

Eine OH-Gruppe ändert alles: konformative Dynamik als Grundlage für die Ligandenspezifität des Neomycin-bindenden RNA-Schalters

Elke Duchardt-Ferner[†], Sina R. Gottstein-Schmidtke[†], Julia E. Weigand, Oliver Ohlenschläger, Jan-Philip Wurm, Christian Hammann, Beatrix Suess und Jens Wöhner*

Matthias Görlach zum 60. Geburtstag gewidmet

Abstract: RNA-Schalter unterscheiden genau zwischen ihren eigentlichen Liganden und chemisch ähnlichen Molekülen. Ein bemerkenswertes Beispiel für eine sehr hohe Ligandenspezifität ist ein synthetischer auf Neomycin reagierender RNA-Schalter. Paromomycin unterscheidet sich von Neomycin nur durch die Substitution einer Amino- durch eine Hydroxygruppe. Es bindet ebenfalls an den Neomycin-RNA-Schalter, schaltet ihn aber nicht. Hier zeigen wir, dass der Verlust einiger weniger wichtiger intermolekularer Wechselwirkungen an einer einzigen Position des Paromomycin-Komplexes zu globalen Änderungen in der Konformationsdynamik der RNA führt. Außerdem identifizieren wir ein Netzwerk an intramolekularen Wechselwirkungen, über die der Verlust der lokalen intermolekularen Wechselwirkungen in entfernte Bereiche des Moleküls kommuniziert und in Änderungen der globalen Dynamik übersetzt wird. Daher beruht die Spezifität dieses RNA-Schalters auf Unterschieden in der strukturellen Dynamik und nicht auf statischen Strukturunterschieden.

RNA-Schalter sind strukturierte RNA-Elemente, die insbesondere in den 5'-untranslatierten Bereichen bakterieller mRNAs vorkommen. Durch die spezifische Bindung an nie-

dermolekulare Liganden regulieren sie die Genexpression auf der Ebene der Transkription, Translation oder der RNA-Prozessierung.^[1]

RNA-Schalter sind Knotenpunkte der metabolischen Kontrolle der zellulären Homöostase von Koenzymen, Signalmolekülen, Protein- und Nukleinsäurebausteinen und Ionen. Um in der Zelle eine angemessene regulatorische Antwort sicherzustellen, müssen RNA-Schalter in der Lage sein, sehr genau zwischen ihren eigentlichen Liganden und chemisch ähnlichen Molekülen auch dann zu unterscheiden, wenn diese in höheren Konzentrationen in der Zelle vorkommen oder wenn deren chemische Unterschiede zu den eigentlichen Liganden nur sehr gering sind.

Für einige RNA-Schalter zeigen die Röntgenkristallstrukturen ihrer Komplexe mit Liganden direkt, wie die Struktur der Ligandenbindetasche durch sterische Restriktionen dazu führt, dass auch chemisch oder strukturell sehr ähnlichen Ligandanaloga an der Bindung gehindert werden.^[2] Für andere Fälle wurde aber gezeigt, dass sowohl die regulatorisch aktiven Liganden als auch deren regulatorisch inaktive Analoga in sehr ähnlicher Art und Weise an den RNA-Schalter binden und die Bildung sehr ähnlicher RNA-Tertiärstrukturen induzieren.^[3]

Hier untersuchen wir mit atomarer Auflösung, wie der synthetische Neomycin-RNA-Schalter (Abbildung 1a) in der Lage ist, zwischen seinem eigentlichen Liganden und einem strukturell und chemisch sehr ähnlichen Analogon zu unterscheiden.^[4]

In der Hefe *S. cerevisiae* unterdrückt dieser RNA-Schalter in Anwesenheit der beiden verwandten Aminoglykoside Neomycin (NEO) und Ribostamycin (RIO) die Initiation der Translation.^[4] Dagegen ist er in Anwesenheit von Paromomycin (PAR; Abbildung 1b), das sich von NEO nur durch die Substitution einer Aminogruppe an Position 6' durch eine Hydroxygruppe unterscheidet (Abbildung 1c), regulatorisch inaktiv. Isotherme Titrationskalorimetrie zeigt, dass dieser RNA-Schalter NEO mit hoher Affinität bindet ($K_d = 10.0 \pm 2.0 \text{ nm}$), während die Affinität für PAR deutlich geringer ist ($K_d = 5.1 \pm 0.3 \mu\text{M}$; siehe Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen). Die Substitution einer einzigen NH_3^+ -Gruppe durch eine OH-Gruppe führt also zu einem ca. 500-fachen Affinitätsunterschied zwischen diesen beiden Liganden.

Um die molekularen Grundlagen für die bemerkenswerte Ligandenspezifität des Neomycin-RNA-Schalters zu verstehen, haben wir die Struktur seines Komplexes mit dem re-

[*] Dr. E. Duchardt-Ferner,^[†] Dr. S. R. Gottstein-Schmidtke,^[†]

Dr. J.-P. Wurm, Prof. Dr. J. Wöhner

Institut für Molekulare Biowissenschaften und Zentrum für Biomolekulare Magnetische Resonanz (BMRZ)

Goethe-Universität Frankfurt

Max-von-Laue-Straße 9, 60438 Frankfurt/M (Deutschland)

E-Mail: woehner@bio.uni-frankfurt.de

Dr. J. E. Weigand, Prof. Dr. B. Suess

Fachbereich Biologie, Technische Universität Darmstadt
Schnittpahnstraße 10, 64287 Darmstadt (Deutschland)

Dr. O. Ohlenschläger

Biomolekulare NMR-Spektroskopie

Leibniz-Institut für Altersforschung (Fritz-Lipmann-Institut)
Beutenbergstraße 11, 07745 Jena (Deutschland)

Prof. Dr. C. Hammann

Ribogenetics Biochemistry Lab, Jacobs Universität Bremen
28759 Bremen (Deutschland)

[†] Diese beiden Autoren haben in gleichem Maße zu dieser Arbeit beigetragen.

■ Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (RNA-Synthese, NMR-Probenpräparation, die ITC- und NMR-Experimente sowie die Protokolle für die Strukturrechnungen) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201507365> zu finden.

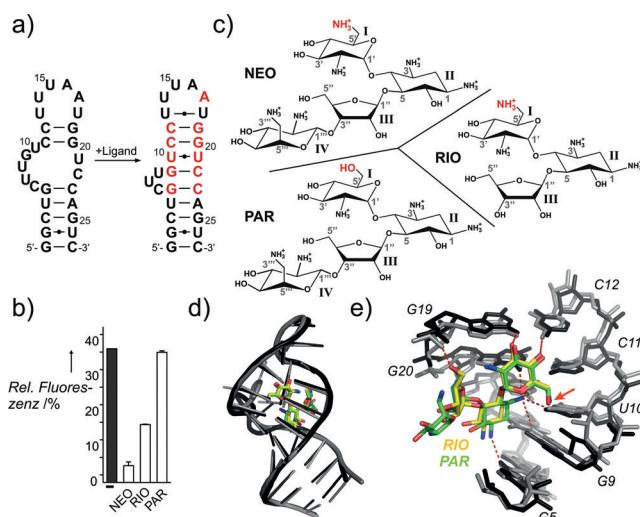


Abbildung 1. a) Sekundärstruktur des freien und des ligandengebundenen Neomycin-RNA-Schalters. Nukleotide der Ligandenbindetasche sind in rot hervorgehoben. b) Genregulatorische Aktivität des Neomycin-RNA-Schalters in einem GFP-Reportergen-Experiment in *S. cerevisiae* in Abwesenheit von Ligand (schwarz) oder in Anwesenheit von 100 µM NEO, RIO oder PAR (weiß). c) Chemische Konstitution von Neomycin (NEO), Paromomycin (PAR) und Ribostamycin (RIO). Die funktionelle Gruppe in der 6'-Position ist in rot hervorgehoben. d) Überlagerung der 3D-Strukturen des RIO- (RNA in schwarz; Ligandkohlenstoffatome in gelb) und des PAR-RNA-Schalter-Komplexes. (RNA in grau; Ligandkohlenstoffatome in grün). Ligandensauerstoffatome und -stickstoffatome sind entsprechend ihres Atomtyps eingefärbt. e) Die Ligandenbindetasche des RIO- (schwarz) und des PAR-RNA-Komplexes (grau). Wasserstoffbrücken sind durch rote Linien markiert; alle anderen Farben sind wie in d). Die 6'-funktionelle Gruppe beider Liganden ist durch einen roten Pfeil markiert.

gulatorisch inaktiven Liganden PAR in Lösung mithilfe von hochauflösender NMR-Spektroskopie gelöst. Diese Struktur haben wir mit der Struktur des regulatorisch aktiven RIO-Komplexes verglichen, über die wir schon vor einiger Zeit berichtet haben und die wir im Rahmen dieser Arbeit nochmals verfeinert haben (siehe die Hintergrundinformationen).^[5] Im Vergleich zu NEO fehlt RIO der Ring IV (Abbildung 1c). Trotzdem bildet der RNA-Schalter sowohl strukturell als auch dynamisch sehr ähnliche Komplexe mit diesen beiden Liganden.^[5b]

Die hochauflöste Struktur des PAR-RNA-Schalter-Komplexes (pdb-Eintrag 2 MXS; siehe Tabelle S2 und Abbildung S2a), die von uns de novo unabhängig von der bereits bestimmten Struktur des aktiven RIO-Komplexes gelöst wurde, ist der Struktur des RIO-Komplexes sehr ähnlich (RMSD: ca. 0.5 Å; siehe Abbildung 1d und Abbildung S2b). Diese Ähnlichkeit wird auch durch sehr ähnliche NOE-Kreuzsignalmuster und chemische Verschiebungen unterstrichen (siehe Abbildung S3–S5). In beiden Komplexen bilden die beiden helikalen Abschnitte der Schalter-RNA eine durchgehende A-Form-Helix mit Stapelwechselwirkungen zwischen den Basenpaaren G5:C23 und G9:C22. Die beiden helikalen Elemente sind formell durch einen internen „loop“ getrennt, der das Nukleotid C6 und die beiden flexi-

blen Nukleotide U7 und U8 enthält (siehe Abbildung S6). Der apikale „loop“ (U14–U18) faltet sich in ein „U-turn“-Motiv (U14–A16), das mit einem „looped-out-base“-Motiv (A16–U18) überlagert ist. Nukleotid A17 schließt die Ligandenbindestelle nach außen ab. Beide Liganden binden auf sehr ähnliche Art und Weise (siehe Abbildung 1e und Abbildung S5). Die funktionelle Gruppe in der 6'-Position beider Liganden befindet sich in beiden Komplexen in einer sehr ähnlichen Position am Übergang zwischen dem unteren und dem oberen helikalen Element (Abbildung 1e). Im regulatorisch aktiven RIO-Komplex ist die positive geladene^[6] 6'-NH₃⁺-Gruppe an der Bildung von intermolekularen Wasserstoffbrücken mit der 4-CO-Gruppe von U10 und der negativ geladenen Rückgrat-Phosphatgruppe von G9 beteiligt (Abbildung 2a,b). Außerdem geht sie intermolekulare elektrostatische Wechselwirkungen mit den N7-Stickstoffatomen von G9 und A17 ein, die zu den tieffeldverschobenen NMR-Signalen der 4-CO-Gruppe von U10^[7] (siehe Abbildung S7a) und den hochfeldverschoben N7-Resonanzen^[8] von G9 und A17 führt (Abbildung 2c).

Für den regulatorisch inaktiven PAR-Komplex zeigen quantitative ^{31}P - $\{\text{H}\}$ -Spin-Echo-Experimente^[10] wie erwartet eine skalare $^{2}\text{H}_{\text{H}_2\text{O}}$ -Kopplung über eine Wasserstoff-

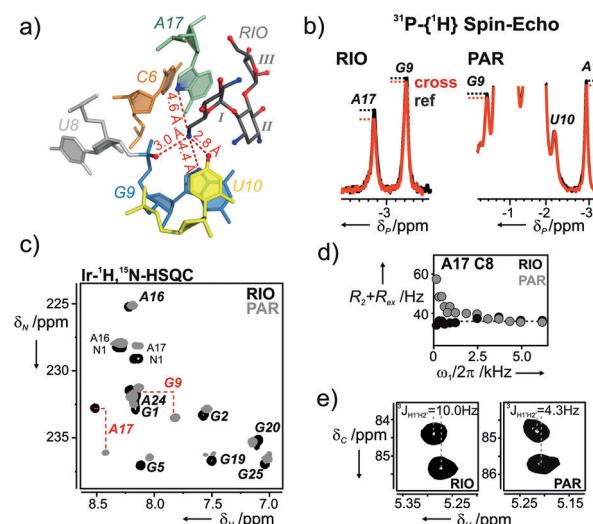


Abbildung 2. a) Intermolekulare Wasserstoffbrücken und elektrostatische Wechselwirkungen der 6'-NH₃⁺-Gruppe des RIO-Komplexes. Die Abstände zwischen dem Stickstoffatom der Aminogruppe und den Akzeptorgruppen sind angegeben. b) Ausschnitt der quantitativen ³¹P-^{{1}H}-Spin-Echo-Spektren für den RIO- (links) und den PAR-Komplex (rechts). Resonanzzuordnungen sind angegeben. Die ¹H-Entkoppelten Referenzexperimente sind in schwarz gezeigt, die Kopplungsattenuierten Kreuzexperimente in rot. c) Überlagerung des N7-Bereiches der „long-range“ ¹H-¹⁵N-HSQC-Spektren des RIO- (schwarz) und des PAR-Komplexes (grau). Purin H8/N7-Korrelationen sind mit dem Namen des Nukleotides gekennzeichnet. Adenin H2/N1-Korrelationen sind entsprechend markiert. Reste mit großen Unterschieden in den chemischen Verschiebungen zwischen den beiden Komplexen sind rot markiert. d) „On-resonant-spin-lock“-abhängige ¹³C-R_{1ρ}-Relaxationsdispersionsprofile für C8 von A17 für den RIO- (schwarz) und den PAR-Komplex (grau). e) H1'-C2'-Kreuzsignale aus HCCH-TOCSY-CCH-E.COSY-Spektren^[11] von A17 für den RIO- (links) und den PAR-Komplex (rechts). Die aus den Signalverschiebungen in der ¹H-Dimension ermittelten ³J_{H,H}-Werte sind angegeben.

brücke für die G9-Phosphatgruppe (Abbildung 2b) in Übereinstimmung mit einer Wasserstoffbrücke zur PAR-6'-OH-Gruppe. Dagegen sind die NMR-Signale für die 4-CO-Gruppe von U10 und die N7-Stickstoffatome von G9 und A17 zu Positionen verschoben, die auf die Abwesenheit von Wasserstoffbrücken hinweisen (siehe Abbildung 2c und Abbildung S7a). Im Unterschied zur 6'-NH₃⁺-Gruppe von RIO ist die 6'-OH-Gruppe von PAR also nur an einer einzigen intermolekularen Wechselwirkung beteiligt. Die Abwesenheit einer intermolekularen Wechselwirkung zwischen dem Liganden und der N7-Position von A17 im PAR-Komplex hat weiterreichende Konsequenzen. Die Nukleobase von A17, die im RIO-Komplex auf allen Zeitskalen konformativ rigide ist (siehe Abbildung 2d und Abbildung S6), zeigt im PAR-Komplex Bewegungen im μ s-Bereich (Abbildung 2d). Die erhöhte Flexibilität der A17-Nukleobase wird begleitet von einer erhöhten konformativen Flexibilität der Riboseeinheit von A17 (siehe Abbildung 2e und Abbildung S7b). Außerdem bildet die Nukleobase von C6 nur im RIO- nicht aber im PAR-Komplex stabile Stapelwechselwirkungen mit der Nukleobase von A17 (siehe Abbildung S7c).

Überraschenderweise hat der lokale Verlust von durch den 6'-Substituenten vermittelten intermolekularen Wechselwirkungen nicht nur lokale Konsequenzen für die Konformationsdynamik des RNA-Liganden-Komplexes. Apparente Wasseraustauschgeschwindigkeiten für die Iminoprotonen (siehe Abbildung 3a, Abbildung S8 und Tabelle S4) zeigen, dass mit Ausnahme des U10:U21-Basenpaares, das Teil der Ligandenbindestelle ist, auch entferntere Bereiche

der RNA im PAR-Komplex weniger stabil sind als im RIO-Komplex. Bei 30°C weisen im PAR-Komplex die Iminoprotonen des U13:U18-Basenpaars und von U14 im apikalen „loop“, der durch A17 mit der Ligandenbindestelle verknüpft ist, deutlich erhöhte Wasseraustauschgeschwindigkeiten auf. Wenn analog dazu die Wechselwirkung zwischen dem 6'-Substituenten des Liganden und dem N7-Stickstoffatom von A17 im RIO-Komplex durch eine A17C-Mutation verhindert wird, führt dies ebenfalls zu einer Destabilisierung des gesamten apikalen „loops“ und einer damit verbundenen Reduktion der regulatorischen Aktivität dieser RNA-Schalter-Mutante (siehe Abbildung S9).

Weiterhin zeigen die ¹³C-R_{1p}-Relaxationsraten für den PAR-Komplex eine deutliche Abhängigkeit von der Stärke des „Spin-lock“-Feldes nicht nur für Nukleotide der Ligandenbindetasche, sondern auch für U4 und G5 im unteren helikalen Element sowie für U18 im apikalen „loop“ (Abbildung 3b, grün). Dies belegt das Auftreten konformativer Austauschprozesse für diese Nukleotide auf einer Zeitskala von μ s zu ms. Dagegen wird für keines der Nukleotide im RIO-Komplex eine Abhängigkeit der R_{1p}-Relaxationsrate von der Stärke des „Spin-lock“-Feldes beobachtet (Abbildung 3b, gelb).^[9] Dies deutet auf eine insgesamt konformativ rigide Struktur des RIO-Komplexes hin. Wir möchten darauf hinweisen, dass die beobachteten konformativen Austauschprozesse die Dynamik des ligandengebundenen Zustandes repräsentieren und nicht durch die Dissoziation des Liganden während der Messung verursacht werden, da die den konformativen Austauschprozessen entsprechenden k_{ex}-Geschwindigkeitskonstanten für ausgewählte Nukleotide (siehe Abbildung S10) deutlich größer sind als die der Liganden-dissoziationskinetik entsprechenden Austauschbeiträge (siehe die Hintergrundinformationen). Der letztgenannte Prozess sollte außerdem alle Nukleotide der Ligandenbindetasche und des apikalen „loop“ in ähnlicher Weise beeinflussen.

Zusammengefasst zeigen unsere Daten, dass die außergewöhnliche Ligandspezifität des Neomycin-RNA-Schalters auf der Ebenen der Konformationsdynamik kodiert ist. Während ein regulatorisch inaktiver Ligand die gleiche RNA-Struktur wie ein regulatorisch aktiver Ligand induzieren kann, führt das Fehlen spezifischer intermolekulare Wechselwirkungen zu einer lokalen Destabilisierung in der Ligandenbindetasche, die dann an andere, weiter entfernte Strukturelemente weitergegeben wird (Abbildung 4a).

Die Fähigkeit regulatorisch aktiver Liganden, alle Strukturelemente des RNA-Schalters stabil miteinander zu verbinden, führt zu einem offensichtlichen Mechanismus für dessen genregulatorische Aktivität *in vivo* (Abbildung 4b): Der Neomycin-RNA-Schalter nimmt im ligandenfreien Zustand – dem regulatorischen „ON“-Zustand – eine instabile Haarnadelstruktur an, die aus zwei, durch einen internen „bulge“ separierten, helikalen Elementen besteht (siehe Abbildung 1a). Diese Struktur kann durch die kleine ribosomale Untereinheit, die den 5'-Bereich der mRNA nach dem Startkodon durchsucht, leicht aufgelöst werden (Abbildung 4b, oben).^[12] Die Bindung sowohl von aktiven als auch inaktiven Liganden induziert eine Verlängerung der oberen Helix und die koaxiale Stapelung beider helikaler Elemente.

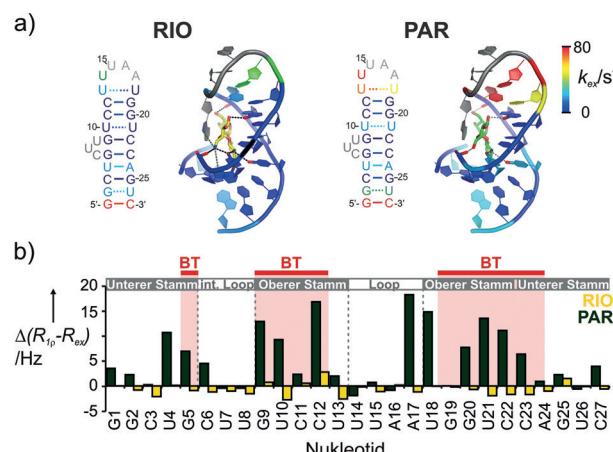


Abbildung 3. a) Wasseraustauschgeschwindigkeiten für die Iminoprotonen im RIO- (links) und im PAR-Komplex (rechts) bei 30°C. Die apparenten Austauschgeschwindigkeiten sind farbkodiert entsprechend des Farbbalkens auf der rechten Seite. Die Basenpaare in den 2D- und 3D-Strukturen sind entsprechend der für das zugehörige Iminoproton beobachteten Austauschgeschwindigkeit eingefärbt. Für den RIO-Komplex ist der Ligand gelb dargestellt, für den PAR-Komplex grün. Interne Wasserstoffbrücken oder elektrostatische Wechselwirkungen sind durch gestrichelte Linien hervorgehoben. b) Differenzen zwischen ¹³C-R_{1p}-Werten^[9] von Purin-C8- und Pyrimidin-C6-Spins, die mit 25 Hz und 1000 Hz effektiver „Spin-lock“-Feldstärke am RIO- (gelb) und am PAR-Komplex (grün) gemessen wurden. Die Strukturelemente der RNA im Komplex sind über dem Graphen gezeigt; Nukleotide, die Teil der Bindetasche sind, sind mit roten Balken gekennzeichnet und mit BT markiert.

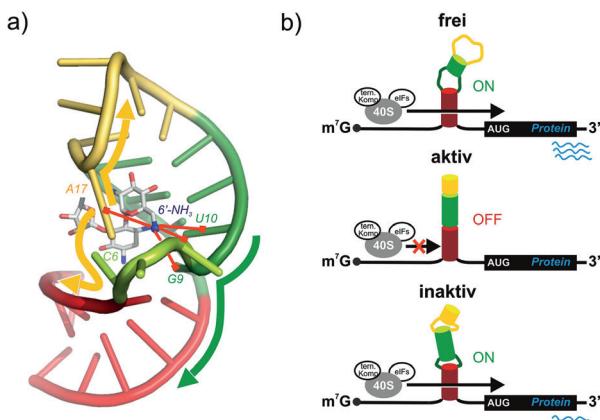


Abbildung 4: a) Stabilitätsnetzwerk innerhalb des Neomycin-RNA-Schalters, das die regulatorische Aktivität seiner Liganden bestimmt. Die direkten Wechselwirkungen der 6'-NH₃⁺-Gruppe sind in rot gezeigt, die weiterreichenden Stabilisierungseffekte sind durch Pfeile angedeutet. b) Ein Modell, das die durch die Bindung eines regulatorisch aktiven (Mitte) und eines regulatorisch inaktiven Liganden (unten) hervorgerufenen konformativen Effekte mit der Konformation des freien RNA-Schalters (oben) vergleicht und ihren Einfluss auf die durch den RNA-Schalter regulierte Initiation der Translation durch die ribosomale 40S-Untereinheit darstellt.

Im Komplex mit einem regulatorisch aktiven Liganden bildet der Neomycin-RNA-Schalter eine komplett stabilisierte Struktur aus, die das „Scanning“ der kleinen ribosomalen Untereinheit verhindert (Abbildung 4b, Mitte). Dagegen führt die Bindung eines regulatorisch inaktiven Liganden nicht dazu, dass alle Strukturelemente stabil miteinander verbunden werden. Es resultiert ein destabilisierter Komplex, der immer noch durch die kleine ribosomale Untereinheit aufgelöst werden kann (Abbildung 4b, unten). Zusätzlich reduziert die höhere k_{off} -Geschwindigkeitskonstante (siehe Abbildung S11) des inaktiven Liganden die Lebenszeit des Komplexes und erhöht damit die Wahrscheinlichkeit für das Ribosom, auf einen RNA-Schalter im ligandenfreien Zustand zu treffen.

Der kleine synthetische Neomycin-bindende RNA-Schalter hat die bemerkenswerte Fähigkeit, zwischen Liganden zu diskriminieren, die sich nur in einer einzigen funktionalen Gruppe voneinander unterscheiden. Diese hohe Ligandenspezifität kommt der von vielen strukturell wesentlich komplexeren, natürlichen RNA-Schaltern nahe. Eine durch den Liganden vermittelte sehr effektive Kopplung von verschiedenen Strukturelementen scheint ein generelles Merkmal für die Wechselwirkung von RNA-Schaltern mit ihren regulatorisch aktiven Liganden zu sein.^[13] Deshalb ist es sehr wahrscheinlich, dass auch in vielen anderen RNA-Schaltern Mechanismen für die Unterscheidung von Liganden und deren Analoga genutzt werden, die auf definierten Unterschieden in der Konformationsdynamik beruhen, wie sie hier für den Neomycin-bindenden RNA-Schalter exemplarisch in atomarem Detail beschrieben wurden.

Danksagung

Wir danken Daniel Gottstein für Unterstützung bei den Strukturrechnungen und Harald Schwalbe für kritische Kommentare. Diese Arbeit wurde durch die Aventis Foundation, das Zentrum für Biomolekulare Magnetische Resonanz (BMRZ) an der Goethe-Universität Frankfurt und durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (WO901/2-1 an J.W., SU402/4-1 an B.S. und Sonderforschungsbereich 902 „Molecular principles of RNA-based regulation“) gefördert. Das Fritz-Lipmann-Institut wird finanziell durch die Bundesregierung und das Land Thüringen unterstützt.

Stichwörter: Aminoglykoside · Ligandenspezifität · RNA-Schalter · RNA-Strukturen · Strukturbioologie

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1527–1530
Angew. Chem. **2016**, *128*, 1551–1554

- [1] a) R. R. Breaker, *Mol. Cell* **2011**, *43*, 867–879; b) K. E. Deigan, A. R. Ferre-D’Amare, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 1329–1338.
- [2] A. Serganov, D. J. Patel, *Annu. Rev. Biophys.* **2012**, *41*, 343–370.
- [3] a) R. K. Montange, R. T. Batey, *Nature* **2006**, *441*, 1172–1175; b) R. K. Montange, E. Mondragon, D. van Tyne, A. D. Garst, P. Ceres, R. T. Batey, *J. Mol. Biol.* **2010**, *396*, 761–772; c) O. Pirovskaya, A. Polonskaia, D. J. Patel, A. Serganov, *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 748–755; d) C. Lu, A. M. Smith, R. T. Fuchs, F. Ding, K. Rajashankar, T. M. Henkin, A. Ke, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2008**, *15*, 1076–1083.
- [4] J. E. Weigand, M. Sanchez, E. B. Gunnesch, S. Zeiher, R. Schroeder, B. Suess, *RNA* **2008**, *14*, 89–97.
- [5] a) S. R. Schmidtke, E. Duchardt-Ferner, J. E. Weigand, B. Suess, J. Wöhner, *Biomol. NMR Assignments* **2010**, *4*, 115–118; b) E. Duchardt-Ferner, J. E. Weigand, O. Ohlenschläger, S. R. Schmidtke, B. Suess, J. Wöhner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6216–6219; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6352–6355.
- [6] F. Freire, I. Cuesta, F. Corzana, J. Revuelta, C. Gonzalez, M. Hricovini, A. Bastida, J. Jimenez-Barbero, J. L. Asensio, *Chem. Commun.* **2007**, 174–176.
- [7] a) O. Ohlenschläger, J. Wöhner, E. Bucci, S. Seitz, S. Häfner, R. Ramachandran, R. Zell, M. Görlach, *Structure* **2004**, *12*, 237–248; b) C. A. Theimer, L. D. Finger, L. Trantirek, J. Feigon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 449–454.
- [8] T. Dieckmann, E. Suzuki, G. K. Nakamura, J. Feigon, *RNA* **1996**, *2*, 628–640.
- [9] A. L. Hansen, E. N. Nikolova, A. Casiano-Negrón, H. M. Al-Hashimi, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3818–3819.
- [10] E. Duchardt-Ferner, J. Ferner, J. Wöhner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7927–7930; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8073–8076.
- [11] H. Schwalbe, J. P. Marino, S. J. Glaser, C. Griesinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7251–7252.
- [12] M. Kozak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 2850–2854.
- [13] a) A. D. Garst, A. L. Edwards, R. T. Batey, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **2011**, *3*, a003533; b) A. Peselis, A. Serganov, *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* **2014**, *1839*, 908–918.

Eingegangen am 7. August 2015

Online veröffentlicht am 11. Dezember 2015