalore an Manuskripten zu arbeiten, Vorträge zu halten und mit Kollegen und vor allem jungen Wissenschaftlern zu sprechen. Diese Verbindung zu

meinen indischen Wurzeln gibt mir eine große Befriedigung, und ich war sehr berührt, als mich die Indian National Science Academy 2008 als Mitglied aufnahm.

## Die Politik der wissenschaftlichen Anerkennung

Menschen gehen aus Neugier in die Wissenschaften, nicht um Preise zu gewinnen. Aber Wissenschaftler sind menschlich und haben Ehrgeiz. Selbst die besten Wissenschaftler sind oft unsicher und brauchen das Gefühl der Anerkennung. Unsere Ribosomenforschung zog viele Einladungen zu Seminar- und Konferenzvorträgen nach sich. Sie führte dazu, dass ich in die Royal Society und die U.S. National Academy of Sciences gewählt wurde, und sie brachte mir 2007 mit dem Louis-Jeantet-Preis in Medizin eine prestigeträchtige europäische Auszeichnung ein. Ich hatte also sowohl in meiner Forschung als auch was die Anerkennung derselben betrifft mehr Erfolg als ich mir je erträumte.

Nur wenige Wissenschaftler sind so töricht, ein Gebiet mit dem Vorhaben zu betreten, den Nobelpreis zu gewinnen. Dennoch kam nach der Strukturaufklärung der 30S-Untereinheit immer wieder die Rede auf „den Preis“, wenn ich auf Konferenzen ging oder Seminare hielt. Es war mir klar, dass das Ribosom mindestens so wichtig wie andere Strukturen war, für die der Nobelpreis vergeben wurde. Aber es gab viel mehr als drei Leute, die zur Erforschung des Ribosoms beigetragen hatten, selbst wenn man nur die Forschungsleiter zählt, was schon für sich eine fiktive Sichtweise des modernen Wissenschaftsbetriebs darstellt.

In der Zeit, als wir die Struktur der 30S-Untereinheit lösten, wollte ich mich nicht ablenken lassen und schlug Einladungen zu Vorträgen meist aus. So war es ein kleiner Schock, als nur ein paar Monate, nachdem die atomaren Strukturen der Untereinheiten publiziert waren, in den USA eine Auszeichnung für nur einen bestimmten Aspekt des Ribosoms, die Peptidyltransferase, verliehen wurde. Mir schien es, dass das Komitee, anstatt zu warten, welche Auswirkungen die Arbeiten am Ribosomen hatten und dann genau zu überlegen, was wirklich den Unterschied auf dem Gebiet ausmachte, eilig entschied, welche drei Leute es auszeichnen wollte und dann eine Begründung schrieb, die alle übrigen außen vor lassen musste. Richard Henderson empfahl mir, mehr Einladungen zu Vorträgen anzunehmen, um unsere Geschichte bekannt zu machen, und wenn es auch bloß einer angemessenen Anerkennung unserer Arbeit wegen wäre.

Tief im Innern fühlte ich, dass dasjenige wissenschaftliche Ereignis, das das Gebiet mehr als alles andere umgewälzt hatte, die Bestimmung der atomaren Strukturen der ribosomalen Untereinheiten war, zu der wir einen großen Beitrag geleistet hatten. Jedoch schien es, dass internationale Preise für Arbeiten über das Ribosom immer an andere gingen. So nahm ich über die Jahre allmählich hin, dass ich wahrscheinlich nie einen großen internationalen Preis dafür bekommen würde, am allerwenigsten den Nobelpreis. Nachdem ich dies erst einmal akzeptiert hatte, fühlte ich mich befreit und glücklicher, aber ich muss gestehen, dass mich immer im Oktober eine gewisse Beklommenheit überkam. Jedesmal

wenn ich erfuhr, dass der Nobelpreis für etwas anderes als das Ribosom verliehen wurde, war ich erleichtert, weil es etwas hinauszögerte, was meinem Gefühl nach eine unvermeidliche Enttäuschung gewesen wäre. Mit der Zeit schien es mir und vielen anderen Wissenschaftlern, dass es nie einen Nobelpreis für das Ribosom geben würde, weil das Problem, drei Menschen unter all den vielen Forschern auf dem Gebiet auszuwählen, unüberwindlich war.

## Der Nobelpreis und seine unmittelbaren Nachwirkungen

Am 5. Oktober 2009 ging der Nobelpreis für Physiologie und Medizin an Arbeiten über Telomerasen. Weil der Nobelpreis für Chemie auch im vorherigen Jahr für biologische Arbeiten vergeben wurde, war ich zuversichtlich, dass das Ribosom in diesem Jahr leer ausgehen würde. Am Morgen des 7. Oktober war ich auf halbem Weg ins Institut, als mein Fahrrad einen Platten bekam. Ich kam deshalb ziemlich spät und auch leicht gereizt ins Institut und hatte völlig vergessen, dass dies der Tag war, an dem der Chemiepreis verkündet wurde. Als dann kurze Zeit später das Telefon läutete und eine Stimme sagte, es sei ein wichtiger Anruf der Royal Swedish Academy of Sciences, vermutete ich sogleich einen Streich von einem meiner Freunde wie Rick Wobbe oder Chris Hill, die derlei Scherze liebten. Als Gunnar Öquist in der Leitung war und mit mir zu reden anfang, weigerte ich mich zuerst einfach, ihm zu glauben, und ich beglückwünschte ihn sogar zu seinem schwedischen Akzent. Als er schließlich fertig war, bat ich, mit einem der Komitee-Mitglieder sprechen zu dürfen, und zwar mit Måns Ehrenberg, den ich persönlich kannte. Als ich seine Stimme hörte, begriff ich wie unter Schock, dass es die Wahrheit war, und das Gefühl verstärkte sich noch, als Anders Liljas und Gunnar von Heijne ebenfalls in die Leitung kamen, um mir zu gratulieren. Zwei Leute aus meiner Gruppe, Martin Schmeing und Rebecca Voorhees, hatten ihre Schreibtische nicht weit von meinem Büro entfernt und hörten durch die offene Tür das Ende meines Telefonats mit. Sie teilten meine Skepsis nicht und konnten sich kaum im Zaum halten. Als ich auflegte sprangen sie auf und ab, und Martin öffnete eine Flasche Champagner, die er aufgespart hatte, um die Veröffentlichung eines Papers in *Science* zu feiern, das gerade angenommen worden war (Abbildung 6). In den Minuten zwischen dem Telefonat und der öffentlichen Ankündigung konnte ich Vera nicht erreichen, weil sie mit Tanya unterwegs war und kein Handy benutzt. Es war 2 Uhr morgens in Seattle und 5 Uhr morgens in New York, und so wollte ich meinen Vater, meine Schwester und Raman nicht wecken. Leider war die Presse nicht so geduldig.

Wirklich bewusst, was geschehen war, wurde mir erst, als ich die öffentliche Ankündigung auf der Webseite der Nobelfoundation sah. Binnen weniger Minuten läutete das Telefon, und es hörte zwei Tage lang nicht auf zu läuten. Meine Kollegen am LMB, von denen mich viele unterstützt hatten, als ich nicht mehr als eine Idee besaß, waren überglücklich. Sie organisierten eine spontane Feier ganz nach Landessitte mit ein paar Drinks in der Kantine. Mike Fuller besorgte den Champagner, wie er es für all die früheren Nobelpreisträger



**Abbildung 6.** Kollegen am LMB bei der spontanen Feier am 7. Oktober 2009. Oben: Aaron Klug, Richard Henderson, Tony Crowther (neben mir), Kiyoshi Nagai, Daniela Rhodes. Unten: Phil Evans, Andrew Leslie, Alan Coulson, Vera und ich.

am Institut getan hatte. Nach der Feier schoben Vera und ich mein Rad im Regen nach Hause.

Es war bewegend, all die Glückwünsche von alten Freunden und Kollegen aus aller Welt entgegenzunehmen – besonders von Weggefährten aus der Ribosomenforschung, einschließlich meinem Mentor Peter Moore und Joachim Frank, beides große Wissenschaftler, die wichtige Beiträge auf dem Gebiet geleistet haben und zu Recht selbst Mitbewerber um den Preis waren. Peter war in seiner typischen Art besonders liebenswürdig und schien stolz, dass sein Schützling es so weit gebracht hatte. Indien machte eine große Sache aus dem Preis, und ich fand mich plötzlich als ein Objekt landesweiter Feierlichkeiten wieder. Ich war sprachlos über die Flut von E-Mails von völlig Fremden in Indien, und als es nach Tagen unvermindert weiterging, begann ich überzureagieren, weil ich das Gefühl hatte, dass mich dies alles von meiner Arbeit abhielt. Dies verärgerte viele Menschen, und eine Erklärung, die ich dazu abgab, konnte sie nur zum Teil besänftigen.

Die Woche in Stockholm im Dezember war unwirklich und unvergesslich. Nach Schweden reiste ich zu meinem alljährlichen Besuch nach Indien, wobei mir dieses Mal ein wenig Bange war, denn ich wusste nicht, wie die Reaktion auf den E-Mail-Streit sein würde. Meine Sorgen waren unbegründet, und die Anteilnahme der Menschen war überwältigend. Ich war geehrt, dass die indische Regierung den Beschluss fasste, mir den zweithöchsten Zivilorden, den Padma Vibhushan, zu überreichen. Ob ich es nun wollte oder nicht, bin ich zu einer Quelle der Inspiration und der Hoffnung für die Menschen in Indien geworden – einfach durch den Umstand, dass ich dort aufwuchs und die örtliche Universität besuchte, es aber trotzdem geschafft habe, mich auch auf internationaler Bühne wacker zu schlagen.

Nach meiner Rückkehr nach Cambridge Anfang Januar normalisierten sich die Dinge nach der Euphorie des Herbs-

tes langsam wieder. Ich begann zu realisieren, dass der Nobelpreis nicht nur eine Bestätigung meiner Arbeit in der Vergangenheit war, sondern auch eine Ermutigung, weiter an interessanten Problemen zu arbeiten. Gewiss hat es den Anschein, dass er Mitarbeiter meiner Arbeitsgruppe befeuert hat, und ich freue mich auf die anstehenden Kämpfe, wenn wir versuchen, einige der harten Fragen in unserem Gebiet zu beantworten. Wenn ich auf mein Leben bislang zurückblicke, empfinde ich ein tiefes Gefühl der Dankbarkeit, dass ich ein so reiches Leben in der Wissenschaft und im Privaten führen durfte.

## Nobel-Vortrag

### Einleitung

Im Jahrzehnt nach der Entdeckung der DNA-Doppelhelix war die Gentranslation, also die Übersetzung genetischer Information in eine Aminosäuresequenz, ein zentraler Forschungsgegenstand der Molekularbiologie. Crick<sup>[1]</sup> formulierte die entscheidende Idee, dass ein kleines Adaptermolekül mit einem Trinucleotid, das mit der genetischen Matrize eine Basenpaarung eingehen kann, eine kovalent gebundene Aminosäure zur Verknüpfung mit der Polypeptidkette mitbringen würde. Diese Idee, die „Adapterhypothese“, wurde bald bestätigt, als eine „lösliche“ (soluble) RNA (sRNA) entdeckt wurde, die kovalent mit Aminosäuren verknüpft war.<sup>[2,3]</sup> Es ist sehr traurig, dass zwei der an der Entdeckung entscheidend beteiligten Wissenschaftler, Hoagland und Zamecnik, beide im Herbst 2009 etwa zur Zeit der Nobelpreisvergabe verstarben. Die sRNA, die danach in tRNA umbenannt wurde, ist eine zentrale Komponente der Translation. Statt der ursprünglich erwarteten drei Nucleotide besteht sie aus etwa 76 Basen,<sup>[4]</sup> wobei das Anticodon-Ende,



das das Codon-Triplett auf der mRNA erkennt, etwa 75 Å vom 3'-Ende entfernt ist, das die kovalent gebundene Aminosäure trägt.<sup>[5,6]</sup>

Zur selben Zeit bemerkten Wissenschaftler, die die Ultrastruktur der Zelle untersuchten, dass neu synthetisierte Proteine in Partikeln am endoplasmatischen Retikulum lokalisiert sind.<sup>[7]</sup> Man vermutete daher, dass eine große komplexe Struktur an der Translation beteiligt ist. Die Partikel konnten isoliert werden und wurden zunächst als „Ribonucleoproteinpartikel der mikrosomalen Fraktion“ bezeichnet. Glücklicherweise schlug Howard Dintzis bei einer baldigen Konferenz den Namen „Ribosomen“ vor, der seither gebräuchlich ist.<sup>[8]</sup>

In den folgenden Jahrzehnten wurde eine Reihe zentraler Fragen geklärt, etwa zur äußeren Gestalt der Ribosomen, ihrer Zusammensetzung, der Zahl der tRNA-Bindestellen, der Funktion der beiden Untereinheiten und der Beteiligung von Proteinfaktoren (hauptsächlich GTPasen) in spezifischen Stadien der Translation.<sup>[9]</sup> Ribosomen aller Organismenarten bestehen aus zwei Untereinheiten, die reversibel dissoziieren.<sup>[10,11]</sup> Die Untereinheiten des bakteriellen 70S-Ribosoms werden mit 30S und 50S bezeichnet, während die eukaryotischen 80S-Ribosomen aus einer 40S- und einer 60S-Untereinheit bestehen; die Zahlen geben die jeweiligen Sedimentationskoeffizienten an. Die kleine Untereinheit bindet die mRNA sowie den Stamm und die Schleife der tRNA, die das Anticodon tragen. Die große Untereinheit enthält das Peptidyltransferasezentrum, in dem die katalytische Knüpfung der Peptidbindung erfolgt. In Bakterien und Eukaryoten bestehen Ribosomen zu zwei Dritteln ihrer Masse aus RNA und zu einem Drittel aus Proteinen; lediglich bei Säugermitochondrien ist das Verhältnis umgekehrt.<sup>[12]</sup>

Ich begann mit der Untersuchung der Ribosomen als Postdoc in der Arbeitsgruppe von Peter Moore im Jahr 1978. Ich war an einem Projekt beteiligt, in dem die räumliche Anordnung der 30S-Proteine durch Neutronenstreuung bestimmt werden sollte und das in der so genannten „Neutronenkarte“ gipfelte.<sup>[13]</sup> 1983 wechselte ich zum Biology Department am Brookhaven National Laboratory, wo zwei Jahre darauf Stephen White von der Wittmann-Gruppe am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin zu uns stieß, der verschiedene Kristallisationsprojekte ribosomaler Proteine mitbrachte. Ich entschloss mich, die damals neue, noch stärker hochregulierte Version des T7-Expressionssystems<sup>[14]</sup> zu benutzen, um die Gene für viele dieser Proteine zu klonieren und zu überexprimieren.<sup>[15]</sup> Auf diese Weise stellten wir große Mengen fast aller gewünschten ribosomalen Proteine her und konnten sie auch mit Cysteinen (zur Herstellung von Quecksilberderivaten) oder mit Selenomethioninen markieren. Dies hatte zur Folge, dass nach einer langen Zeit des Stillstands die Strukturbestimmung der ribosomalen Proteine nun wieder schneller voranging.<sup>[16]</sup> Allmählich wurde aber auch klar, dass diese Strukturen alleine letztlich nicht ausreichen würden, um die Funktion des Ribosoms zu verstehen, ob man sie nun als Marker für Profilstudien verwendete oder in die elektronenmikroskopischen Elektronendichtekarten des Ribosoms hineinmodellerte. Nur die hochaufgelösten Strukturen der vollständigen ribosomalen Untereinheiten oder des gesamten Ribosoms würden hier weiterhelfen.

Der erste Hinweis, dass Ribosomen einheitliche, identische Moleküle sind, die zu einem Kristallgitter packen können, kam aus der Beobachtung natürlich vorkommender zweidimensionaler kristalliner Anordnungen.<sup>[17]</sup> Ein bedeutender Durchbruch wurde dann erzielt, als Yonath, Wittmann und Mitarbeiter die ersten dreidimensionalen Kristalle der 50S-Untereinheit aus *Bacillus stearothermophilus* herstellten.<sup>[18]</sup> Nach fast zehn Jahren Arbeit und der Untersuchung weiterer Arten erhielten Yonath et al. dann Kristalle der 50S-Untereinheit von *Haloarcula marismortui*, die mit einer Auflösung von 3 Å beugten.<sup>[19]</sup> Die kristallographischen Probleme waren also prinzipiell zu lösen, was hoffen ließ, dass man die atomare Struktur der Untereinheit bestimmen konnte. Ein anderer wichtiger Beitrag stammte von Marina Garber und Mitarbeiter am Institute for Protein Research in Puschino, Russland, die die ersten Einkristalle der 30S-Untereinheit und des gesamten 70S-Ribosoms von *Thermus thermophilus* veröffentlichten.<sup>[20,21]</sup> Ähnliche Kristalle der 30S-Untereinheit der gleichen Art wurden wenig später von Yonath et al. hergestellt.<sup>[22]</sup> Einen entscheidenden technischen Fortschritt erzielte dann Hope, der zeigen konnte, dass eine Datensammlung bei 100 K die Strahlenschäden minimierte<sup>[23]</sup> und die Technik zur Vermessung von Kristallen ribosomaler Untereinheiten geeignet war.<sup>[24]</sup>

### Die Strukturbestimmung der 30S-Untereinheit

Als ich 1995 zur University of Utah wechselte, hatte es schon einige Zeit gut beugende Kristalle der 50S-Untereinheit gegeben, doch die Strukturaufklärung kam nur langsam voran. Von der 30S-Untereinheit dagegen gab es noch keine Kristalle, die für hohe Auflösung hinreichend gut beugten. Vor dem Hintergrund meines lang anhaltenden Interesses an Ribosomen – und speziell der 30S-Untereinheit – fasste ich den Plan, die Herstellung guter Kristalle für eine Strukturbestimmung zu versuchen. Hilfreich war, dass zu dieser Zeit Joachim Frank und Mitarbeiter Methoden für die Einzelpartikelrekonstruktion in Kombination mit der Kryoelektronenmikroskopie (Kryo-EM) entwickelten. In ihren Studien fanden sie heraus, dass sich die Konformationen der 30S-Untereinheit im inaktiven, aktiven und gebundenen Zustand mit der 50S-Untereinheit unterschieden.<sup>[25]</sup> Dies ließ vermuten, dass die Schwierigkeiten bei der Herstellung gut beugender Kristalle auf die wechselnden Konformationen der 30S-Untereinheit zurückzuführen waren. Wir hatten kurz zuvor die isolierte Struktur des Initiationsfaktors IF3 gelöst, von dem angenommen wurde, dass er in eine der konformativ variablen Regionen der 30S-Untereinheiten bindet.<sup>[26]</sup> Unsere Ausgangsidee war also, dass wir die 30S-Untereinheit durch die Bindung von IF3 in einer bestimmten Konformation fixieren könnten, was zur Bildung besserer Kristalle führen sollte. Wir begannen ein gemeinsames Projekt mit Joachim Frank und Raj Aggarwal, um die Kryo-EM-Struktur des Komplexes aus der 30S-Untereinheit und IF3 zu bestimmen.<sup>[27]</sup> Auch wenn sich in späteren Untersuchungen herausstellte, dass unsere Interpretation der Elektronendichte bezüglich der IF3-Domänen nur zum Teil richtig war,<sup>[28,29]</sup> zeigte die Dichtedifferenzkarte deutlich, dass IF3 in die Por-

talregion der konformativ variablen 30S-Untereinheit bindet. Wir setzten uns daher zum Ziel, die 30S-Untereinheit im Komplex mit IF3 zu kristallisieren. Glücklicherweise brauchten wir diesen Komplex letztlich nicht, um die Struktur der 30S-Untereinheit zu bestimmen, denn ansonsten würden wir immer noch warten.

Zum Einstieg versuchten wir, niedrig auflösende Kristalle von *Thermus thermophilus* herzustellen, wie dies schon früher der Puschino-Gruppe gelungen war,<sup>[20,21]</sup> denn daran würden wir sehen, ob unsere Ribosomenpräparation rein genug für eine Kristallisation war. Marina Garber, deren Gruppe die 30S-Untereinheit und die 70S-Ribosomen in Puschino kristallisiert hatte, gab uns den Hinweis, dass die hydrophobe Chromatographie eine gute Methode war, um Ribosomen für die Kristallisation der 70S-Kristalle zu gewinnen. Ich hatte bereits Erfahrung mit dieser Methode der Ribosomenpräparation,<sup>[30]</sup> und so testete ich mit Unterstützung meines Postdocs Bob Dutnall, der an Histonacetyltransferasen arbeitete, eine Reihe von hydrophoben Harzen, bevor ich mich auf die Poros-ET-Säule von Biocad festlegte.<sup>[31]</sup>

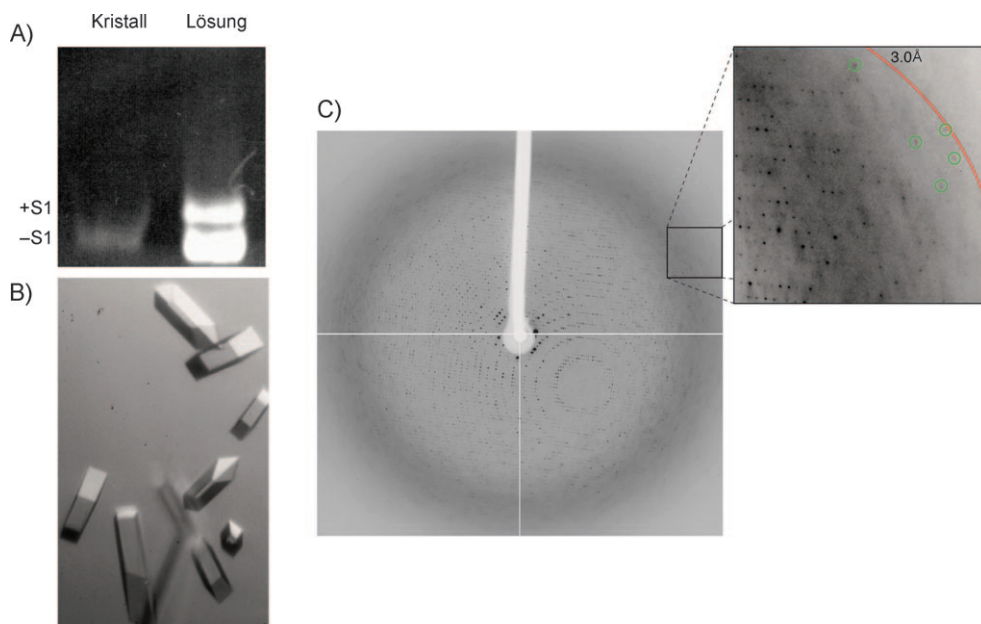
Wir erhielten erste Kristalle der 30S-Untereinheit innerhalb weniger Monate. Diesen Kristallen fehlte das ribosomale Protein S1 (Abbildung 7A), das in wechselnder Stöchiometrie in den Präparationen der 30S-Untereinheit vorkommt. Zwar erhielten wir aus dieser heterogenen Präparation verhältnismäßig große Kristalle, allerdings wurden Reproduzierbarkeit und Größe beträchtlich verbessert, wenn wir vor der Kristallisation S1 quantitativ entfernten (Abbildung 7B). Die so erhaltenen Kristalle beugten bei Auflösungen bis unter 3 Å (Abbildung 7C).<sup>[31,32]</sup> Wir hatten also Kristalle, die im Prinzip zur Erschließung der atomaren Struktur der 30S-Untereinheit geeignet waren – vorausgesetzt, dass wir einen

vollständigen Datensatz bis zur Auflösungsgrenze sammeln und das Phasenproblem lösen konnten.

Dass es schwierig war, gute Phasen für Moleküle von der Größe eines Ribosoms zu erhalten, war damals schon seit einiger Zeit bekannt, und das Gebiet konnte frische Ideen gut gebrauchen. Erst wenige Jahre zuvor hatte ich die Struktur der globulären Histondomäne GH5 gelöst, indem ich die Technik der anomalen Multiwellenlängenstreuung (MAD, multiwavelength anomalous diffraction), die von Wayne Hendrickson und Keith Hodgson eingeführt worden war,<sup>[33,34]</sup> in Verbindung mit Selenomethionin als anomal beugender Gruppe<sup>[35]</sup> einsetzte. Bei der Strukturlösung konnte ich zeigen, dass die Behandlung von MAD-Daten als Spezialfall des multiplen isomorphen Ersatzes (MIR, multiple isomorphous replacement) mit anomaler Beugung exzellente Elektronendichtekarten ergab, was angesichts des sehr schwachen und unscharfen anomalen Signals einiger weniger Elektronen eines Selenatoms überraschend war.<sup>[36,37]</sup> Grund dafür ist, dass es, obwohl die anomalen und unscharfen Signale des Selens nur von einigen Elektronen stammen (im Vergleich zu den rund 80 Elektronen eines „schweren“ Atoms wie Gold oder Quecksilber), bei MAD viel weniger Rauschen durch Skalieren oder fehlenden Isomorphismus gibt, sodass das Signal-Rausch-Verhältnis tatsächlich viel besser ist als bei einer typischen Strukturlösung mit isomorphem Ersatz.

Dies führte mich zu der Frage, was zu tun wäre, um ausreichend anomale Beugung für ein messbares Signal von Kristallen der 30S-Untereinheit zu erzeugen. Eine Übersichtsrechnung in Verbindung mit Ethan Merritts Internetseite, die das erwartete Signal berechnet ([http://skuld.bmsc.washington.edu/scatter/AS\\_signal.html](http://skuld.bmsc.washington.edu/scatter/AS_signal.html)), ergab, dass es in der 30S-Untereinheit zu wenige Methioninreste gibt, um ein

messbares Signal zu erhalten. Bei der IUCr-Konferenz 1996 in Seattle beschrieb Wayne Hendrickson die enormen Signale der M4- oder M5-Absorptionskante von Uran<sup>[38]</sup> mit einer anomalen Beugung von bis zu 100 Elektronen. Eine Unterhaltung mit Craig Ogate, der diese Experimente durchgeführt hatte, machte mir jedoch klar, dass die technischen Schwierigkeiten eines solchen Experiments gewaltig wären, vor allem wegen der erforderlichen Wellenlängen und der dadurch entstehenden Strahlenschäden. Ein vernünftiger Kompromiss war es, auf die LIII-Absorptionskanten von Lanthanoiden auszuweichen, mit denen spektakuläre Elektronendichtekarten erzeugt worden waren.<sup>[39]</sup> Eine Berechnung zeigte, dass



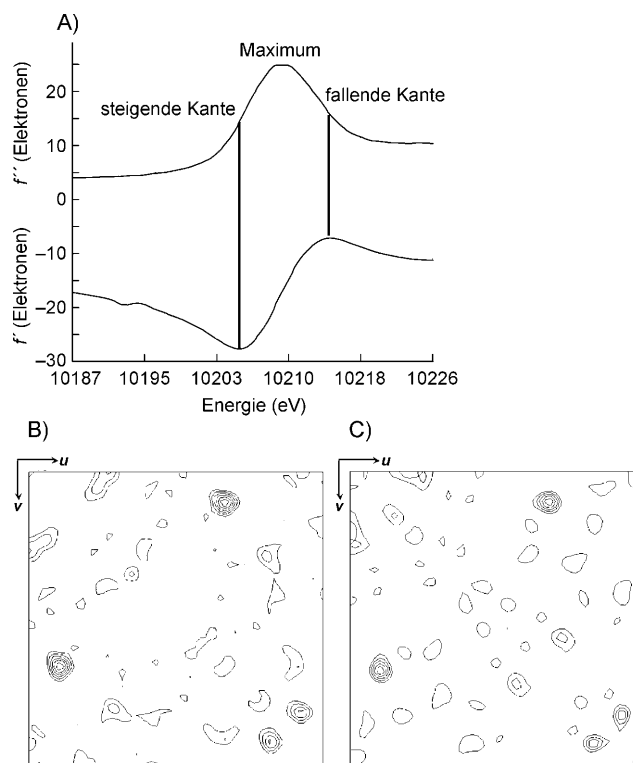
**Abbildung 7.** A) Nicht-denaturierende Agarose-Acrylamidgelelektrophorese eines gelösten Kristalls der ribosomalen 30S-Untereinheit (man erkennt, dass das Protein S1 fehlt) und einer Probe der Ausgangslösung bestehend aus einer Mischung von 30S-Untereinheiten mit und ohne Protein S1. B) Kristalle der 30S-Untereinheiten. C) Beugungsmuster der Kristalle aus (B); die Flecken zeigen eine Auflösung von etwa 3 Å.

bereits 10–20 gut gebundene Lanthanoidzentren ein ausreichend starkes anomales Signal für die Phaseninformation der 30S-Untereinheit ergaben. Eine Publikation über die Spaltung ribosomaler RNA durch Lanthanoide bei alkalischem pH ließ den Schluss zu, dass es tatsächlich eine genaue Zahl definierter Bindungsstellen für Lanthanoide in der 30S-Untereinheit gab.<sup>[40]</sup> Wir wollten daher versuchen, die Phaseninformationen für die 30S-Untereinheit mit der anomalen Beugung an der LIII-Absorptionskante von Lanthanoiden zu erhalten. Ich war fest davon überzeugt, dass wir die anomalen Beugungsgruppen mit direkten Methoden lokalisieren konnten, und spätere Untersuchungen legten nahe, dass dies tatsächlich der Fall gewesen wäre.

Als wir mit den Arbeiten begannen, traten zwei Entwicklungen ein, die auf unser weiteres Vorgehen Einfluss nahmen. Das erste Ereignis war 1996 die Veröffentlichung der P4-P6-Domäne des Gruppe-I-Introns,<sup>[41]</sup> deren Struktur durch MAD an einer anomalen LIII-Absorptionskante gelöst wurde. Die Verbindung, die am meisten zur Phasierung dieser großen RNA beitrug, war Osmiumhexamin. Aus der Beschreibung der Bindungsstelle<sup>[42]</sup> war zu erwarten, dass Osmiumhexamin an viel mehr Stellen der 30S-Untereinheit binden würde als die meisten Lanthanoide. Osmiumhexamin war jedoch nicht zu kaufen, und Henry Taube, der den Autoren der P4-P6-Studie die Substanz zur Verfügung gestellt hatte, besaß nichts mehr davon. Also bat ich meinen Freund und früheren Kollegen aus Brookhaven, Bruce Brunshwig (inzwischen am Caltech), ob er mir aushelfen könne, und zusammen mit seinem Assistenten Mei Chou synthetisierte er genug Material für unsere Untersuchungen.

Das zweite Ereignis war die Veröffentlichung der 9-Å-Struktur der 50S-Untereinheit durch die Yale-Gruppe.<sup>[43]</sup> In dieser Arbeit wurden zum ersten Mal rechtsdrehende Helices doppelsträngiger RNA nachgewiesen, was ein wichtiger Durchbruch war. Hierbei kamen Wolfram-Schweratomcluster zu Einsatz, wie es zuvor Yonath und Mitarbeiter vorgeschlagen hatten.<sup>[44]</sup> Der Startphasensatz wurde durch molekularen Ersatz ermittelt, wobei eine von Frank et al. ermittelte Kryo-EM-Rekonstruktion der 50S-Untereinheit als Startmodell zum Einsatz kam. Der  $W_{18}$ -Cluster war in den Patterson-Differenzkarten direkt zu sehen, sodass nicht klar ist, ob die aus dem molekularen Ersatz des Kryo-EM-Modells berechneten Phasen wirklich benötigt wurden, aber die Autoren konnten die Position der  $W_{18}$ -Cluster mit Differenz-Fourier-Karten, die aus den Phaseninformationen erzeugt wurden, bestätigen. Entsprechend beschlossen wir, beides zu versuchen – molekularen Ersatz mit Kryo-EM und die Verwendung von Schweratomclustern –, um einen Satz von Startphasen zu erhalten, aus dem wir dann durch Differenz-Fourier-Methoden unsere anomalen Beugungsgruppen an LIII-Absorptionskanten lokalisieren würden. Michael Pope an der Georgetown University stellte uns großzügigerweise eine Serie von Wolframclustern mit 11 bis 26 Atomen zur Verfügung, wie er es zuvor schon für Yonath und Steitz getan hatte. Einen weiteren Cluster, Tantalbromid, erhielten wir von Gunther Schneider an der Universität Stockholm und von Jan Löwe am MRC Laboratory of Molecular Biology, wo ich kurz nachdem wir die unten beschriebenen Daten gesammelt hatten, hinwechselte.

Unsere Experimente mit molekularem Ersatz ausgehend von Joachim Franks Kryo-EM-Rekonstruktion der 30S-Untereinheit mit 25 Å Auflösung brachten keine Lösung. Allerdings gelang es uns bei einer einzelnen Messkampagne am NSLS in Brookhaven, am Peak des Fluoreszenzspektrums der LIII-Absorptionskanten Daten für die Wolframcluster, Tantalbromid, Lanthanoide und Osmiumhexamin zu sammeln. Der Peak entspricht dem Maximum von  $f''$  (Abbildung 8 A),



**Abbildung 8.** A) Spektrum der LIII-Absorptionskante von Wolfram (mit freundlicher Genehmigung von S. Myers und D. Schneider, Brookhaven National Laboratory). Die Daten wurden zuerst am Peak von  $f''$  gesammelt, wo die anomalen Differenzen am größten sind, und anschließend bei den beiden Wellenlängen, die dem Minimum und dem lokalen Maximum von  $f'$  entsprechen. B) Harker-Sektion der anomalen Differenz-Patterson-Karte eines  $W_{17}$ -Derivats der 30S-Kristalle, erzeugt aus den Daten am Peak von  $f''$ . Die Maxima entsprechen den  $W_{17}$ -Clustern in der Struktur. C) Harker-Sektion von Patterson-Karten der isomorphen (dispersiven) Differenz zwischen den Daten, die am Peak und am lokalen Maximum von  $f'$  gesammelt wurden. Die Karte zeigt Peaks an den gleichen Positionen wie in (B).

resultierend in der Maximierung der Anomaliedifferenzen zwischen Bijvoet-Paaren. Schon beim Messvorgang konnten wir deutlich anomale Differenz-Patterson-Signale des  $W_{17}$ -Clusters sehen (Abbildung 8B). Um ein möglichst großes Beugungssignal zu erhalten, verwendeten wir noch zwei weitere Wellenlängen, einmal in der steigenden und einmal in der fallenden Flanke des Fluoreszenzspektrums. Diese sehr dicht beieinander liegenden Wellenlängen entsprechen dem Minimum und dem lokalen Maximum des Realteils  $f'$  des anomalen Beugungsfaktors. Indem wir diese auswählten, maximierten wir die Beugungs- oder „isomorphe“ Differenz von  $f'$  zwischen den beiden Wellenlängen, wodurch starke Signale für die Differenz der Patterson-Werte an den gleichen

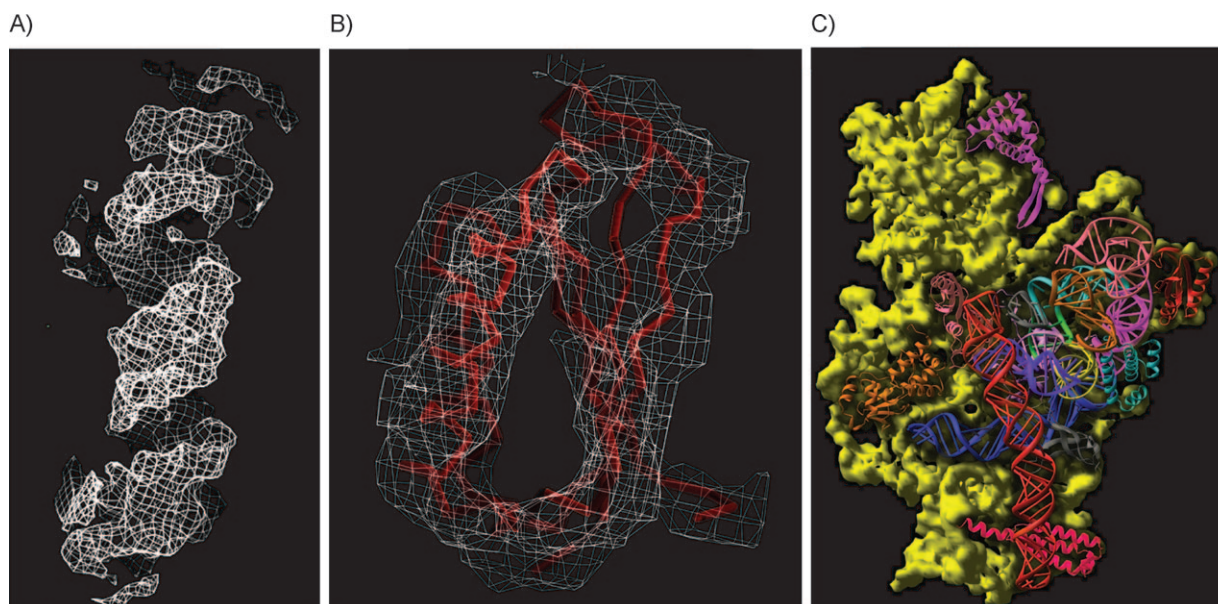


Stellen wie für die anomalen Beugungsdifferenzen zustandekamen (Abbildung 8C). Mit den Beugungs- und anomalen Differenzen erreichten wir in der MAD-Phasierung eine Auflösung von etwa 9 Å. Die so gewonnenen Phaseninformationen nutzten wir, um alle anderen Derivate zu lokalisieren. Da die verschiedenen Derivate nicht isomorph zueinander waren, fassten wir diejenigen Derivate, die bei mittlerer Auflösung isomorph waren, zu Gruppen zusammen und lösten so die Struktur der 30S-Untereinheit mit einer Auflösung von 5.5 Å.<sup>[32]</sup>

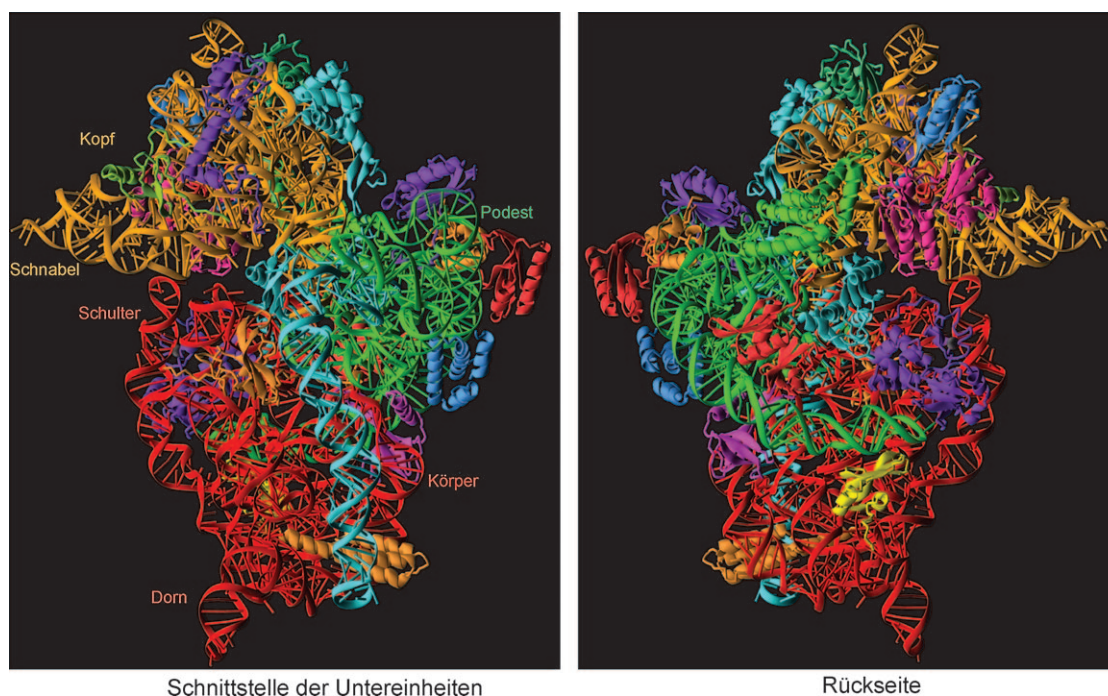
Diese Struktur stellte in mehrfacher Hinsicht einen Durchbruch dar. Sie zeigte, dass mit unseren Kristallen der 30S-Untereinheit verlässliche Phasen bestimmt werden konnten. Wir konnten deutlich Elektronendichtesignale für doppelhelicale RNA sehen und erkannten die lange, vorletzte Helix 44 der 16S-RNA an der Kontaktfläche mit der großen Untereinheit (Abbildung 9A). Da die Auflösung ausreichte, um einzelne Proteine mit bekannter Struktur zu erkennen (Abbildung 9B), konnten wir alle Proteine der 30S-Untereinheit mit bereits bekannter Struktur und außerdem Protein S20, ein dreifachhelicales Bündel, an der „Rückseite“ der Untereinheit, platzieren. Schließlich konnten wir unter Berücksichtigung biochemischer Daten, insbesondere der Profildaten von Noller und Mitarbeitern,<sup>[45,46]</sup> Stücke der RNA in Nachbarschaft zu spezifischen Proteinen identifizieren und damit die Faltung des größten Teils der zentralen Domäne nachverfolgen. Daraus ergab sich ein Teilmodell der 30S-Untereinheit (Abbildung 9C). Da die Kristallbeugung eine Auflösung von etwa 3 Å ermöglichte, schien der Weg zu einer atomaren Struktur vorgezeichnet.

Unglücklicherweise standen einer hohen Auflösung verschiedene Probleme im Weg. Weil die Beugung bei hoher Auflösung ziemlich schwach war, mussten viel längere

Messzeiten in Kauf genommen werden, um ausreichend genaue Daten an der Auflösungsgrenze zu bekommen. Bei dieser höheren Strahlenexposition wurden die empfindlichen Kristalle jedoch beschädigt, sodass für den vollständigen Datensatz mehrere Kristalle notwendig waren. Diese variierten jedoch in der Größe der Elementarzellen, was zu fehlender Isomorphie führte. Dadurch war es nicht möglich, die Daten aus mehreren Kristallen durch einfache Skalierung zusammenzuführen. Diese beiden Probleme, deren Lösungen sich gegenseitig ausschlossen, machten über mehrere Monate ein Vorankommen schwer. Das Problem wurde zum Teil durch brachiale Gewalt gelöst, indem wir Hunderte von Kristallen auswerteten und sie nach der Größe ihrer Elementarzellen gruppierten. Am Ende bemerkten wir, dass Kristalle, die mit Osmiumhexamin getränkt waren, offenbar übereinstimmende Elementarzellgrößen hatten, und wir beschlossen daher, alle Kristalle mit dem isomorphen Cobalthexamin zu tränken, wodurch die Abweichungen von der Isomorphie zwischen den Kristallen stark verringert wurden. Die Struktur wurde hauptsächlich mithilfe anomaler Beugungen verschiedener Lanthanoide und von Osmiumhexamin an den jeweiligen LIII-Absorptionskanten gelöst. Im Nachhinein stellten wir fest, dass uns die anomale Beugung ausschließlich von Osmiumhexamin in Verbindung mit den Dichtemodifikationen gleich gute Phaseninformationen geliefert hätte. Bedenkt man seine früheren Arbeiten über die P4–P6-Domäne, ist es nicht verwunderlich, dass Cate unabhängig davon eine im Wesentlichen identische Strategie anomaler Beugung an Osmium- oder Iridiumhexamin für die Lösung der 5.5-Å-Struktur des 70S-Ribosoms verfolgte,<sup>[47,48]</sup> und sie war auch entscheidend für die hochaufgelöste Struktur der 50S-Untereinheit.<sup>[49]</sup>



**Abbildung 9.** Die Struktur der 30S-Untereinheit in 5.5-Å-Auflösung. A) Elektronendichtekarte der rechtshändigen RNA-Doppelhelix mit den beiden Strängen und Ausstülpungen der Phosphatgruppen. B) Elektronendichtekarte des ribosomalen Proteins S6, angepasst anhand der Struktur des isolierten Proteins.<sup>[103]</sup> C) Teilmodell der 30S-Untereinheit mit der Faltung der zentralen Domäne; alle Proteine mit vorab bekannter Struktur sowie das vorher unbekannte Protein S20 wurden in die Elektronendichtekarte eingepasst. Wiedergabe nach Lit. [32].



**Abbildung 10.** Die atomare Struktur der 30S-Untereinheit in 3-Å-Auflösung. A) Die „Vorderseite“ oder Kontaktfläche zwischen den Untereinheiten, die relativ arm an Proteinen ist. Die verschiedenen Unterstrukturen der 30S-Untereinheit sind mit ihren üblichen Namen bezeichnet. B) Die „Rückseite“ oder Lösungsmittelseite, die von vielen ribosomalen Proteinen bedeckt ist.

### Die Struktur der 30S-Untereinheit

Schließlich gelang es uns, die atomare Struktur der 30S-Untereinheit von *Thermus thermophilus* zu lösen und ein nahezu vollständiges atomares Modell aufzustellen, in dem die gesamte RNA und die Proteine bis zu einer Auflösung von 3 Å erfasst waren (Abbildung 10).<sup>[50]</sup> Etwa zur gleichen Zeit löste die Gruppe um Yonath mit leicht unterschiedlichen Methoden und mit Kristallen, bei denen für eine gute Beugung die Bindung von Schweratomclustern erforderlich war, unabhängig eine Struktur der 30S-Untereinheit mit 3.3 Å.<sup>[51]</sup> Abgesehen davon, dass diese Struktur weniger vollständig war, wies sie auch eine Reihe von Unterschieden zu unserer Struktur auf.<sup>[52]</sup> Eine nachfolgende Struktur, die selbige Gruppe im Jahr darauf mit einer 3.2-Å-Auflösung veröffentlichte,<sup>[53]</sup> stimmte dann aber gut mit unserer Struktur überein.

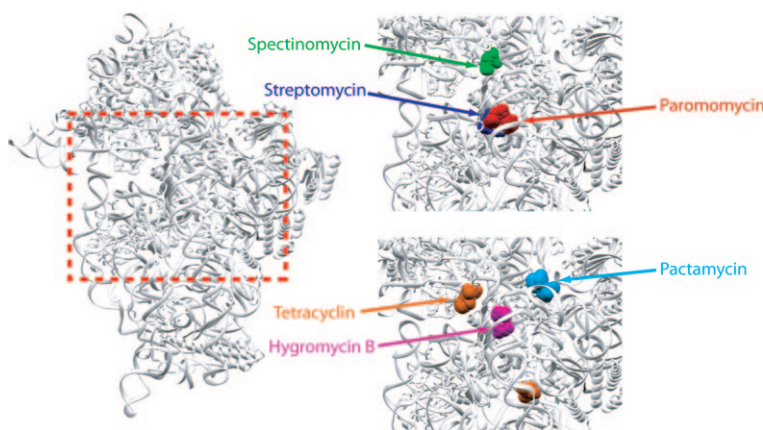
Die Struktur der 30S-Untereinheit bot eine sichere Grundlage für die Interpretation von Jahrzehnten biochemischer und genetischer Daten.<sup>[50,52,54]</sup> Anhand der Überlagerung von mRNA und tRNA in einer 7.8-Å-Struktur des ganzen Ribosoms<sup>[47]</sup> konnten wir die Wechselwirkung dieser Liganden mit der 30S-Untereinheit analysieren. Dass wir fast bis zur atomaren Auflösung der P-Stelle kamen, war einem glücklichen Zufall zu verdanken: Eine besondere Eigenschaft dieser Kristallform war, dass eine Haarnadelschleife der 16S-RNA eines Nachbarmoleküls (der „Dorn“, siehe Abbildung 10) in die P-Stelle der 30S-Untereinheit eindringt und dort den Anticodon-Stamm der tRNA in der P-Stelle imitiert und mit dem 3'-Ende der 16S-RNA in Kontakt tritt, die sich in die P-Stelle analog zur Wechselwirkung zwischen tRNA-Anticodon und mRNA-Codon zurückfaltet.

Zusätzlich zu den Details der Ligandenbindestellen variiert die Struktur einige sehr allgemeine Prinzipien. Die funktionellen Zentren für die Bindung der RNA und die Berührungsfläche zwischen den 30S- und 50S-Untereinheiten bestehen fast ausschließlich aus RNA mit Ausnahme von Protein S12 in der Nähe des decodierenden Zentrums. Die aktiven Zentren sind hoch konserviert, einschließlich tertiärer Wechselwirkungen. Viele der Proteine haben lang ausgestreckte Ketten am N- oder C-Terminus, die sich durch die 16S-RNA winden und mit ihr in engem Kontakt stehen. Diese Eigenschaften wurden auch bei der 50S-Untereinheit beobachtet.<sup>[49,50]</sup> Die Protein-RNA-Wechselwirkungen in der 30S-Untereinheit wurden im Detail analysiert.<sup>[52]</sup>

### Verwendung der 30S-Struktur zur Untersuchung von Komplexen mit Antibiotika

Mit einer verfeinerten Struktur der 30S-Untereinheit lag es auf der Hand, direkt aus Differenz-Fourier-Karten von Antibiotikakomplexen die Bindungsstellen dieser Verbindungen zu bestimmen. So veröffentlichten wir gleichzeitig mit der Struktur der 30S-Untereinheit auch die Strukturen des Komplexes mit drei verschiedenen, simultan bindenden Antibiotika: Streptomycin, Spectinomycin und Paromomycin.<sup>[54]</sup> Wenig später kamen drei weitere hinzu: Tetracyclin, Pactamycin und Hygromycin B<sup>[56]</sup> (Abbildung 11). Dies waren die ersten Berichte über die detaillierte Struktur von Antibiotika im Komplex mit einer vollständigen Ribosomenuntereinheit. Lediglich die Struktur von Paromomycin im Komplex mit einem Fragment der 16S-RNA mit der entsprechenden





**Abbildung 11.** Antibiotika im Komplex mit der 30S-Untereinheit. Der Kasten links bezeichnet die Region der 30S-Untereinheit, in die mRNA und tRNA binden. In den vergrößerten Ausschnitten rechts sieht man, dass in der gleichen Region wichtige Antibiotika an Schlüsselstellen binden und so auf verschiedene Arten die Funktion des Ribosoms hemmen.

Zielsequenz war zuvor NMR-spektroskopisch bestimmt worden.<sup>[57]</sup> Jede dieser Antibiotikastrukturen eröffnete Einblicke in die jeweiligen Wirkungsmechanismen. Darüber hinaus können die detaillierten Strukturen der gebundenen Antibiotika zur Entwicklung neuer und effizienterer Wirkstoffe dienen, die vielleicht auch gegen resistente Stämme pathogener Bakterien wirken. Ein Antibiotikum, Paromomycin, hat außerdem Erkenntnisse über den Decodierungsprozess ermöglicht, wie im Folgenden beschrieben.

#### Das Problem der Decodierung der genetischen Information

Die Genauigkeit der Translation hängt von verschiedenen unabhängigen Vorgängen ab, von denen jeder mindestens so genau sein muss wie die Gesamtgenauigkeit. Zu diesen Prozessen gehören die Erkennung der passenden tRNA durch die Aminoacyl-tRNA-Synthetase, die die tRNA mit der korrekten Aminosäure belädt, und die Instandhaltung des mRNA-Leserasters während der Translation. Genauso wichtig ist die Decodierung, also die Codon-abhängige Auswahl der passenden Aminoacyl-tRNA während der Proteinsynthese, die eine Basenpaarung zwischen dem Codon der mRNA und dem Anticodon der tRNA einschließt.<sup>[58]</sup> Die Struktur der 30S-Untereinheit, und später des gesamten Ribosoms, hat viel Aufschluss über diesen Vorgang der Decodierung gegeben.

Seit der Entschlüsselung des genetischen Codes ist bekannt, dass der Code stark entartet ist: Viele Codons, die sich in der dritten Position unterscheiden, codieren für dieselbe Aminosäure. Die Tatsache, dass es weniger tRNAs als Codons gibt, war der Ursprung der Wobble-Hypothese, derzufolge manche Fehlpaarungen an der dritten, der „Wackelposition“ toleriert werden, während an den beiden ersten Positionen des Codons eine strenge Watson-Crick-Paarung erforderlich ist.<sup>[59]</sup>

Die Differenz der freien Energie, die bei einer Fehlpaarung auftritt, ist nicht groß genug, um damit die Transla-

tionsgenauigkeit zu erklären. Die frühesten Hinweise darauf, dass das Ribosom an der Genauigkeit der tRNA-Selektion beteiligt ist, stammen aus der Beobachtung, dass das Antibiotikum Streptomycin, das an die 30S-Untereinheit bindet, die Fehlerhäufigkeit bei der Proteinsynthese erhöht.<sup>[60]</sup> Daraus entstand die Vermutung, dass es in der 30S-Untereinheit ein Decodierungszentrum gibt, das die Paarung des Codons mit dem Anticodon auf ähnliche Art überprüft, wie ein Enzym die präzise Bindung seines Substrats ertastet. Diese Hypothese einer direkten Überprüfung wurde jedoch in Frage gestellt, als eine Mutation mit verringerter Genauigkeit, der Hirsh-Suppressor, an einer Position weit weg vom tRNA-Anticodon entdeckt wurde.<sup>[61]</sup> Daraus entwickelte sich die folgende alternative Sichtweise.

Die Aminoacyl-tRNA wird zunächst als Komplex mit EF-Tu und GTP in das Ribosom gebracht. Eine Sichtweise war, dass ein als kinetisches Korrekturlesen bezeichneter Vorgang<sup>[62,63]</sup> falsch eingebaute tRNAs vor oder nach der GTP-Hydrolyse durch EF-Tu zur Dissoziation bringt. Die Gesamtselektivität kann so hoch sein wie das Produkt beider Selektionsschritte, weil diese durch den im Wesentlichen irreversiblen Schritt der GTP-Hydrolyse getrennt sind. Experimentelle Hinweise für den Korrekturlesevorgang stammten aus der Beobachtung, dass der Einbau einer Aminosäure durch eine geringfügig nicht-kognate tRNA (die nur eine einzelne Fehlpaarung zwischen Codon und Anticodon aufwies) die Hydrolyse von viel mehr GTP erfordert als im Fall der kognaten tRNA.<sup>[64,65]</sup> Nach dieser Sichtweise nehmen Ribosom und tRNA passiv an der Translation teil, wobei Mutationen die Genauigkeit beeinflussen, indem sie die Geschwindigkeit der GTP-Hydrolyse durch EF-Tu modulieren. Im Prinzip könnte dies erklären, wie sich Mutationen weit weg von der Codon-Anticodon-Paarung auf die Genauigkeit auswirken.

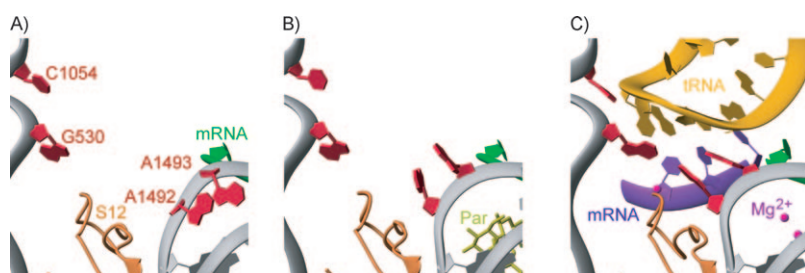
Diese Sichtweise musste erheblich revidiert werden. Sorgfältige Studien zur Stabilität von RNA-Helices ergaben, dass die Unterschiede in der freien Energie aufgrund einer Fehlpaarung einen Faktor von 5–10 bei der Selektivität ausmachen können,<sup>[66]</sup> und nicht etwa einen Faktor 100, wie zuvor angenommen wurde. Daher kann die Gesamtgenauigkeit des Ribosoms auch mit dem Korrekturlesen nicht durch die Basenpaarung allein gesichert werden. Kinetische Experimente, mit denen die einzelnen Schritte der tRNA-Selektion analysiert wurden, zeigten, dass die Hinreaktionen der GTPase-Aktivierung und der Komplexierung (d.h. der Bewegung der tRNA ins Peptidyltransferasezentrum) im Fall der kognaten tRNAs drastisch schneller ablaufen als im Fall geringfügig nicht-kognater tRNAs.<sup>[67]</sup> Dies führte zu der Annahme, dass die kognate tRNA besser in der Lage ist, das Ribosom durch Konformationsänderungen in eine produktive Form zu überführen, die eine beschleunigte GTPase-Aktivierung und Komplexierung bewirkt. Die Befunde waren im Einklang mit früheren NMR-Untersuchungen an einem Ausschnitt des Decodierungszentrums.<sup>[68]</sup> Verschiedene Aminoglycosid-Antibiotika binden an das Decodierungszentrum und erhöhen die Fehlerrate der Translation. Kineti-



sche Untersuchungen ergaben, dass der Haupteffekt eines solchen Antibiotikums, des Paromomycins, weniger darin bestand, die Affinität falscher, geringfügig nicht-kognater tRNAs zu steigern, als vielmehr darin, solchen tRNAs die Beschleunigung der GTPase-Aktivierung zu ermöglichen.<sup>[69]</sup> Vermutlich induziert Paromomycin ähnliche Konformationsänderungen wie die kognaten tRNAs. Spätere Gleichgewichtsbindungsstudien zeigten, dass die Zunahme der Stabilisierung geringfügig nicht-kognater tRNAs durch Paromomycin minimal war.<sup>[70]</sup>

### Einblicke in die Decodierung aus Strukturen des Ribosoms

Wohl einer der interessantesten Einblicke, die die Struktur der 30S-Untereinheit preisgegeben hat, stammt aus Untersuchungen der Codon-Anticodon-Wechselwirkung im Decodierungszentrum. Die Struktur lieferte eine molekularbasierte Erklärung für die oben beschriebenen biochemischen Beobachtungen. Vor allem zeigte die Struktur der 30S-Untereinheit mit gebundenem Paromomycin, dass das Antibiotikum die Konformation zweier entscheidender Basen, A1492 und A1493, in einer Orientierung stabilisiert, in der sie die kleine Furche der Codon-Anticodon-Helix direkt abtasten können (Abbildung 12 A und B).<sup>[54]</sup>



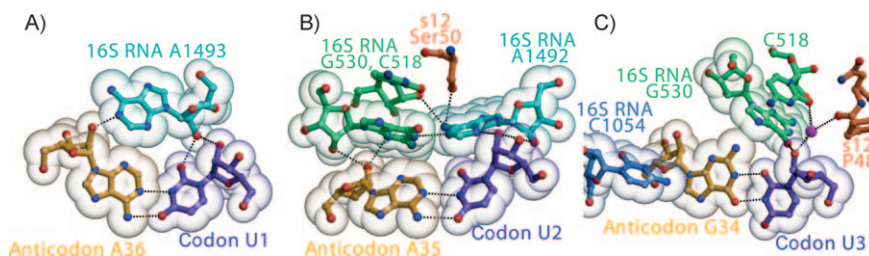
**Abbildung 12.** Das Decodierungszentrum des Ribosoms, in dem Codon (mRNA) und Anticodon (tRNA) in Wechselwirkung treten. A) Das Decodierungszentrum in der leeren 30S-Untereinheit. B) Die Bindung des Antibiotikums Paromomycin induziert eine Konformationsänderung der Basen A1492 und A1493, sodass sie mit den Codon-Anticodon-Basenpaaren wechselwirken können. C) Die Basenpaarung zwischen dem Anticodon der tRNA und dem Codon induziert nicht nur eine Konformationsänderung von A1492 und A1493, sondern auch von G530, sodass alle drei Basen mit der kleinen Furche der Codon-Anticodon-Minihelix in Kontakt stehen. Wiedergabe nach Lit. [72].

Es schien schwierig zu testen, ob ribosomale Basen direkt und spezifisch die Codon-Anticodon-Basenpaarung überprüfen, weil Kristalle nicht in Gegenwart von mRNA wachsen wollten. Wir bemerkten aber, dass die A-Stelle der 30S-Untereinheit, an der die Decodierung stattfindet, durch große Kanäle im Kristall erreichbar war, sodass kleine Makromoleküle, die an die A-Stelle binden, direkt in das Kristallinnere diffundieren konnten. Wir testeten diese Idee zunächst, indem wir

ein kleines Protein, den an die A-Stelle bindenden Initiationsfaktor IF1, eindiffundieren ließen. Tatsächlich konnten wir Elektronendichte von IF1 in Differenz-Fourier-Karten sehen und damit die Struktur des Komplexes mit der 30S-Untereinheit bestimmen.<sup>[71]</sup>

Nachdem wir nun wussten, dass die A-Stelle im Kristall für große Liganden zugänglich ist, konnten wir mit Strukturuntersuchungen zur Decodierung beginnen, indem wir die Kristalle mit RNA-Oligonucleotiden tränkten, die das mRNA-Codon in der A-Stelle und den Stamm und die Schleife des Anticodons (ASL; anticodon stem-loop) der tRNA nachahmten. Die Daten zeigten, dass die Bindung einer kognaten tRNA an die 30S-Untereinheit nicht nur eine Konformationsänderung von A1492 und A1493 induzierte, sondern auch von G530, das ein Bestandteil des „Pseudoknotens 530“ der 16S-rRNA ist (Abbildung 12 C).<sup>[72]</sup> Diese drei universell konservierten Basen reihen sich in der kleinen Furche der Codon-Anticodon-Helix so auf, dass die Geometrie des Basenpaares in den ersten beiden Positionen, nicht aber an der Wobble-Position abgetastet wird (Abbildung 13). Die Struktur lieferte eine Erklärung für die Wobble-Hypothese,<sup>[59]</sup> derzufolge eine strenge Watson-Crick-Paarung zwischen Codon und Anticodon nur an den ersten beiden Positionen, nicht aber an der dritten Position erforderlich ist.

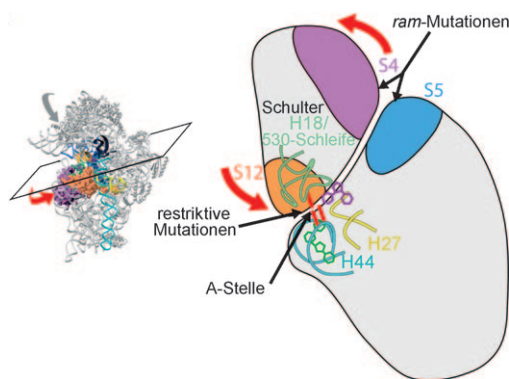
Die Bindung kognater tRNA induziert auch globale Konformationsänderungen in der 30S-Untereinheit, insbesondere eine Bewegung der Schulter der 30S-Untereinheit relativ zum Rest des Komplexes.<sup>[70,72]</sup> Dieses ließ sich bei einer Fehlpaarung der tRNA nicht beobachten, es sei denn bei Zugabe des Antibiotikums Paromomycin. Offenbar kann die Konformationsänderung, die durch kognate tRNA induziert wird, auch durch geringfügig nicht-kognate tRNA in Gegenwart von Paromomycin ausgelöst werden. Zusammen vervollständigen diese Strukturen die kinetischen Daten, die vermuten lassen, dass kognate, nicht aber geringfügig nicht-kognate tRNA eine Konformationsänderung induziert, die die GTP-Hydrolyse durch EF-Tu beschleunigt,<sup>[67]</sup> während Paromomycin die Hydrolyse auch im Verbund mit geringfügig nicht-kognater tRNA beschleunigt.<sup>[69]</sup>



**Abbildung 13.** Wechselwirkung konservierter Ribosomenbasen mit den drei Codon-Anticodon-Basenpaaren; man sieht eine spezifische Erkennung über eine Watson-Crick-Geometrie an den ersten beiden Positionen (A und B) und eine Toleranz bezüglich eines GU-Wobble-Paares an der dritten Position (C). Wiedergabe nach Lit. [72].

Eine weitergehende Untersuchung der Konformationsänderung ergab, dass sich viele Mutationen in der 30S-Untereinheit, die die Genauigkeit der Translation beeinträchtigen, an oder in der Nähe der Berührungsfläche zwischen zwei Domänen der Untereinheit befinden (Abbildung 14). Diese beiden Domänen bewegen sich bei der Bindung der tRNA relativ zueinander beim Übergang der 30S-Untereinheit von einer offenen zu einer geschlossenen Form. Mutationen oder Antibiotika, die dieses Schließen der Domäne erleichtern, verringern die Genauigkeit der tRNA-Selektion, solche, die das Erreichen der geschlossenen Form erschweren, verbessern ihre Genauigkeit.<sup>[70]</sup> Diese Konformationsänderungen während der Decodierung konnten herangezogen werden, um abweichende genetische und biochemische Daten zu erklären und auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen.<sup>[58,70]</sup>

Aus unseren Arbeiten zur 30S-Untereinheit schlossen wir, dass der Übergang der Domänen von einer offenen in eine geschlossene Form für die Aktivierung der GTPase und damit für die Selektion der tRNA erforderlich ist.<sup>[70]</sup> Doch warum sollte dies der Fall sein? Eine erste Antwort ergab sich aus den Kryo-EM-Untersuchungen am Komplex aus EF-Tu, tRNA und dem Ribosom.<sup>[73]</sup> Das Schließen der Domänen, insbesondere die Bewegung der Schulter der 30S-Untereinheit, bringt diese näher an EF-Tu und tRNA heran. Wir vermuteten, dass dieser Vorgang die GTP-Hydrolyse durch EF-Tu unterstützt, die dann zur Freisetzung des Elongationsfaktors und zur Bindung der tRNA an die A-Stelle des Peptidyltransferasezentrums führt. Nachfolgende Kryo-EM-Untersuchungen ergaben, dass die tRNA im Komplex mit EF-Tu verzerrt war, wenn sie am Ribosom gebunden vorlag.<sup>[74,75]</sup>



**Abbildung 14.** Konformationsänderungen und das Schließen von Domänen in der ribosomalen 30S-Untereinheit erklären den Einfluss von Antibiotika oder Mutationen auf die Genauigkeit der Translation. Rechts: Querschnitt durch die 30S-Untereinheit (die Lage der Schnittebene ist links gezeigt) in der Region des Decodierungszentrums und der Proteine S4 (violett), S5 (blau) und S12 (orange). G530 und A1492/3 sind durch rote Balken angedeutet; die Helices H44, H27 und H18 (mit der G530-Schleife) sind cyan, gelb bzw. türkis dargestellt. Die Drehung der Schulterdomäne (rote Pfeile) beim Übergang in die geschlossene 30S-Konformation hebt den Kontakt zwischen S4 und S5 auf, während die H18/530-Schleife/S12-Region neue Kontakte mit H27 und H44 bildet. Mutationen in diesen Regionen verstärken die Fehleranfälligkeit der mRNA-Ablesung oder schwächen sie ab. Paromomycin (dunkelgrüne Ringe) und Streptomycin (dunkelrosa Ringe) induzieren Translationsfehler, indem sie das Schließen der Domäne erleichtern. Wiedergabe nach Lit. [72].

Daraufhin schlugen wir ein Modell für die Decodierung vor, nach dem die zusätzliche Bindungsenergie von der Erkennung der Codon-Anticodon-Basenpaarung in der kleinen Furche verwendet wird, um das Schließen der Domänen in der 30S-Untereinheit zu induzieren. Dieses Schließen der Domänen würde seinerseits den Übergangszustand stabilisieren, der für die GTP-Hydrolyse durch EF-Tu erforderlich ist. Dieser ist charakterisiert durch eine verzerrte tRNA-Konformation.<sup>[70]</sup> Ein solches Modell konnte nicht nur Mutationen im Ribosom, sondern auch solche in der tRNA verständlich machen, die die Translationsgenauigkeit beeinflussen. Nach der GTP-Hydrolyse sollten die starken Wechselwirkungen im Decodierungszentrum die Anticodonschleife in Position halten, während die Freisetzung von EF-Tu es der stark verdrehten tRNA ermöglichen würde, sich zu entspannen und dabei ins Peptidyltransferasezentrum zu gelangen.<sup>[70]</sup> Die Idee einer verdrehten tRNA, die sich durch die Entspannung ins Peptidyltransferasezentrum bewegt, wurde auch als „molekulare Feder“ beschrieben<sup>[76]</sup> und greift frühere Ideen von Yarus und Mitarbeitern auf, wonach die Dynamik der tRNA wichtig für die Translationseffizienz ist.<sup>[77]</sup>

Obwohl die Auflösung der Kryo-EM-Aufnahmen stetig verbessert wurde und für Strukturen des 70S-Ribosoms im Komplex mit EF-Tu eine zuvor unvorstellbare Auflösung von 6–7 Å erreichte,<sup>[78,79]</sup> war klar, dass molekulare Details der Wechselwirkungen zwischen EF-Tu und der Aminoacyl-tRNA mit dem Ribosom nur mit noch höher aufgelösten Strukturen zugänglich wären. Dieses Ziel wurde jedoch aus den unten beschriebenen Gründen nur langsam erreicht.

### Eine hochaufgelöste Struktur des 70S-Ribosoms

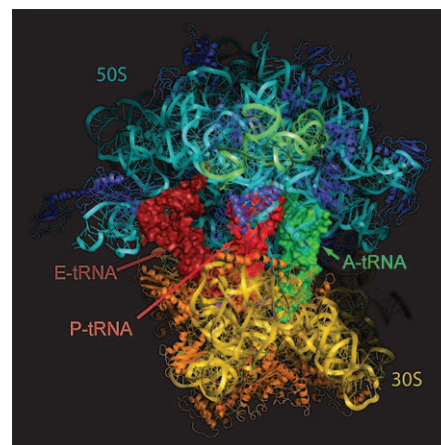
Die Kristallisation des 70S-Ribosoms, die Mitte der 80er Jahre in Puschino begann,<sup>[20]</sup> fand ihren vorläufigen Höhepunkt in der Strukturaufklärung des gesamten 70S-Ribosoms im Komplex mit mRNA und tRNA mit einer Auflösung von 5.5 Å.<sup>[48]</sup> Diese Arbeit stellte einen großen Schritt nach vorn dar, weil sie die erste molekulare Interpretation der Kontaktfläche der Untereinheiten und der Wechselwirkungen der mRNA und der tRNA-Liganden mit dem Ribosom brachte. Allerdings beruhte die Strukturlösung auf den atomaren Strukturen der 30S- und 50S-Untereinheiten, die vorher gelöst worden waren.<sup>[49,50]</sup> Tatsächlich waren die ab initio interpretierten Regionen, die in der 50S-Untereinheit ungeordnet vorlagen (z. B. die gestreckten Domänen von L1 oder L7/L12), nicht mit den später veröffentlichten, hochaufgelösten Strukturen dieser Komponenten vereinbar.<sup>[80,81]</sup>

Ein zweiter wichtiger Meilenstein war die Kristallisation und Strukturbestimmung des *E. coli*-Ribosoms mit 3.5 Å Auflösung.<sup>[82]</sup> Dies war die erste Struktur eines 70S-Ribosoms mit einer Auflösung, die zur sicheren Verfeinerung eines atomaren Modells taugte. Unter anderem konnte daran auch die Natur der Bindungsbrücken zwischen den Untereinheiten geklärt werden. Weil *E. coli* außerdem der Standardorganismus für biochemische und genetische Studien am Ribosom war, stand damit eine wichtige Referenzstruktur zur Verfügung. Andererseits war die Bindung von Vollängen-tRNAs in dieser Kristallform nicht möglich, wodurch der Nutzen für

funktionelle Untersuchungen begrenzt war. Es war also klar, dass neue Kristallformen des Ribosoms gebraucht wurden, die mit hoher Auflösung in unterschiedlichen funktionellen Stadien der Translation beugen.

Wir machten uns daran, völlig neue Kristallformen zu suchen, die gut beugen würden. Um die Ribosomen zu reinigen, verwendeten wir wieder die hydrophobe Chromatographie wie bei der 30S-Untereinheit, diesmal aber auf Vorschlag von Marina Garber mit Toyopearl Butyl-650S. Das Elutionsprofil stellte sich als temperaturempfindlich heraus, und wir konnten bei 4°C, nicht jedoch bei Raumtemperatur, 70S-Ribosomen von einem Überschuss an 50S-Untereinheiten sowie von einer Fraktion abtrennen, die eine aktive Ribonuclease enthielt, die gemeinsam mit den Ribosomen eluierte. Mit unserem Protokoll erhielten wir die Ribosomen auch frei von jeder endogen gebundenen tRNA, die Heterogenitäten verursachen könnte, und so sauber, dass wir die individuellen Ladungszustände ganzer Ribosomen massenspektrometrisch bestimmen konnten.<sup>[83]</sup> Dies führte zu einem ersten Durchbruch, der uns einen tetragonalen Kristall des 70S-Ribosoms lieferte. Die erreichte Auflösung von 6 Å genügte, um die Terminationsfaktoren RF1 und RF2 gebunden an ihre jeweiligen Stoppcodons in der RNA zu erkennen,<sup>[84]</sup> reichte aber nicht aus, um vollständige Details dieser Wechselwirkungen mit dem Stoppcodon oder dem Peptidyltransferasenzentrum zu erschließen.

Als wir versuchten, einen Komplex des Elongationsfaktors G (EF-G) am Ribosom zu kristallisieren, der durch Fusidinsäure im Posttranslokationsstadium nach GTP-Hydrolyse eingefroren war, erhielten wir eine neue orthorhombische Kristallform des Ribosoms, deren Beugung eine Auflösung von etwa 4.5 Å erwarten ließ. Eine erste Elektronendichtekarte zeigte jedoch keine Anzeichen von EF-G in der Struktur, und tatsächlich würde gebundenes EF-G mit einem benachbarten Ribosom im Kristallgitter kollidieren. Trotzdem hielten wir diese neue Form für aussichtsreich genug, um an der Verbesserung zu arbeiten, und erhielten schließlich eine Struktur des ganzen Ribosoms mit mRNA- und tRNA-Liganden mit der überraschend hohen Auflösung von 2.8 Å<sup>[85]</sup> (Abbildung 15). Diese Struktur bot einen Reichtum an Informationen über die Wechselwirkung der mRNA und tRNA mit dem Ribosom, der Natur der Berührungsfläche zwischen den Untereinheiten und der Rolle von Magnesiumionen in der Struktur. Aber vielleicht so wichtig wie die Struktur selbst war die Tatsache, dass diese neue Kristallform einen Weg vorzeichnete, die Struktur des Ribosoms im Komplex mit verschiedenen Faktoren zu bestimmen. Wir verwendeten sie zunächst, um die Struktur eines Komplexes mit dem Ribosomen-Recyclierungsfaktor (RFF)<sup>[86]</sup> und Zwischenstadien der Peptidyltransferasereaktion<sup>[87]</sup> zu lösen. Außerdem bestimmten wir mit dieser Kristallform, ebenso wie die Arbeitsgruppe von Noller, die Struktur des Ribosoms im Komplex mit RF1 und RF2,<sup>[88–90]</sup> um so Licht in die Termination der Translation zu bringen. Die gleiche Form wurde auch zur Untersuchung des Elongationsfaktors EF-P<sup>[91]</sup> und der Antibiotika Viomycin und Capreomycin verwendet.<sup>[92]</sup> Bei all diesem umfangreichen Nutzen war die Kristallform wegen der besonderen Packung des Kristallgitters aber nicht geeig-



**Abbildung 15.** Das gesamte 70S-Ribosom mit mRNA und tRNAs, nachgezeichnet von einer Struktur mit 2.8 Å Auflösung.<sup>[85]</sup> Der kurze mRNA-Abschnitt (magenta) ist kaum zu sehen, weil er in eine Spalte in der 30S-Untereinheit eingebettet ist.

net, um ribosomengebundene GTPase-Faktoren wie EF-G oder EF-Tu zu untersuchen.

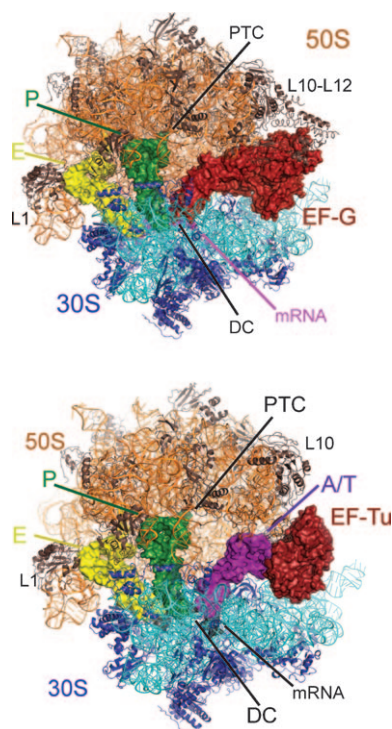
#### Die Struktur des Ribosoms mit GTPase-Faktoren

Charakteristisch für jede bis dahin untersuchte Kristallform des Ribosoms unabhängig von der Raumgruppe oder der Art war, dass das Protein L9 von einem Nachbarmolekül im Kristallgitter so an die 30S-Untereinheit band, dass die Bindestelle für die GTPase-Faktoren blockiert war. Als wir die hochauflösende Kristallform des 70S-Ribosoms wie oben beschrieben züchteten, beobachteten wir, dass sogar in einem stabilen Komplex wie dem von EF-G und Fusidinsäure mit dem Ribosom die Wechselwirkung mit L9 stark genug ist, um den Faktor während der Kristallisation vom Ribosom zu verdrängen. So waren wir über viele Jahre nicht in Lage, neue Kristallformen zu gewinnen, die mit Komplexen mit GTPase-Faktoren kompatibel waren, solange L9 vorhanden war. Es war bekannt, dass L9 in *E. coli* verzichtbar war,<sup>[93]</sup> und so war es naheliegend anzunehmen, dass dies auch bei *Thermus thermophilus* der Fall ist. Daher entfernten wir mit genetischen Methoden aus *Thermus*<sup>[94]</sup> das Gen für den Teil von L9, der aus dem Ribosom herausragt. Es zeigte sich, dass auch der restliche Teil von L9 nicht in die Ribosomen eingebaut wurde, sodass es war, als hätten wir das gesamte Gen deletiert.

Unsere anfängliche Hoffnung war, dass die mutierten Ribosomen noch in der gleichen Weise kristallisieren würden wie unsere hochauflösenden Kristalle,<sup>[85]</sup> gleichzeitig aber die GTPase-Faktoren binden würden. Unglücklicherweise verhinderte das Fehlen von L9 jedoch die Kristallisation in dieser Form. Eine umfangreiche Suche nach neuen Kristallisationsbedingungen ergab zwar einige Treffer für einen EF-Tu-Komplex mit dem Ribosom, doch wurden diese nicht weiterverfolgt, weil die betreffenden Mitarbeiter (Frank Murphy und John Weir) beide die Arbeitsgruppe verließen.

Nach weiteren Kristallisationsversuchen, die wir von Grund auf neu versuchten, erhielten wir eine neue Kristall-





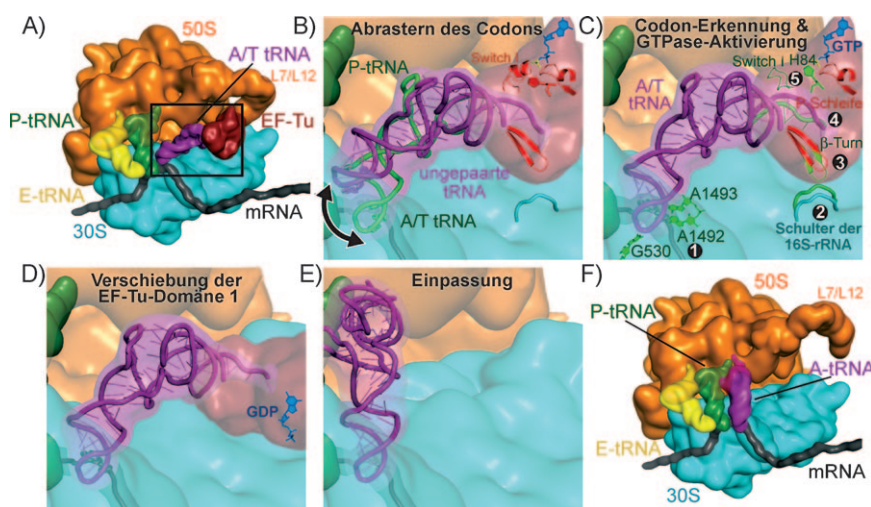
**Abbildung 16.** Die Strukturen der GTPasen EF-G (oben) und EF-Tu (unten) im Komplex mit dem 70S-Ribosom.<sup>[95,96]</sup> PTC: Peptidyltransferasezentrum, DC: Decodierungszentrum, E: tRNA in der E-Stelle, P: tRNA in der P-Stelle, A/T: verzerrte tRNA im Komplex mit EF-Tu in der A-Stelle. Die Bögen von L1 und L10–L12 sind ebenfalls eingezeichnet.

form eines EF-G/Fusidinsäure-Komplexes mit dem Ribosom, das den Originalkristallen des EF-Tu-Komplexes sehr ähnelt. Die Kristalle beugten mit einer Auflösung von etwa 3.5 Å und zeigten die Struktur eines posttranslationalen Komplexes mit EF-G.<sup>[95]</sup> Diese Struktur enthüllte viele Details über die Wechselwirkung von EF-G mit dem Ribosom und über Codon und Anticodon. Weil Fusidinsäure eine sehr niedrige Affinität zu isoliertem EF-G hat, zeigte die Struktur auch direkt, wie Fusidinsäure an EF-G bindet und es in einer Konformation blockiert, die die Ablösung vom Ribosom verhindert.

#### Die Struktur des Ribosoms mit EF-Tu und Aminoacyl-tRNA

Die Kristallisation des EF-G/Fusidinsäure-Komplexes mit dem Ribosom gab uns neuen Auftrieb, die Originalkristalle mit dem EF-Tu/tRNA-Ribosomenkomplex weiter zu verfolgen. Nach beträchtlicher Optimierung der Ausgangsbedingungen erhielten wir Kristalle des ternären Komplexes, dessen Struktur wir bestimmen konnten.<sup>[96]</sup> Die Strukturen von EF-G und EF-Tu im Komplex mit dem Ribosom sind in Abbildung 16 gezeigt. Die Konformation des Faktors gleicht derjenigen, die schon zuvor bei niedrigerer Auflösung im Kryo-EM sichtbar war.

Der EF-Tu-Komplex bot in der Zusammenschau mit früheren Untersuchungen an der 30S-Untereinheit einen vollständigeren Einblick in die strukturelle Basis der Decodierung. Die Daten legten eine Abfolge von Ereignissen nahe, die erklären konnten, wie die Erkennung des Codons zur GTP-Hydrolyse durch EF-Tu und zur Koordination der tRNA führt (Abbildung 17),<sup>[96]</sup> und die mit den kinetischen Daten in Einklang zu bringen waren.<sup>[67,97]</sup> Durch die Erkennung des Codons wird die Konformationsänderung der drei Basen A1492, A1493 und G530 induziert (Abbildung 17), die die kleine Furche der Codon-Anticodon-Helix erkennen (siehe oben).<sup>[72]</sup> Diese Erkennung der kleinen Furche stabilisiert die gebogene Form der tRNA im Komplex, indem sie die Position der Anticodon-Schleife im Decodierungszentrum stabilisiert. Außerdem induziert sie eine Schließbewegung der Schulter zu EF-Tu hin, wo sie mit einer hochkonservierten Schleife von EF-Tu in Kontakt tritt und den Faktor so in der veränderten Konformation fixiert (Abbildung 17D). Zur gleichen Zeit stabilisiert eine Stapelwechselwirkung zwischen der Schulter und C75 der tRNA eine gespannte Konformation des Aminoacyl-3'-Endes der tRNA. Die Verdrängung des 3'-Endes der tRNA unterbricht die stabilisierenden Wechselwirkungen mit der entscheidenden Switch-I-Helix von EF-



**Abbildung 17.** Ablauf der Decodierung, der zur tRNA-Selektion durch das Ribosom führt. A) Der L7/L12-Bogen lagert den Komplex aus EF-Tu-GTP und Aminoacyl-tRNA an ein Ribosom mit deacylierter tRNA in der E-Stelle und einer Peptidyl-tRNA in der P-Stelle an. Der schwarze Rahmen ist in (B–E) vergrößert dargestellt. B) Die tRNA tastet die Codon-Anticodon-Paarung ab, bis eine passende Kombination (C) im Decodierungszentrum durch die Nucleotide 530 und 1492/3 registriert wird ①. Die Codon-Erkennung löst das Schließen der Domänen der 30S-Untereinheit aus ② und bringt dadurch die Schulterdomäne in Kontakt mit EF-Tu, was die  $\beta$ -Schleife der Domäne 2 bei 230–237 verschiebt ③. Dies verändert die Konformation des Akzeptor-Endes der tRNA ④ und unterbricht dessen Kontakt zu Schalter I, der daraufhin seine feste Position verliert ⑤ und durch Öffnung des hydrophoben Gatters die Hydrolyse von GTP durch His84 ermöglicht. D) GTP-Hydrolyse und Phosphatfreisetzung verursachen eine Umorientierung der EF-Tu-Domänen, sodass das Protein sich vom Ribosom ablöst und E,F) die Aminoacyl-tRNA gebunden wird. Wiedergabe nach Lit. [96].

Tu, die daraufhin die feste Positionierung verliert und GTP für die Hydrolyse exponiert. Dadurch bedingt ändert sich die Konformation von EF-Tu zur GDP-Form.<sup>[98–101]</sup> In dieser GDP-Form kann das Protein nur wenige Wechselwirkungen mit dem Ribosom eingehen und hat auch eine niedrigere Affinität zur tRNA. EF-Tu dissoziiert daher vom Ribosom ab, und die verzerrte tRNA entspannt sich und bewegt sich ins Peptidyltransferasezentrum (Abbildung 17E).

### Ausblick

Die erfolgreiche Bestimmung der hochaufgelösten Strukturen der ribosomalen Untereinheiten und dann des gesamten Ribosoms war die Krönung jahrzehntelanger Anstrengungen. Erzielt wurde dieser Erfolg im Kontext umfangreicher biochemischer und genetischer Arbeiten, deren Ergebnisse das Rüstzeug für das Verständnis der Funktion und Struktur des Ribosoms lieferten. Die Grundlage hierfür waren zahlreiche technische Entwicklungen, einschließlich Synchrotron-Strahlungsquellen, besseren und schnelleren Computern, besserer Software für die Kristallographie und besserer Hard- und Software zur Darstellung und Interpretation der Strukturen. Die ersten Strukturen wiesen den Weg zu den Strukturen einer Reihe wichtiger funktionaler Zustände, die Aufschluss über die Mechanismen der Translation gaben und auch zunehmend ausgefeiltere biochemische und genetische Experimente und Moleküldynamikstudien möglich machten.

Trotz allem bleiben viele wichtige Fragen zur Struktur offen. Für die bakterielle Translation steht noch eine detaillierte Darstellung der Initiationsschritte aus, und auch die Bewegungen zwischen den Untereinheiten, die an Translokation<sup>[102]</sup> und am Recycling beteiligt sind, müssen noch näher erforscht werden. Die Wechselwirkungen des Ribosoms und der wachsenden Kette mit dem Signalerkennungspartikel und dem Translokon sind ebenfalls noch unverstanden. Noch rätselhafter als die bakteriellen Ribosomen sind die Ribosomen von Eukaryoten und Mitochondrien. Die Aufklärung der Translationsinitiation bei Eukaryoten würde durch hochaufgelöste Strukturinformationen weit vorangebracht werden. In Zusammenhang mit anderen laufenden Arbeiten mit einer Vielzahl von Techniken werden diese Bemühungen grundlegende Einblicke in die Regulation und Mechanismen der Genexpression gewähren.

*Ich danke all den Generationen von Postdocs, Studenten und Forschungsassistenten, ohne die keine der Arbeiten in meinem Labor möglich gewesen wäre, sowie auch den großartigen Kollegen an den verschiedenen Institutionen, an denen ich gearbeitet habe, darunter das Brookhaven National Laboratory, die University of Utah und das MRC Laboratory of Molecular Biology in Cambridge. Den US National Institutes of Health und dem UK Medical Research Council danke ich für die langjährige Unterstützung meiner Arbeiten, ebenso wie dem Wellcome Trust, dem Agouron Institute und der Louis Jeantet Foundation für aktuelle Förderung.*

Eingegangen am 10. März 2010  
Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- [1] „On degenerate templates and the adaptor hypothesis (a note for the RNA Tie Club)“: F. H. C. Crick, **1955**.
- [2] „A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis“: M. B. Hoagland, M. L. Stephenson, H. F. Scott, L. I. Hecht, P. C. Zamecnik, *J. Biol. Chem.* **1958**, 231, 241–257.
- [3] Ein Rückblick auf diese Ereignisse: „Enter transfer RNA“: M. Hoagland, *Nature* **2004**, 431, 249.
- [4] „Structure of a Ribonucleic Acid“: R. W. Holley, J. Appgar, G. A. Everett, J. T. Madison, M. Marquisee, S. H. Merrill, J. R. Penswick, A. Zamir, *Science* **1965**, 147, 1462–1465.
- [5] „Structure of yeast phenylalanine tRNA at 3 Å resolution“: J. D. Robertus, J. E. Ladner, J. T. Finch, D. Rhodes, R. S. Brown, B. F. Clark, A. Klug, *Nature* **1974**, 250, 546–551.
- [6] „Three-dimensional tertiary structure of yeast phenylalanine transfer RNA“: S. H. Kim, F. L. Suddath, G. J. Quigley, A. McPherson, J. L. Sussman, A. H. Wang, N. C. Seeman, A. Rich, *Science* **1974**, 185, 435–440.
- [7] „Pancreatic microsomes; an integrated morphological and biochemical study“: G. E. Palade, P. Siekevitz, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **1956**, 2, 671–690.
- [8] „The wandering pathway to determining the N to C synthesis of proteins“: H. M. Dintzis, *BAMBED* **2006**, 34, 241–246.
- [9] *Ribosomes* (Hrsg.: M. Nomura, A. Tissières, P. Lengyel), Cold Spring Harbor Press, New York, **1974**.
- [10] „Dissociation of macromolecular ribonucleoprotein of yeast“: F. C. Chao, *Arch. Biochem. Biophys.* **1957**, 70, 426–431.
- [11] „Ribonucleoprotein particles from *Escherichia coli*“: A. Tissières, J. D. Watson, *Nature* **1958**, 182, 778–780.
- [12] „Ultracentrifugal characterization of the mitochondrial ribosome and subribosomal particles of bovine liver: molecular size and composition“: M. G. Hamilton, T. W. O'Brien, *Biochemistry* **1974**, 13, 5400–5403.
- [13] „A complete mapping of the proteins in the small ribosomal subunit of *Escherichia coli*“: M. S. Capel, D. M. Engelman, B. R. Freeborn, M. Kjeldgaard, J. A. Langer, V. Ramakrishnan, D. G. Schindler, D. K. Schneider, B. P. Schoenborn, I.-Y. Sillers, S. Yabuki, P. B. Moore, *Science* **1987**, 238, 1403–1406.
- [14] „Use of T7 RNA polymerase to direct expression of cloned genes“: F. W. Studier, A. H. Rosenberg, J. J. Dunn, J. W. Dubendorff, *Methods Enzymol.* **1990**, 185, 61–89.
- [15] „Cloning, sequencing and overexpression of genes for ribosomal proteins from *Bacillus stearothermophilus*“: V. Ramakrishnan, S. E. Gerchman, *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 880–885.
- [16] „Ribosomal protein structures: insights into the architecture, machinery and evolution of the ribosome“: V. Ramakrishnan, S. W. White, *Trends Biochem. Sci.* **1998**, 23, 208–212.
- [17] „Packing of ribosomes in crystals from the lizard *Lacerta sicula*“: P. N. Unwin, C. Taddei, *J. Mol. Biol.* **1977**, 114, 491–506.
- [18] „Crystallization of the large ribosomal subunits from *Bacillus stearothermophilus*“: A. Yonath, J. Mussig, B. Tesche, S. Lorenz, V. A. Erdmann, H. G. Wittmann, *Biochem. Int.* **1980**, 1, 428–435.
- [19] „Characterization and preliminary attempts for derivatization of crystals of large ribosomal subunits from *Haloarcula marismortui* diffracting to 3 Å resolution“: K. von Böhlen, I. Makowski, H. A. S. Hansen, H. Bartels, Z. Berkovitch-Yellin, A. Zaytzev-Bashan, S. Meyer, C. Paulke, F. Franceschi, A. Yonath, *J. Mol. Biol.* **1991**, 222, 11–15.
- [20] „Crystallization of 70 S ribosomes and 30S ribosomal subunits from *Thermus thermophilus*“: S. D. Trakhanov, M. M. Yusupov, S. C. Agalarov, M. B. Garber, S. N. Ryazantsev, S. V. Tischenko, V. A. Shirokov, *FEBS Lett.* **1987**, 220, 319–322.

- [21] „Crystallization of 30S ribosomal subunits from *T. thermophilus*“: M. M. Yusupov, S. D. Trakhanov, V. V. Barynin, V. L. Borovyagin, M. B. Garber, O. M. Sedelnikova, S. V. Tishchenko, V. A. Shirokov, *Dokl. Akad. Nauk USSR* **1987**, 292, 1271–1274.
- [22] „Characterization of crystals of small ribosomal subunits“: A. Yonath, C. Glotz, H. S. Gewitz, K. S. Bartels, K. von Böhlen, L. Makowski, H. G. Wittmann, *J. Mol. Biol.* **1988**, 203, 831–834.
- [23] „Cryocrystallography of biological macromolecules: A generally applicable method“: H. Hope, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1988**, 44, 22–26.
- [24] „Cryocrystallography of ribosomal particles“: H. Hope, F. Frolow, K. von Böhlen, I. Makowski, C. Kratky, Y. Halfon, H. Danz, P. Webster, K. S. Bartels, H. G. Wittmann, A. Yonath, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1989**, 45, 190–199.
- [25] „Three-dimensional reconstruction of the *Escherichia coli* 30S ribosomal subunit in ice“: K. R. Lata, R. K. Agrawal, P. Penczek, R. Grassucci, J. Zhu, J. Frank, *J. Mol. Biol.* **1996**, 262, 43–52.
- [26] „X-ray crystallography shows that translational initiation factor IF3 consists of two compact alpha/beta domains linked by an alpha-helix“: V. Biou, F. Shu, V. Ramakrishnan, *EMBO J.* **1995**, 14, 4056–4064.
- [27] „Location of translational initiation factor IF3 on the small ribosomal subunit“: J. P. McCutcheon, R. K. Agrawal, S. M. Philips, R. A. Grassucci, S. E. Gerchman, W. M. Clemons, Jr., V. Ramakrishnan, J. Frank, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 4301–4306.
- [28] „Interaction of translation initiation factor 3 with the 30S ribosomal subunit“: A. Dallas, H. F. Noller, *Mol. Cell* **2001**, 8, 855–864.
- [29] „The cryo-EM structure of a translation initiation complex from *Escherichia coli*“: G. S. Allen, A. Zavialov, R. Gursky, M. Ehrenberg, J. Frank, *Cell* **2005**, 121, 703–712.
- [30] „A role for proteins S3 and S14 in the 30S ribosomal subunit“: V. Ramakrishnan, V. Graziano, M. S. Capel, *J. Biol. Chem.* **1986**, 261, 15049–15052.
- [31] „Crystal structure of the 30S ribosomal subunit from *Thermus thermophilus*: purification, crystallization and structure determination“: W. M. Clemons, Jr., D. E. Brodersen, J. P. McCutcheon, J. L. May, A. P. Carter, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *J. Mol. Biol.* **2001**, 310, 827–843.
- [32] „Structure of a bacterial 30S ribosomal subunit at 5.5 Å resolution“: W. M. Clemons, Jr., J. L. May, B. T. Wimberly, J. P. McCutcheon, M. S. Capel, V. Ramakrishnan, *Nature* **1999**, 400, 833–840.
- [33] „The use of anomalous scattering effects to phase diffraction patterns from macromolecules“: J. C. Phillips, K. O. Hodgson, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1980**, 36, 856–864.
- [34] „Crystallographic structure analysis of lamprey hemoglobin from anomalous dispersion of synchrotron radiation“: W. A. Hendrickson, J. L. Smith, R. P. Phizackerley, E. A. Merritt, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1988**, 4, 77–88.
- [35] „Selenomethionyl proteins produced for analysis by multiwavelength anomalous diffraction (MAD): a vehicle for direct determination of three-dimensional structure“: W. A. Hendrickson, J. R. Horton, D. M. LeMaster, *EMBO J.* **1990**, 9, 1665–1672.
- [36] „Crystal structure of globular domain of histone H5 and its implications for nucleosome binding“: V. Ramakrishnan, J. T. Finch, V. Graziano, P. L. Lee, R. M. Sweet, *Nature* **1993**, 362, 219–223.
- [37] „Treatment of multiwavelength anomalous diffraction data as a special case of multiple isomorphous replacement“: V. Ramakrishnan, V. Biou in *Methods Enzymol.* (Hrsg.: C. W. Carter, Jr., R. M. Sweet), Academic Press, New York, **1997**, S. 538–557.
- [38] „Multiwavelength anomalous diffraction analysis at the M absorption edges of uranium“: Y. Liu, C. M. Ogata, W. A. Hendrickson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 10648–10653.
- [39] „Structure of the calcium-dependent lectin domain from a rat mannose-binding protein determined by MAD phasing“: W. I. Weis, R. Kahn, R. Fourme, K. Drickamer, W. A. Hendrickson, *Science* **1991**, 254, 1608–1615.
- [40] „Probing ribosome structure by europium-induced RNA cleavage“: S. Dorner, A. Barta, *Biol. Chem.* **1999**, 380, 243–251.
- [41] „Crystal structure of a group I ribozyme domain: principles of RNA packing“: 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.
- [42] „Metal-binding sites in the major groove of a large ribozyme domain“: J. H. Cate, J. A. Doudna, *Structure* **1996**, 4, 1221–1229.
- [43] „A 9 Å resolution x-ray crystallographic map of the large ribosomal subunit“: 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.
- [44] „The suitability of multi-metal clusters for phasing in crystallography of large macromolecular assemblies“: J. Thygesen, S. Weinstein, F. Franceschi, A. Yonath, *Structure* **1996**, 4, 513–518.
- [45] „RNA-protein interactions in 30S ribosomal subunits: folding and function of 16S rRNA“: S. Stern, T. Powers, L. M. Changchien, H. F. Noller, *Science* **1989**, 244, 783–790.
- [46] „Hydroxyl radical footprinting of ribosomal proteins on 16S rRNA“: T. Powers, H. F. Noller, *RNA* **1995**, 1, 194–209.
- [47] „X-ray crystal structures of 70S ribosome functional complexes“: J. H. Cate, M. M. Yusupov, G. Z. Yusupova, T. N. Earnest, H. F. Noller, *Science* **1999**, 285, 2095–2104.
- [48] „Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution“: M. M. Yusupov, G. Z. Yusupova, A. Baucom, K. Lieberman, T. N. Earnest, J. H. Cate, H. F. Noller, *Science* **2001**, 292, 883–896.
- [49] „The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution“: N. Ban, P. Nissen, J. Hansen, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Science* **2000**, 289, 905–920.
- [50] „Structure of the 30S ribosomal subunit“: B. T. Wimberly, D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., R. J. Morgan-Warren, A. P. Carter, C. Vornrhein, T. Hartsch, V. Ramakrishnan, *Nature* **2000**, 407, 327–339.
- [51] „Structure of functionally activated small ribosomal subunit at 3.3 angstroms resolution“: F. Schluenzen, A. Tocilj, R. Zarivach, J. Harms, M. Gluehmann, D. Janell, A. Bashan, H. Bartels, I. Agmon, F. Franceschi, A. Yonath, *Cell* **2000**, 102, 615–623.
- [52] „Crystal structure of the 30S ribosomal subunit from *Thermus thermophilus*: Structure of the proteins and their interactions with 16S RNA“: D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., A. P. Carter, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *J. Mol. Biol.* **2002**, 316, 725–768.
- [53] „Crystal structures of complexes of the small ribosomal subunit with tetracycline, edeine and IF3“: M. Pioletti, F. Schlünzen, J. Harms, R. Zarivach, M. Gluehmann, H. Avila, A. Bashan, H. Bartels, T. Auerbach, C. Jacobi, T. Hartsch, A. Yonath, F. Franceschi, *EMBO J.* **2001**, 20, 1829–1839.
- [54] „Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics“: A. P. Carter, W. M. Clemons, Jr., D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Nature* **2000**, 407, 340–348.
- [55] „The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis“: P. Nissen, J. Hansen, N. Ban, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Science* **2000**, 289, 920–930.
- [56] „The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit“: D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., A. P. Carter,



- R. J. Morgan-Warren, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Cell* **2000**, *103*, 1143–1154.
- [57] „Structure of the A site of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA complexed with an aminoglycoside antibiotic“: D. Fourmy, M. I. Recht, S. C. Blanchard, J. D. Puglisi, *Science* **1996**, *274*, 1367–1371.
- [58] „Structural Insights into Translational Fidelity“: J. M. Ogle, V. Ramakrishnan, *Annu. Rev. Biochem.* **2005**, *74*, 129–177.
- [59] „Codon-anticodon pairing: the wobble hypothesis“: F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* **1966**, *19*, 548–555.
- [60] „Streptomycin, suppression, and the code“: J. Davies, W. Gilbert, L. Gorini, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1964**, *51*, 883–890.
- [61] „Tryptophan transfer RNA as the UGA suppressor“: D. Hirsh, *J. Mol. Biol.* **1971**, *58*, 439–458.
- [62] „Kinetic proofreading: a new mechanism for reducing errors in biosynthetic processes requiring high specificity“: J. J. Hopfield, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, *71*, 4135–4139.
- [63] „Kinetic amplification of enzyme discrimination“: J. Ninio, *Biochimie* **1975**, *57*, 587–595.
- [64] „Proofreading of the codon-anticodon interaction on ribosomes“: R. C. Thompson, P. J. Stone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 198–202.
- [65] „Is there proofreading during polypeptide synthesis?“: T. Ruusala, M. Ehrenberg, C. G. Kurland, *EMBO J.* **1982**, *1*, 741–745.
- [66] „Energetics of internal GU mismatches in ribooligonucleotide helices“: N. Sugimoto, R. Kierzek, S. M. Freier, D. H. Turner, *Biochemistry* **1986**, *25*, 5755–5759.
- [67] „Induced fit in initial selection and proofreading of aminoacyl-tRNA on the ribosome“: T. Pape, W. Wintermeyer, M. Rodnina, *EMBO J.* **1999**, *18*, 3800–3807.
- [68] „Paromomycin binding induces a local conformational change in the A-site of 16S rRNA“: D. Fourmy, S. Yoshizawa, J. D. Puglisi, *J. Mol. Biol.* **1998**, *277*, 333–345.
- [69] „Conformational switch in the decoding region of 16S rRNA during aminoacyl-tRNA selection on the ribosome“: T. Pape, W. Wintermeyer, M. V. Rodnina, *Nat. Struct. Biol.* **2000**, *7*, 104–107.
- [70] „Selection of tRNA by the ribosome requires a transition from an open to a closed form“: J. M. Ogle, F. V. Murphy, M. J. Tarry, V. Ramakrishnan, *Cell* **2002**, *111*, 721–732.
- [71] „Crystal structure of an initiation factor bound to the 30S ribosomal subunit“: A. P. Carter, W. M. Clemons, Jr., D. E. Brodersen, R. J. Morgan-Warren, T. Hartsch, B. T. Wimberly, V. Ramakrishnan, *Science* **2001**, *291*, 498–501.
- [72] „Recognition of cognate transfer RNA by the 30S ribosomal subunit“: J. M. Ogle, D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., M. J. Tarry, A. P. Carter, V. Ramakrishnan, *Science* **2001**, *292*, 897–902.
- [73] „Visualization of elongation factor Tu on the *Escherichia coli* ribosome“: H. Stark, M. V. Rodnina, J. Rinke-Appel, R. Brimacombe, W. Wintermeyer, M. van Heel, *Nature* **1997**, *389*, 403–406.
- [74] „Cryo-EM reveals an active role for aminoacyl-tRNA in the accommodation process“: M. Valle, J. Sengupta, N. K. Swami, R. A. Grassucci, N. Burkhardt, K. H. Nierhaus, R. K. Agrawal, J. Frank, *EMBO J.* **2002**, *21*, 3557–3567.
- [75] „Ribosome interactions of aminoacyl-tRNA and elongation factor Tu in the codon-recognition complex“: H. Stark, M. V. Rodnina, H. J. Wieden, F. Zemlin, W. Wintermeyer, M. Van Heel, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, *9*, 849–854.
- [76] „Incorporation of aminoacyl-tRNA into the ribosome as seen by cryo-electron microscopy“: M. Valle, A. Zavialov, W. Li, S. M. Stagg, J. Sengupta, R. C. Nielsen, P. Nissen, S. C. Harvey, M. Ehrenberg, J. Frank, *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 899–906.
- [77] „tRNA on the ribosome: a waggle theory“: M. Yarus, D. Smith in *tRNA: Structure, Biosynthesis and Function* (Hrsg.: D. Söll, U. RajBhandary), American Society for Microbiology Press, Washington, **1995**, S. 443–468.
- [78] „Ribosome-induced changes in elongation factor Tu conformation control GTP hydrolysis“: 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.
- [79] „GTPase activation of elongation factor EF-Tu by the ribosome during decoding“: J. C. Schuette, F. V. Murphy IV, A. C. Kelley, J. R. Weir, J. Giesebrecht, S. R. Connell, J. Loerke, T. Mielke, W. Zhang, P. A. Penczek, V. Ramakrishnan, C. M. Spahn, *EMBO J.* **2009**, *28*, 755–765.
- [80] „Structure of the L1 protuberance in the ribosome“: A. Nikulin, I. Eliseikina, S. Tishchenko, N. Nevskaya, N. Davydova, O. Platonova, W. Piendl, M. Selmer, A. Liljas, D. Drygin, R. Zimmermann, M. Garber, S. Nikonov, *Nat. Struct. Biol.* **2003**, *10*, 104–108.
- [81] „Structural basis for the function of the ribosomal L7/12 stalk in factor binding and GTPase activation“: M. Diaconu, U. Kothe, F. Schlünzen, N. Fischer, J. M. Harms, A. G. Tonevitsky, H. Stark, M. V. Rodnina, M. C. Wahl, *Cell* **2005**, *121*, 991–1004.
- [82] „Structures of the bacterial ribosome at 3.5 Å resolution“: B. S. Schuwirth, M. A. Borovinskaya, C. W. Hau, W. Zhang, A. Vila-Sanjurjo, J. M. Holton, J. H. Cate, *Science* **2005**, *310*, 827–834.
- [83] „Heptameric (L12)6/L10 rather than canonical pentameric complexes are found by tandem MS of intact ribosomes from thermophilic bacteria“: L. L. Ilag, H. Videler, A. R. McKay, F. Sobott, P. Fucini, K. H. Nierhaus, C. V. Robinson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 8192–8197.
- [84] „Crystal structures of the ribosome in complex with release factors RF1 and RF2 bound to a cognate stop codon“: S. Petry, D. E. Brodersen, F. V. Murphy IV, C. M. Dunham, M. Selmer, M. J. Tarry, A. C. Kelley, V. Ramakrishnan, *Cell* **2005**, *123*, 1255–1266.
- [85] „Structure of the 70S ribosome complexed with mRNA and tRNA“: M. Selmer, C. M. Dunham, F. V. Murphy IV, A. Weixlbaumer, S. Petry, A. C. Kelley, J. R. Weir, V. Ramakrishnan, *Science* **2006**, *313*, 1935–1942.
- [86] „Crystal structure of the ribosome recycling factor bound to the ribosome“: A. Weixlbaumer, S. Petry, C. M. Dunham, M. Selmer, A. C. Kelley, V. Ramakrishnan, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2007**, *14*, 733–737.
- [87] „Insights into substrate stabilization from snapshots of the peptidyl transferase center of the intact 70S ribosome“: R. M. Voorhees, A. Weixlbaumer, D. Loakes, A. C. Kelley, V. Ramakrishnan, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2009**, *16*, 528–533.
- [88] „Structural basis for translation termination on the 70S ribosome“: M. Laurberg, H. Asahara, A. Korostelev, J. Zhu, S. Trakhanov, H. F. Noller, *Nature* **2008**, *454*, 852–857.
- [89] „Insights into translational termination from the structure of RF2 bound to the ribosome“: A. Weixlbaumer, H. Jin, C. Neubauer, R. M. Voorhees, S. Petry, A. C. Kelley, V. Ramakrishnan, *Science* **2008**, *322*, 953–956.
- [90] „Crystal structure of a translation termination complex formed with release factor RF2“: A. Korostelev, H. Asahara, L. Lancaster, M. Laurberg, A. Hirschi, J. Zhu, S. Trakhanov, W. G. Scott, H. F. Noller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 19684–19689.
- [91] „Formation of the first peptide bond: the structure of EF-P bound to the 70S ribosome“: G. Blaha, R. E. Stanley, T. A. Steitz, *Science* **2009**, *325*, 966–970.
- [92] „The structures of the anti-tuberculosis antibiotics viomycin and capreomycin bound to the 70S ribosome“: R. E. Stanley, G. Blaha, R. L. Grodzicki, M. D. Strickler, T. A. Steitz, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2010**, *17*, 289.
- [93] „The 23 S rRNA environment of ribosomal protein L9 in the 50 S ribosomal subunit“: K. R. Lieberman, M. A. Firpo, A. J. Herr,

- T. Nguyenle, J. F. Atkins, R. F. Gesteland, H. F. Noller, *J. Mol. Biol.* **2000**, 297, 1129–1143.
- [94] „Extending ribosomal protein identifications to unsequenced bacterial strains using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry“: M. J. Suh, D. M. Hamburg, S. T. Gregory, A. E. Dahlberg, P. A. Limbach, *Proteomics* **2005**, 5, 4818–4831.
- [95] „The structure of the ribosome with elongation factor G trapped in the posttranslocational state“: Y. G. Gao, M. Selmer, C. M. Dunham, A. Weixlbaumer, A. C. Kelley, V. Ramakrishnan, *Science* **2009**, 326, 694–699.
- [96] „The crystal structure of the ribosome bound to EF-Tu and aminoacyl-tRNA“: T. M. Schmeing, R. M. Voorhees, A. C. Kelley, Y. G. Gao, F. V. Murphy IV, J. R. Weir, V. Ramakrishnan, *Science* **2009**, 326, 688–694.
- [97] „Complete kinetic mechanism of elongation factor Tu-dependent binding of aminoacyl-tRNA to the A site of the *E. coli* ribosome“: T. Pape, W. Wintermeyer, M. V. Rodnina, *EMBO J.* **1998**, 17, 7490–7497.
- [98] „Structure of the GDP domain of EF-Tu and location of the amino acids homologous to ras oncogene proteins“: F. Jurnak, *Science* **1985**, 230, 32–36.
- [99] „Refined structure of elongation factor EF-Tu from *Escherichia coli*“: M. Kjeldgaard, J. Nyborg, *J. Mol. Biol.* **1992**, 223, 721–742.
- [100] „Crystal structure of active elongation factor Tu reveals major domain rearrangements“: H. Berchtold, L. Reshetnikova, C. O. Reiser, N. K. Schirmer, M. Sprinzl, R. Hilgenfeld, *Nature* **1993**, 365, 126–132.
- [101] „The crystal structure of elongation factor EF-Tu from *Thermus aquaticus* in the GTP conformation“: M. Kjeldgaard, P. Nissen, S. Thirup, J. Nyborg, *Structure* **1993**, 1, 35–50.
- [102] „Intermediate states in the movement of transfer RNA in the ribosome“: D. Moazed, H. F. Noller, *Nature* **1989**, 342, 142–148.
- [103] „Crystal structure of the ribosomal protein S6 from *Thermus thermophilus*“: M. Lindahl, L. A. Svensson, A. Liljas, S. E. Sedelnikova, I. A. Eliseikina, N. P. Fomenkova, N. Nevskaya, S. V. Nikonov, M. B. Garber, T. A. Muranova, A. I. Rykonova, R. Amons, *EMBO J.* **1994**, 13, 1249–1254.
- [104] „Insights into the decoding mechanism from recent ribosome structures“: J. M. Ogle, A. P. Carter, V. Ramakrishnan, *Trends Biochem. Sci.* **2003**, 28, 259–266.
-