

Nobelpreis 2009 für Chemie

Struktur und Funktion des Ribosoms

Brigitte Koliander und Edwin Scheiber

Die Lösung des „Henne/Ei-Problems“

Das zentrale Dogma der Molekularbiologie beschreibt, wie mit Hilfe der Information, die in der DNA gespeichert vorliegt, Eiweißmoleküle (Proteine) gebildet werden. Die DNA ist ein Makromolekül. Charakterisiert wird sie über ihre Basensequenz (z. B. ACCTTGGT...). Die in der DNA in Form der Basensequenz gespeicherte Information wird auf eine mRNA übertragen (Transkription), die diese Information aus dem Zellkern heraus zu den Ribosomen bringt. An den Ribosomen wird mit Hilfe dieser Information ein Protein synthetisiert. Proteine sind Makromoleküle, die aus Aminosäuren aufgebaut sind. Im Ribosom wird die Basenfolge der mRNA in die Aminosäuresequenz des zu synthetisierenden Proteins übersetzt (Translation). Dabei wird jeweils eine Einheit von drei Basen (z. B. GGU, genannt Codon) in eine Aminosäure (z. B. Glycin) übersetzt. Jede Aminosäure wird von einer t-RNA zum Ribosom gebracht. Diese t-RNA erkennt durch die Passung ihres Anticodon (z. B. CCA) zum Codon, welche Aminosäure als nächste an das Protein angehängt werden muss.

Eine der Fragen, die bis heute ungeklärt sind, ist die Evolution dieses Mechanismus und der beteiligten Makromoleküle. Was war zuerst? Die DNA mit ihrer Information? Die Eiweißstoffe mit ihrer Aktivität? Oder vielleicht RNA oder ein RNA-ähnliches Makromolekül, das zugleich Informationsspeicher und Ribozym (RNA mit enzymatischer Aktivität) war? Mit der Aufklärung der Struktur und Funktionsweise der Ribosomen haben die diesjährigen Nobelpreisträger starke Argumente dafür geliefert, dass die RNA in der Entwicklung eine wichtige Rolle gespielt hat.

Der Chemie-Nobelpreis 2009 geht an

Nach Marie Curie (1911 für die Entdeckung von Radium und Polonium), ihrer Tochter Irene Joliot-Curie (1935 für die Entdeckung neuer radioaktiver künstlicher Elemente) und Dorothy Crowfoot-Hodgkin (1964 für die Röntgenstrukturanalyse biologischer Substanzen) ist **Ada E. Yonath** die bisher vierte Frau in über 100 Jahren, die einen Chemie-Nobelpreis erringt!

Herzliche Gratulation!



Ada E. Yonath
Weizmann-Institut, Israel

Ribosomenforschung

Zum ersten Mal unter dem Mikroskop beobachtet wurden Ribosomen in den 50iger Jahren. Bald war klar, dass Ribosomen die „Eiweißfabriken“ der Zellen sind. Yonath, Steitz und Ramakrishnan haben diese Zellorganellen genauer untersucht und als erste verstanden, wie sie räumlich aufgebaut sind und wie im Ribosom wichtige Schritte der Übersetzung des genetischen Codes in Proteine stattfinden (Ehrenberg, 2009). Das Ribosom besteht aus zwei Untereinheiten, die sich für die Proteinbiosynthese zusammenschließen. Im Inneren entsteht ein Tunnel – hier werden die neuen Proteine gebildet. In Prokaryotenzellen besteht die größere Untereinheit aus zwei RNA-Molekülen und etwa 35 Proteinen. Die kleinere Untereinheit besteht aus einem RNA-Molekül und etwa 20 Proteinen. Die kleinere Einheit initiiert den Prozess und überprüft die Passung von Codon und Anticodon. Die große Einheit hängt die neue Aminosäure an das bisher synthetisierte Proteinmolekül an. Spannendes Ergebnis der Forschungen von Yonath, Ramakrishnan und Steitz ist, dass die RNA des Ribosoms aktiv an der Proteinbiosynthese beteiligt ist. Es könnte durchaus sein, dass Ribosomen in den ersten Lebewesen nur aus RNA bestanden („Protoribosomen“) und die angelagerten Proteine später in der Entwicklung dazu kamen.



Venkatraman Ramakrishnan
Cambridge, GB



Thomas Steitz

DI Mag. Brigitte Koliander und Mag. Dr. Edwin Scheiber: Österreichisches Kompetenzzentrum für Didaktik der Chemie. Der Beitrag wurde auf Grundlage der Pressemitteilung der Nobelstiftung mit Unterstützung durch DI Dr. Veronika Ebert erstellt.

Der Weg zur Erkenntnis

Mit welchen Methoden kann man Aufbau und Funktionsweise von Ribosomen untersuchen? Die ersten wichtigen Ideen für die Entschlüsselung der Ribosomenstruktur kamen von Ada Yonath. Sie wollte für die Aufklärung des Aufbaus der Ribosomen die Methode der Röntgenstrukturanalyse einsetzen. Diese Methode war bereits von der Aufklärung räumlicher Strukturen der Proteine bekannt. Das Problem dabei ist, dass die zu untersuchende Substanz zum Kristallisieren gebracht werden muss. Das ist schon bei Proteinen schwierig, denn sie denaturieren leicht und

Die erhaltenen Kristalle können dann mittels Röntgenstrukturanalyse untersucht werden. Anhand der Beugungsmuster wird auf die räumliche Struktur der Moleküle geschlossen. Dies wurde bei Proteinen oder komplexeren Strukturen wie den Ribosomen durch den Einsatz von Computern möglich, die aus den erhaltenen Beugungsmustern Karten der Elektronendichte im untersuchten Molekül errechnen. Man erreicht heute Auflösungen im Bereich von 2,4 Å. Mit diesen Karten und den vorher bekannten Informationen über die Aminosäuresequenz in Proteinen (oder die Basensequenz in der RNA) werden dreidimensionale Bilder der Makromoleküle erstellt.

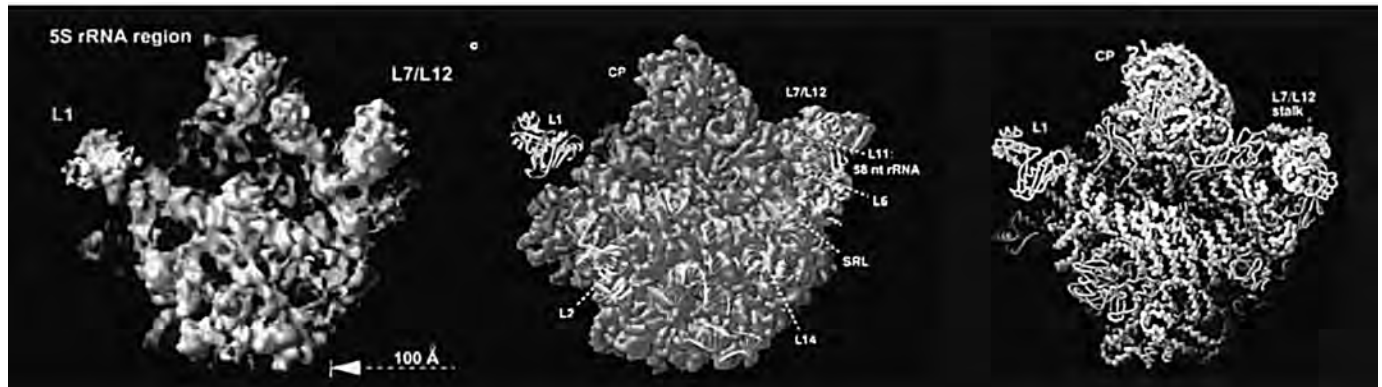


Abb. 1: Die Struktur der 50S Untereinheit des Ribosoms unterschiedlicher Auflösung (9, 5, 2,4 Å) (aus http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2009/cheadv09.pdf)

verändern ihre räumliche Struktur bei den vorbereitenden Schritten zur Kristallisation. Bei den Ribosomen erhöhen sich durch den komplexen Aufbau aus RNA und Proteinen diese Probleme. Es war notwendig, Lebewesen zu finden, deren Ribosomen besonders stabil sind. Als erstes gelang es mit Ribosomen der hitzebeständigen Einzeller *Geobacillus stearothermophilus* und *Haloarcola marismortui*. Die im Kasten angeführten Bedingungen wurden für das Bakterium *Deinococcus radiodurans* entwickelt. Dieses Bakterium ist erstaunlich resistent gegenüber extremsten Umweltbedingungen. Es lebt auf Atom Müll, in trockenen Tälern der Antarktis, auf bestrahlten medizinischen Geräten. Es überlebt Behandlung mit Wasserstoffperoxid und Bestrahlung durch UV-Licht oder ionisierender Strahlung. Seine Ribosomen sind besonders stabil und behalten auch nach den Reinigungsschritten und unter den Bedingungen der Kristallisation die Fähigkeit zur Proteinsynthese.

Crystals were obtained by vapor diffusion at 18°C, by equilibrating solutions containing the same buffer used for testing their in vitro functional activity (10 mM MgCl₂, 60 mM NH₄Cl, 5 mM KCl, 10 mM HEPES [pH 7,8], and minute amounts (0,1% – 1%) of poly- and monovalent alcohols (typically equal to 0,2:0,7 dimethylhexandiol:ethanol) against the same solutions but with twice the amount of the alcohols. For optimizing crystal growth, the exact conditions had to be determined for every preparation individually. The same or similar divalent alcohols (E. G. ethylenglycol) were used as cryo protectants for flash freezing of the crystals in liquid propane (Joerg Harms et al, 2001).

Ada E. Yonath entwickelte in Zusammenarbeit mit Forschern des Berliner Max-Planck-Instituts für molekulare Genetik die Grundlagen für die Kristallisation von Ribosomen und konnte weltweit erstmals deren Untereinheiten elektronenmikroskopisch darstellen. Hierdurch wurden neue Einblicke über den Weg der Proteinbiosynthese in den Ribosomen der Bakterien gewonnen, die auch zum Verständnis beitrugen, wie Antibiotika wirken und wie Bakterien gegen Antibiotika resistent werden. Die von ihr entwickelte „Kryo-Biokristallographie“ wurde rasch zu einem Standardverfahren der Strukturbiologie.

Thomas Steitz untersuchte die Arbeitsweise der größeren Einheit des Ribosoms. Er ließ das Ribosom vor der Kristallisation mit unterschiedlichen Molekülen reagieren und untersuchte die entstandenen Komplexe auf ihre räumliche Struktur. Bei der Proteinsynthese finden im Ribosom ständig Änderungen dieser Struktur statt, die sehr genau aufeinander abgestimmt sein müssen, damit die m-RNA genau abgelesen wird, die richtigen t-RNAs gebunden werden und die neue Bindung im Protein gebildet werden kann. Thomas Steitz konnte mit seinen Forschungen klären, wie die neue Bindung zwischen den Aminosäuren im Proteinmolekül durch Veränderungen in der räumlichen Struktur der Ribosomen aufgebaut wird.

Venkatraman Ramakrishnan untersuchte die kleine Untereinheit. Er hat durch seine Arbeit wesentlich dazu beigetragen, die Genauigkeit zu verstehen, mit der die Codons gelesen werden.

Anwendungen

Structure-based drug design: Unter „structure-based drug design“ versteht man eine Methode, Medikamente auf Grundlage des Wissens über die molekulare/räumliche Struktur von bisherigen Wirkstoffen und deren Angriffsort in der Zelle zu entwickeln. Viele Antibiotika lagern sich an Ribosomen an und behindern dadurch die Proteinsynthese in den Bakterienzellen. Sie können damit sehr spezifisch und sehr effizient diese Bakterien an einem weiteren Wachstum hindern. Aktuelle Forschungen untersuchen, wie sich die Struktur der Ribosomen nach Zugabe von Antibiotika verändert. Danach werden die bekannten Wirkstoffe verändert und die Auswirkung der „neuen“ Antibiotika auf die Ribosomen wird wieder untersucht. Das Wissen über Ribosomen kann so zur Entwicklung neuer Antibiotika genutzt werden.

Ehrenberg M. (2009). Structure and Function of the Ribosome. http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2009/che-adv09.pdf [2009-10-27]

Harms, J., Schluenzen, F., Zarivach, R., Bashan, A., Gat, Sh., Agmon, I., Bartels, H., Franceschi, F. and Yonath, A. E.: High Resolution Structure of the Large Ribosomal Subunit from a Mesophilic Eubacterium. *Cell*, 107 (2001), 679–688. Cell Press, Elsevier: Amsterdam

Biografien

Ada E. Yonath 1939 in Jerusalem geboren, studierte ab 1959 Chemie und ab 1962 Biochemie – 1968 Dissertation über Röntgenkristallographie, ist seit 1988 Strukturbiologin am Weizmann-Institut für Wissenschaften in Rehovoth, Israel und zugleich Direktorin des Kimmelman Center for Biomolecular Assemblies am Weizmann-Institut. Nach Forschungsaufenthalten in USA und am Max-Planck Institut für molekulare Genetik in Berlin-Dahlem leitete sie von 1986 bis 2004 auch eine Forschergruppe für Molekularbiologie des Max-Planck-Instituts am Deutschen Elektronen-Synchrotron (DESY) in Hamburg.

Thomas Steitz geboren 1940 in Milwaukee, Wisconsin ist ein US-amerikanischer Molekularbiologe und Biochemiker. Er promovierte 1966 an der Harvard University bei William Lipscomb (Nobelpreis 1976). Nach einem Postdoc-Aufenthalt am britischen MRC in Cambridge ist er seit 1970 an der Yale University in New Haven, Connecticut tätig. Dort forscht und lehrt er als Sterling Professor für molekulare Biophysik und Biochemie sowie als HHMI Investigator am Howard Hughes Medical Institute.

Venkatraman Ramakrishnan geb. 1952 in Chidambaram, Tamil Nadu) ist ein indisch-amerikanischer Ribosomenforscher und Strukturbiologe. 1971 Bachelor of Science in Physik an der Universität in Baroda in Indien. 1976 Promotion an der Ohio University in Physik zum Ph. D. Bis 1978 Studium der Biologie an der University of California, San Diego. 1978 bis 1982 Post-Doc am Chemiedepartment der Yale University. 1982 und 1983 Forschung am Oak Ridge National Laboratory sowie in der Biologieabteilung des Brookhaven

National Laboratory. Bis 1999 Professor am Biochemiedepartment der University of Utah. Seit 1999 forscht er am Labor für Molekulare Biologie des Medical Research Council in Cambridge, England.

Forschungsleistung über Jahrzehnte

Ada Yonath ist die Pionierin der Strukturaufklärung von Ribosomen. Ende der 70er Jahre begann sie mit der Röntgenstrukturanalyse von Ribosomen, die bis dahin von den meisten Forschern wegen ihrer Größe für aussichtslos gehalten worden war. Der erste Schritt dazu ist die Herstellung eines Kristalls, was bei den großen Protein/RNA-Komplexen auf Schwierigkeiten stößt. Yonath kam auf die Idee, die Ribosomen für die Kristallisation aus dem Bakterium *Geobacillus stearothermophilus* zu gewinnen, das in heißen Quellen lebt und Temperaturen bis zu 75 °C erträgt. Sie nahm an, dass deswegen dessen Ribosomen extrem stabil seien und bessere Kristalle bilden würden. Ribosomen bestehen aus zwei Untereinheiten: 1980 gelangen ihr die ersten Kristalle der großen Untereinheit des Ribosoms, die allerdings noch ziemlich unrein waren.

Ada Yonath benötigte zwanzig Jahre, um ein Bild von beiden Untereinheiten des Ribosoms zu generieren, in dem die Position jedes einzelnen Atoms feststand. Dazu entwickelte sie neue Techniken, etwa die Kristallisation in flüssigem Stickstoff bei –196 °C. Als sich herausstellte, dass ihr Weg gangbar war, interessierten sich immer mehr Wissenschaftler für das Gebiet, darunter Thomas Steitz und Venkatraman Ramakrishnan.

Zu Beginn der 1990er-Jahre waren die Kristalle gut genug, um in der Röntgenstrukturanalyse die Position einzelner Atome aufzulösen. Allerdings stellte sich immer noch das „Phasenproblem“. Bei der Streuung des Röntgenlichts entsteht ein Punktemuster und zu jedem einzelnen Punkt muss noch der Phasenwinkel bestimmt werden, im Prinzip ein mathematisches Problem. Ein häufig verwendeter Trick ist, den Kristall in ein Element mit hohem Atomgewicht, etwa Quecksilber, zu tauchen, und dann die Aufnahme zu wiederholen. Aus dem Vergleich des Punktemusters mit und ohne schwere Atome kann der Phasenwinkel bestimmt werden. Ribosomen sind jedoch so groß, dass sie zu viele schwere Atome binden. Dieses Problem wurde schließlich von Thomas Steitz gelöst. So kam es, dass Thomas Steitz 1998 die erste Kristallstruktur der großen Untereinheit eines Ribosoms veröffentlichte, die allerdings noch nicht einzelne Atome sichtbar machte. Beinahe gleichzeitig mit Steitz, der die große Untereinheit bearbeitet hatte, veröffentlichten Venkatraman Ramakrishnan und Ada Yonath die Struktur der kleinen Untereinheit vom *Thermus thermophilus*. So wurde es möglich, die Funktion des Ribosoms auf atomarer Ebene zu verstehen. Ada Yonath beschäftigte sich in der Folge damit, wie verschiedene Antibiotika an die Ribosomen von Bakterien binden, und sie so blockieren. Diese Arbeiten sind zum Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer Antibiotika geworden.

Quelle: <http://de.wikipedia.org/>