

al ist. Dabei wurde mit EPL Phosphonomethylenphenylalanin (Pmp, Abbildung 4) als nichthydrolysierbares Analogon von Phosphotyrosin in die Protein-Tyrosin-Phosphatase LMW-PTP an den zwei bekannten Phosphorylierungsstellen inkorporiert. Die biochemische Charakterisierung der semisynthetischen Proteine ergab, entgegen ursprünglichen Annahmen, dass die Phosphorylierung an diesen Positionen zu einer Herabregulation der enzymatischen Aktivität führt.¹⁶⁾

Neben der Phosphorylierung kommen auch Acetylierung und Methylierung als PTMs von Histonen vor. Diese DNA-bindenden Proteine spielen eine große Rolle bei der Regulation der Genaktivität. Die definierte Darstellung modifizierter Histone in homogener Form durch Proteinsemisynthese gewinnt für die Entschlüsselung dieser Regulation immer größere Bedeutung.¹⁷⁾

Methoden zur Darstellung synthetischer und semisynthetischer Proteine sind zur Klärung vieler

Fragen rund um die Proteinfunktion auf molekularer Ebene unentbehrlich. Es steht zu erwarten, dass ihre Anwendung durch technische Weiterentwicklungen sowie durch neue Erkenntnisse und Aufgaben der Proteomforschung weiter zunehmen wird.

Dirk Schwarzer, Henning D. Mootz
Universität Dortmund
Fachbereich Chemie –
Chemische Biologie
Henning.Mootz@uni-dortmund.de

- 1) P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. Kent, *Science* 1994, 266, 776.
- 2) G. G. Kochendoerfer et al., *Science* 2003, 299, 884.
- 3) T. W. Muir, D. Sondhi, P. A. Cole, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 6705.
- 4) D. Macmillan, *Angew. Chem.* 2006, 118, 7830.
- 5) B. L. Nilsson, R. J. Hondal, M. B. Soellner, R. T. Raines, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 5268.
- 6) J. W. Bode, R. M. Fox, K. D. Baucom, *Angew. Chem.* 2006, 118, 1270.
- 7) I. Giriat, T. W. Muir, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 7180.
- 8) C. Ludwig, M. Pfeiff, U. Linne, H. D. Mootz, *Angew. Chem.* 2006, 118, 5343.
- 9) N. Wehofsky, N. Koglin, S. Thust, F. Bordusa, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 6126.
- 10) H. Mao, S. A. Hart, A. Schink, B. A. Pollok, *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 2670.
- 11) F. I. Valiyaveetil, M. Sekedat, R. MacKinnon, T. W. Muir, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 101, 17045.
- 12) F. I. Valiyaveetil, M. Leonetti, T. W. Muir, R. MacKinnon, *Science* 2006, 314, 1004.
- 13) F. I. Valiyaveetil, M. Sekedat, R. MacKinnon, T. W. Muir, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 11591.
- 14) A. Rak, O. Pylypenko, T. Durek, A. Watzke, S. Kushnir, L. Brunsfeld, H. Waldmann, R. S. Goody, K. Alexandrov, *Science* 2003, 302, 646.
- 15) O. Pylypenko, A. Rak, T. Durek, S. Kushnir, B. E. Dursina, N. H. Thoma, A. T. Constantinescu, L. Brunsfeld, A. Watzke, H. Waldmann, R. S. Goody, K. Alexandrov, *EMBO J.* 2006, 25, 13.
- 16) D. Schwarzer, Z. Zhang, W. Zheng, P. A. Cole, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 4192.
- 17) M. Shogren-Knaak, H. Ishii, J. M. Sun, M. J. Pazin, J. R. Davie, C. L. Peterson, *Science* 2006, 311, 844.

RNA – Struktur und Funktion

Das Hammerhead-Ribozym

◆ Ribonucleinsäuren üben wichtige Funktionen in biologischen Systemen aus, unter anderem die Katalyse chemischer Reaktionen. RNAs mit derartigen Eigenschaften werden als Ribozyme bezeichnet. Unter ihnen ist das bekannteste und wohl am intensivsten untersuchte das „Hammerhead“-Ribozym, welches die positionsspezifische Spaltung seines Phosphorsäureesterrückgrats durch eine Transesterifizierung katalysiert. Eine neue Kristallstruktur hat nun dazu beigetragen, die langjährige Debatte über den katalytischen Mechanismus zu entscheiden.¹⁾

Das katalytisch aktive minimale Motiv des Hammerhead-Ribozyms ist seit den neunziger Jahren bekannt und umfasst elf konservierte Nucleotide, die von drei Doppelhelices flankiert werden (Abbildung 1a). Erst in Anwesenheit von Magnesiumionen in millimolarer Konzentration wird die aktive Konformation eingenommen, in der die 2'-OH Gruppe des Cytidins in Position 17 den zu spaltenden 5',3'-Phosphorsäureester angreift. Dabei entstehen zwei Spaltungsprodukte: ein Strang mit einem 2',3'-Cyclophosphat und ein Strang mit einem freien 5'-OH-Terminus.

Frühe Experimente belegten, dass die Konfiguration am analogen C17/N1.1-thiophosphatmodifizierten Ribozym invertiert wird. Während der Spaltung durchläuft die RNA einen trigonal-bipyramidalen, pentakoordinierten Übergangszustand.²⁾ Der S_N2-Übergangszustand bedingt die Anordnung der 2'-Hydroxygruppe von Cytidin 17 und der benachbarten P-O5'-Gruppierung (Nucleotid C1.1) auf einer Geraden („In-line“-Angriff). Erste Kristallstrukturen des „Hammerhead“-Ribozyms aus dem Jahr 1998 zeigten allerdings eine starke Abweichung von dieser Struktur, obwohl die Spaltung im Kristall durch Einwirkung von zweiwertigen Metallionen gelang.³⁾ ➔



Dirk Schwarzer (Jahrgang 1972) studierte Chemie in Marburg. 2002 schloss er die Promotion in der Arbeitsgruppe von Mohamed Marahiel ab.

Es folgte ein Postdocaufenthalt in der Arbeitsgruppe von Philip Cole an der Johns Hopkins University. Seit Sommer 2006 ist er Mitarbeiter von Henning Mootz. Sein Forschungsinteresse gilt der Nutzung von Proteinchemie zur Klärung biologischer Fragestellungen



Henning Mootz (Jahrgang 1970) studierte Chemie in Wuppertal und Marburg und promovierte 1999 in der Biochemie bei Mohamed Marahiel.

Nach Aufhalten bei Philippe Marlière am Institut Pasteur und bei Tom Muir an der Rockefeller Universität gründete er 2003 eine Emmy-Noether-Forschungsgruppe in Marburg. Seit 2006 ist er Professor für Chemische Biologie und Biochemie am Fachbereich Chemie der Universität Dortmund und arbeitet an der Struktur- und Funktionskontrolle von Proteinen.

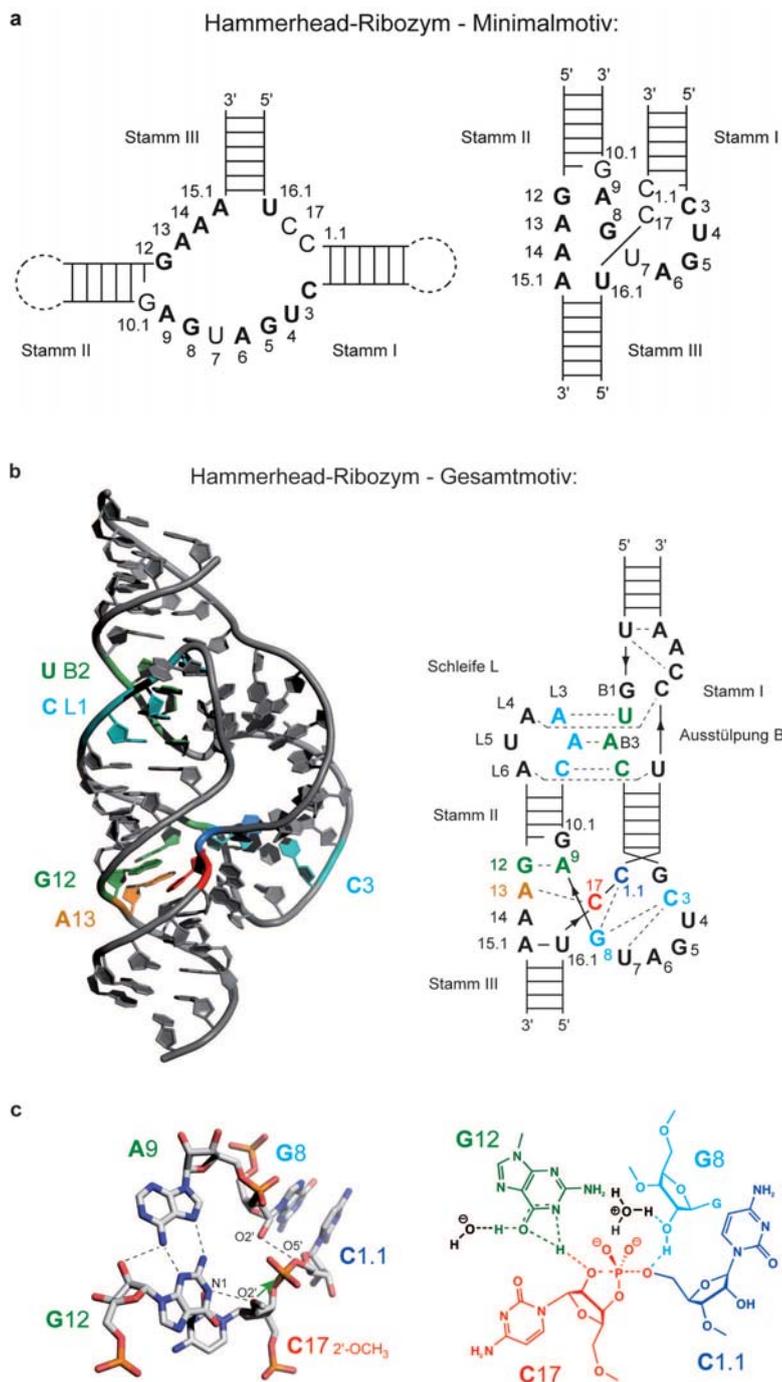


Abb. 1.
Das „Hammerhead“-Ribozym.
a) Sekundärstruktur des Minimalmotivs. Konservierte Nucleoside sind durch Fettdruck hervorgehoben; b) Kristallstruktur des gesamten Ribozyms und Sekundärstrukturschema; c) Nucleotide des katalytischen Zentrums und postulierter Übergangszustand nach Lit.¹⁾

Einen wesentlichen Hinweis für eine notwendige Konformationsänderung lieferten unter anderem Metallbindungsstudien,⁴⁾ die auf eine Verbrückung des zu spaltenden Phosphorsäuredieesters mit dem Sauerstoff aus dem Phosphat des Adenosins in Position 9 über ein zweiwertiges Metallion schließen ließen. In der ursprünglichen Kristallstruktur befinden sich die beiden Atomgruppen allerdings mehr als 20 Å voneinander entfernt.

Die Grundlage zur Lösung dieser Kontroverse wurde bereits 2003 ge-

legt, als biochemische Studien nachwiesen, dass das bis dahin untersuchte minimale Ribozymmotiv eine entscheidende periphere Interaktion vernachlässigte.⁵⁾ Das komplette Hammerhead-Ribozym erlaubt eine Tertiärinteraktion zwischen der Schleife L1 (Stamm I) und der Ausstülpung B2 (Stamm II). Sie ist sowohl für eine signifikante (50- bis 500-fache) Steigerung der Aktivität verantwortlich als auch für die Aktivität bei physiologischen, submillimolaren Mg^{2+} -Konzentrationen und für eine ausgeprägte reverse Reaktivität (Ligation).

Die nun von Scott und Mitarbeitern veröffentlichte Kristallstruktur des kompletten natürlichen Ribozymmotivs aus *S. Mansoni* charakterisiert in 2,2 Å Auflösung die neu erkannte Tertiärinteraktion und zeigt im Vergleich zur Struktur des minimalen Ribozyms eine deutlich unterschiedliche Konformation des katalytischen Zentrums (Abbildung 1b).¹⁾ Das 2'-Sauerstoffatom von Cytosin C17 liegt als 2'-O-Methylderivat im Kristallkonstrukt vor und lässt daher keine Spaltung zu. Tatsächlich nimmt es nun eine ideale „In-line“-Geometrie mit der benachbarten Phosphor-5'-Sauerstoffbindung ein. Dies wird durch eine Reihe neuer Strukturmerkmale im katalytischen Zentrum plausibel. Dazu zählen ein Watson-Crick-Basenpaar von Guanotin G8 mit Cytidin C3 (anstelle des nicht-kanonischen Basenpaares G8:A13 im minimalen Hammerhead-Ribozym) und die räumliche Nähe der Nucleotide A9 und C17. Der auf 4 Å verringerte Abstand der Phosphatreste dieser Nucleotide und die erwähnten Metallbindungsstudien implizieren eine transiente spezifische Metallbindungsstelle, die in der Kristallstruktur jedoch nicht detektiert werden konnte.

Ein plausibler katalytischer Mechanismus lässt sich anhand der Positionierung des Guanosin G12 postulieren, dessen Stickstoffatom N1 in Wasserstoffbrückendistanz zum angreifenden 2'-OH von Cytosin C17 liegt und für Protonentransferreaktionen zur Verfügung steht. Im deprotonierten Zustand kann N1 das 2'-O-Proton aufnehmen und als Base wirken (Abbildung 1c). Die Rolle der Säure übernimmt die 2'-OH-Gruppe des Nucleosids G8.

Guanosin G8 zeigt ein ausgeprägtes Bestreben, über Wechselwirkungen mit dem benachbarten Nucleotid C1.1 Basenstapel zu bilden. C1.1 und seine Hydroxygruppe befinden sich in einer Position, die eine Protonenübertragung auf die 5'-O-Abgangsgruppe erlaubt, vorausgesetzt eine Reduktion des pK_a -Werts der Guanosin-G8-2'-OH-Gruppe ist gewährleistet. Dies kann prinzipiell

durch die Anwesenheit von Metallionen erreicht werden.

Zusammenfassend liefert die neue Hammerhead-Ribozymstruktur entscheidende Aufschlüsse über die bisher kontrovers interpretierten biochemischen und kristallographischen Analysen. Sie bildet darüber hinaus eine entscheidende Grundlage zum Verständnis des katalytischen Mechanismus, dessen Details – vor allem bezüglich der Rolle von Metallionen und der Rolle der 2'-OH-Gruppe des Guanosins G8 – mit Spannung erwartet werden.

Riboschalter und Riboschalter-Ribozyme

◆ Erst in den letzten Jahren wurde die funktionelle Vielfalt und weitreichende Bedeutung von RNA bei der Genregulation und in zellulären Adaptions- und Differenzierungsprozessen erkannt. Die Vergabe des Nobelpreises 2006 für Medizin an Fire und Mello für die Entdeckung der RNA-Interferenz (RNAi)⁶⁾ – der Genregulation mit doppelsträngiger RNA – war die gebührende Anerkennung dafür. Vor allem über eine Klasse von nicht-kodierenden RNAs, die 2002 von Breaker entdeckten RNA-Schalter („Riboswitches“)^{7,8)} wurden im vergangenen Jahr wesentliche Erkenntnisse gewonnen.

Riboschalter kommen überwiegend in Bakterien, aber auch in einigen Eukaryonten vor. Es handelt sich dabei um RNA-Elemente, die in den 5'- oder 3'-UTR-Regionen von mRNAs lokalisiert sind und aus zwei Domänen, einer Metabolit-bindenden Aptamerdomäne und einer überlappenden „Expressionsplattform“ bestehen. In Abhängigkeit von der Konzentration eines Metaboliten schalten Riboschalter die Genexpression an oder aus. Die molekulare Basis dafür kann auf transkriptionaler oder auf translationaler Ebene liegen und wird strukturell durch die Bindung des Metaboliten und die dadurch induzierte Änderung der Struktur der Expressionsplattform erreicht. Sie führt in vielen Fällen zur Bildung bzw. Auflösung

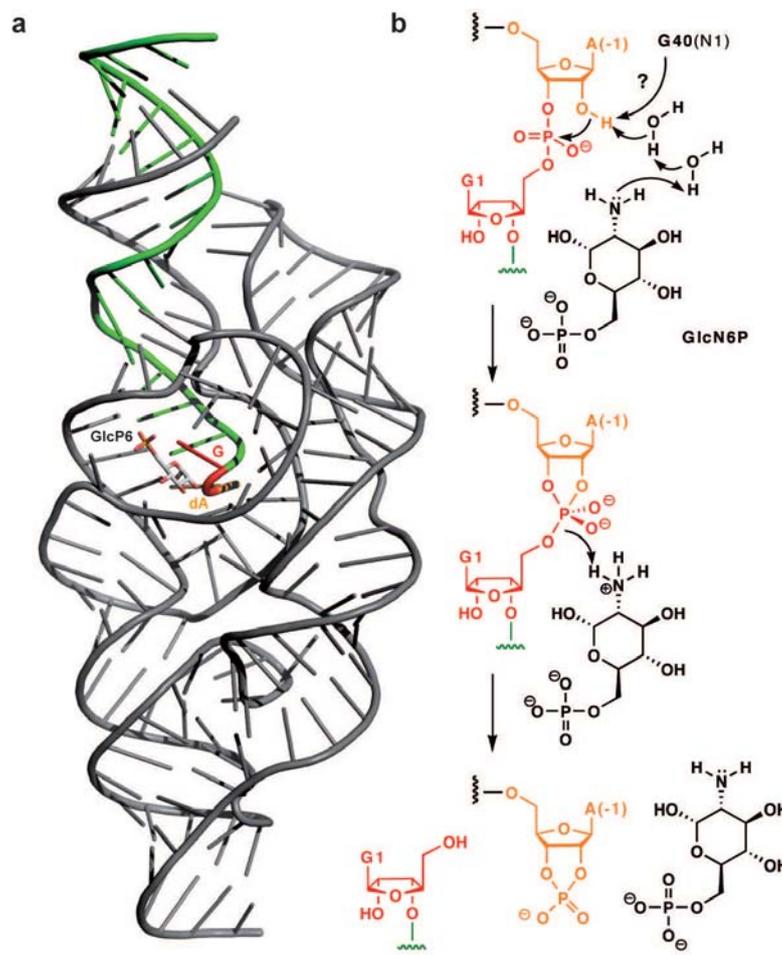


Abb. 2. Das *glmS*-Riboschalter-Ribozym. a) Kristallstruktur nach Lit.¹¹⁾ in Cartoonpräsentation mit gebundenem GlcP6; die Nucleoside am zu spaltenden Phosphorsäurediester sind in roter (G) und oranger Farbe (dA) hervorgehoben; b) Postulierter Mechanismus unter Berücksichtigung von GlcN6P als Cofaktor und zweier gebundener Wassermoleküle.

einer Terminator- oder Repressorstamm-Sekundärstruktureinheit der mRNA.

Immer häufiger werden auch komplexere Riboschaltersysteme identifiziert, die aus zwei Aptamerdomänen bestehen und spezifisch unterschiedliche Metaboliten binden. Ein Beispiel dafür liefert *Bacillus clausii metE*-mRNA, die ein zusammengesetztes Genkontrollsystem bildet, das auf S-Adenosylmethionin und Coenzym B₁₂ reagiert und nach Boolescher Logik als NICHT-ODER(NOR)-Schalter agiert.⁹⁾

Auch der *glmS*-Riboschalter, der die Produktion von Glucosamin-6-phosphat (GlcN6P) über die bereitgestellte Menge an GlcN6P-Synthetase reguliert, ist eine Variation vom ursprünglichen Riboschalterkonzept. In seinem Falle aktiviert die Bindung des Liganden das Ribozym und die mRNA wird gespalten. Der Ligand Glucosamin-6-phosphat (GlcN6P) übernimmt die Rolle eines Cofaktors für die Spaltungsreak-

tion.¹⁰⁾ Ein detaillierteres mechanistisches Bild konnte nun dank einer kristallographischen Studie von Klein und Ferré-D'Amaré entwickelt werden.¹¹⁾

Sie kristallisierten den *glmS*-Ribozym-Riboschalter aus *Thermoanaerobacter tengcongensis* in verschiedenen Formen, die Ligand-Mimetica enthielten (Abbildung 2a), aber auch das gespaltene Produkt. Das Ribozym positioniert den zu schneidenden Phosphorsäurediester in einer für Lösungsmittel zugänglichen Bindungstasche für den Li-

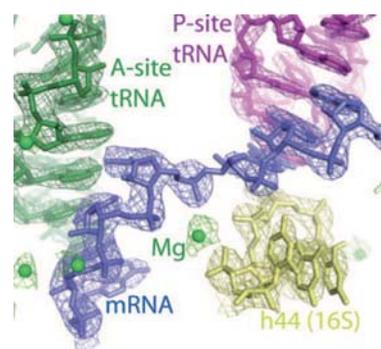


Abb. 3. Struktur des bakteriellen Ribosoms in 2,8 Å Auflösung. Ein Mg²⁺-Ion koordiniert an die Phosphatgruppe des mRNA-Knicks zwischen A-Stelle und P-Stelle (Abbildung nach Lit.²⁰⁾).

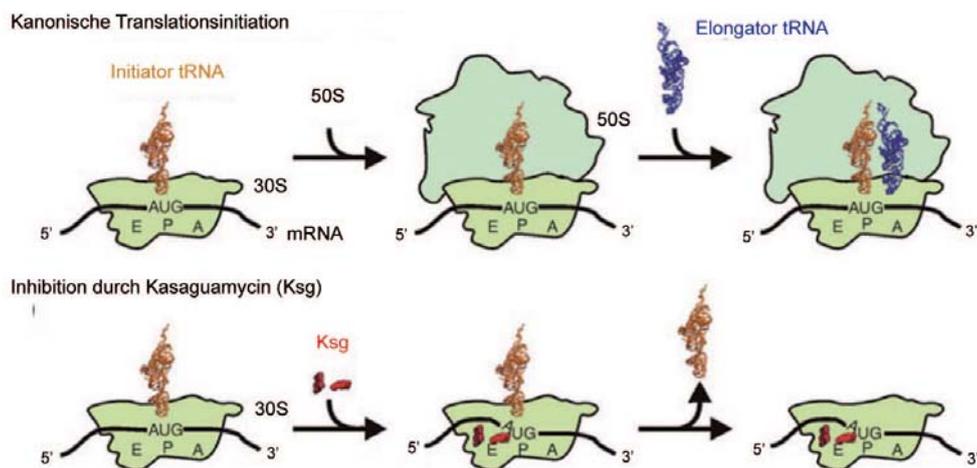


Abb. 4. Die Rolle des Antibiotikums Kasaguamycin (Ksg) als mRNA-Mimetikum und Hemmer der Translationsinitiation (Abbildung modifiziert nach Lit.²¹).

ganden. Funktionelle Gruppen des GlcN6Ps sind so angeordnet, dass sie für die Katalyse in Frage kommen. Dies bestätigt die Funktion des Liganden als Cofaktor (Abbildung 2b). Ein interessanter Aspekt beruht auf der Tatsache, dass der *glmS* Riboschalter auch in pathogenen Bakterien zu finden ist. Die vorliegende Struktur liefert daher Information für das Wirkstoff-Design.

2006 wurden noch weitere Erfolge in der Strukturbiologie von Riboschaltern erzielt. Mit Kristallstrukturanalysen klärten die Arbeitsgruppen von Patel, Ban, Ferré-D'Amaré und Batey die Architektur der Aptamerdomänen des Thiaminpyrophosphat (TPP)-¹²⁻¹⁴ und des S-Adenosylmethionin (SAM)-Riboschalters.¹⁵ Weiterhin wurden die Faltungsprozesse von TPP-¹⁶ und von Adenin-Riboschaltern^{17,18} durchleuchtet.

Ribozyme im humanen Genom

◆ Dass Ribozyme auch im humanen Genom auftreten, fanden Szostak und Mitarbeiter.¹⁹ Sie entwarfen ein In-vitro-Selektionsschema in Anlehnung an RNA-Replikonsysteme und konstruierten eine Genombibliothek aus cyclischer, doppelhelicaler DNA mit ca. 150 Basenpaaren großen humanen DNA-Fragmenten und einer Promotersequenz. „Rolling circle“-Replikation generierte RNAs mit den entsprechenden Sequenzwiederholungen. Ein kleiner Teil der transkribierten RNAs spaltete sich in gleich große RNA-Abschnitte und wurde amplifiziert und charakterisiert.

Szostak und sein Team fanden vier selbstschneidende Ribozymmotive. Eines davon ist im ersten Intron eines Gens lokalisiert, welches für ein cytoplasmatisches Polyadenylierungselement-bindendes Protein (*CPEB3*) kodiert. Das *CPEB3*-Ribozym zeigt auffällende Ähnlichkeiten zu Struktur und Mechanismus des Hepatitis-Delta-Virus (HDV)-Ribozyms. Die Vermutung liegt nahe, dass die beiden Ribozyme evolutionär verwandt sind, und dass sich das HD-Virus aus dem humanen Transkriptom entwickelt haben könnte.

Das bakterielle Ribosom

◆ Auch in der chemischen Biologie der Ribosomen gab es 2006 einige neue Erkenntnisse. Ramakrishnan und Mitarbeiter erzielten eine Auflösung von 2,8 Å bei der Kristallstrukturanalyse des bakteriellen 70S-Ribosoms und machten damit erstmals die atomaren Details der Interaktion zwischen mRNA und tRNA sichtbar.²⁰ So stabilisieren Metallionen den konformativen Knick im mRNA-Phosphatrückgrat zwischen den beiden zu lesenden Codons in der A- und P-Stelle (Abbildung 3). Dieser Knick erschwert ein Verrutschen des Anticodons relativ zum Codon und sorgt mit hoher Wahrscheinlichkeit für das Einhalten des Leserahmens. Metallionen sind auch an der Grenzfläche der beiden Untereinheiten zueinander sichtbar und dürften für die Stabilisierung ihrer Interaktionen verantwortlich sein. Mit der Kristallstruktur lassen

sich Unterschiede zwischen archaischen und bakteriellen Ribosomen analysieren und viele der schon vorhandenen biochemischen und genetischen Daten erklären.

Weitere Highlights in der Strukturbiologie der Ribosomen sind die Untersuchungen der Gruppen Yokoyama, Fucini und Cate-Doudna zur Wirkungsweise von Kasaguamycin. Dieses Antibiotikum wirkt als mRNA-Mimetikum. Es destabilisiert die tRNA-Bindung und inhibiert dadurch die Initiation der Translation (Abbildung 4).^{21,22} Auch im Hinblick auf die Frage, wie die Peptidbindung geknüpft wird, wurden wesentliche Fortschritte erzielt. Die 2'-OH-Gruppe des Adenosins in Position 2451 der 23S rRNA konnte als essentielle funktionelle Gruppe identifiziert werden. Dies gelang mit einer von Polacek entwickelten Methode zur Rekonstitution von Ribosomen mit zirkulär permutierter 23S-rRNA und kurzen chemisch modifizierten Oligonucleotiden.²³

Polymerasen und nichtkodierende RNA

◆ Nichtkodierende RNA (ncRNA) ist wichtig für einen kürzlich entdeckten Mechanismus der Genregulation. In Mäusen kann die B2 RNA, die von der Polymerase III transkribiert wird, an die Polymerase II binden und so die Transkription inhibieren.^{24,25} Den Arbeitsgruppen von Famulok und Cramer gelang es nun, die strukturel-



Ronald Micura, Jahrgang 1970, studierte Wirtschaftsingenieurwesen/Technische Chemie an der Universität Linz (Österreich), wo er 1995 bei Karl Grubmayr promovierte. Nach einem Postdocaufenthalt von 1996 bis 1998 bei Albert Eschenmoser an der ETH Zürich und am Scripps Research Institute, CA, habilitierte er sich im Jahre 2002 an der Universität Innsbruck im Umfeld von Bernhard Kräutler in Organischer Chemie. Seit 2004 hält er eine Professur für Organische Chemie an dieser Universität inne. Sein Forschungsgebiet ist die chemische Biologie von Nucleinsäuren.

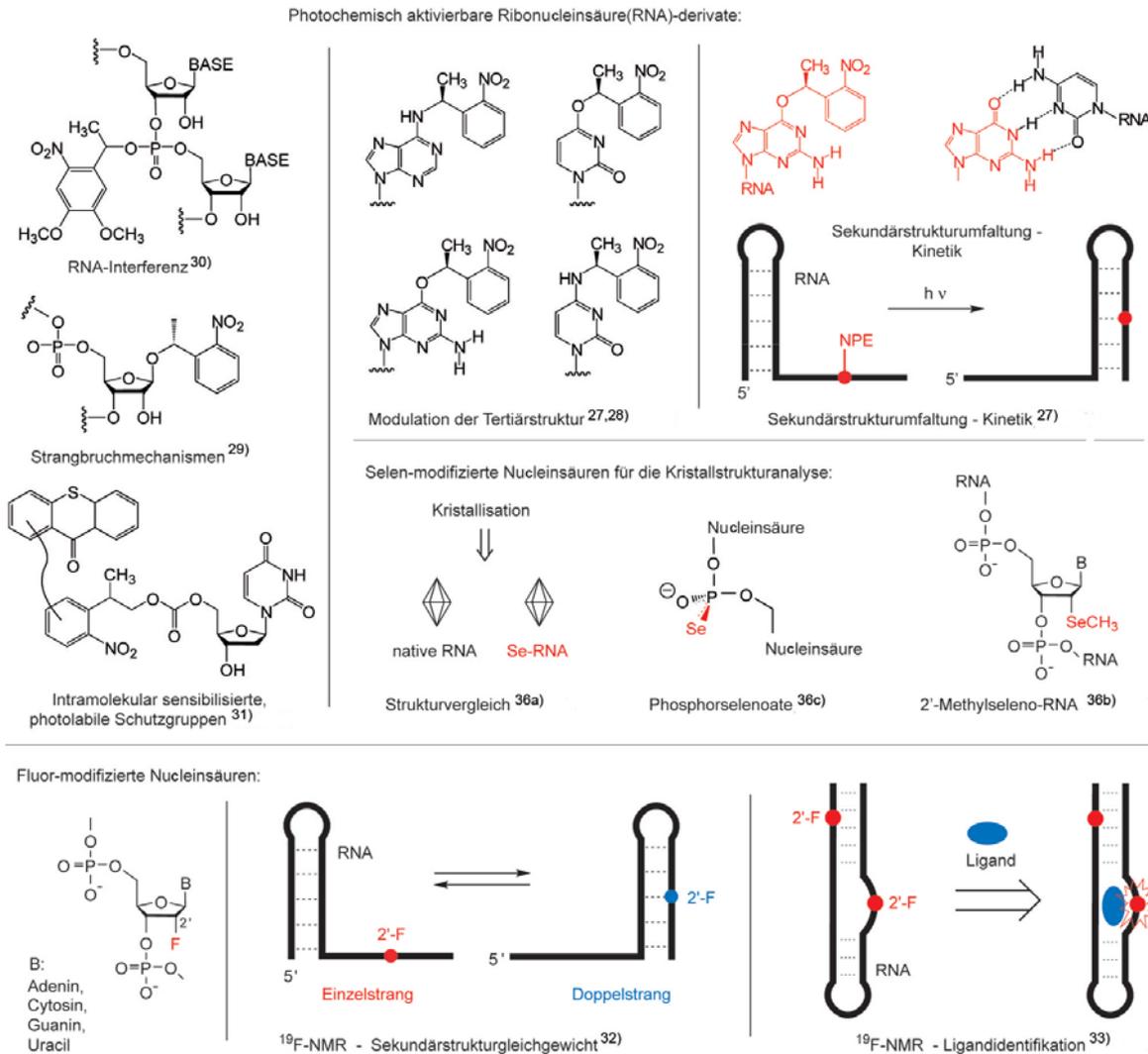


Abb. 5. Artifizell modifizierte Nucleinsäure-derivate für die Struktur- und Funktionsanalyse von RNA.

len Voraussetzungen für diese Art der Transkriptionskontrolle zu charakterisieren.²⁶⁾ Demnach verhindert die B2 RNA ein Eintreten des DNA-Duplexes und des Templatstranges in die Kluft der Polymerase und damit den Start der Transkription. Im Falle einer bereits transkribierenden Polymerase wird der Elongationsprozess allerdings nicht inhibiert, da die gebundene DNA das Binden des RNA-Inhibitors unmöglich macht.

Chemisch modifizierte RNA

◆ Immer wichtiger für die Untersuchung funktioneller Eigenschaften von RNA wird die Bereitstellung chemisch modifizierter RNA-Derivate (Abbildung 5). Hoch im Kurs stehen photochemisch aktivierbare Ribonucleinsäuren. Derartige Derivate kamen bei der Analyse der Kinetik von RNA-Sekundärstruktur-

umlagerungen,²⁷⁾ der Modulation der Tertiärstruktur von RNA am Beispiel der P4/P6-Domäne des *Tetrahymena*-Group-I-Introns,²⁸⁾ in Untersuchungen zum Strangbruchmechanismus von RNA durch abasische Ribosstellen,²⁹⁾ und bei der Lichtregulation der RNA-Interferenz³⁰⁾ zum Einsatz. Die zugrunde liegenden, photochemisch abspaltbaren Struktureinheiten sind in den meisten der Fälle 1-(2-Nitrophenyl)ethylgruppen.^{27,28,29b,30)} In diesen Zusammenhang gehören auch die neu entwickelten, photolabilen Schutzgruppen. Sie sind kovalent mit einem Sensibilisator (z. B. Thioxanthon) verknüpft und garantieren durch das Prinzip der intramolekularen Sensibilisierung eine sehr effiziente Abspaltung.³¹⁾

Weiterhin erwies sich mit Fluor modifizierte RNA als geeignet zur Charakterisierung von RNA-Sekun-

därstrukturgleichgewichten,³²⁾ zur Identifikation von RNA-bindenden, niedermolekularen Liganden³³⁾ und zur Strukturbestimmung von RNA,³⁴⁾ wobei in allen Beispielen der ¹⁹F-NMR-Spektroskopie die tragende Rolle der Analysemethode zukommt. Fluorierte Nucleobasen bieten sich darüber hinaus als geeignete Modifikationen für kurze interferierende RNA (siRNA, small interfering RNA) mit erhöhter Nucleaseresistenz im Serum an.³⁵⁾

Nicht zuletzt wurden selenmodifizierte RNA – und allgemein selenmodifizierte Nucleinsäuren – als wichtige Derivate in der RNA-Kristallstrukturanalyse zur Lösung des Phasenproblems von Beugungsdaten bestätigt.³⁶⁾

Ronald Micura
Institut für Organische Chemie
Universität Innsbruck
Ronald.Micura@uibk.ac.at



- 1) M. Martick, W. G. Scott, *Cell* 2006, 126, 309–320.
- 2) a) H. van Tol, J. M. Buzayan, P. A. Feldstein, F. Eckstein, G. Bruening, *Nucl. Acids Res.* 1990, 18, 1971–1975; b) G. Slim, M. J. Gait, *Nucl. Acids Res.* 1991, 19, 1183–1188; c) M. Koizumi, E. Ohtsuka, *Biochemistry* 1991, 30, 5145–5150.
- 3) J. B. Murray, D. P. Terwey, L. Maloney, A. Karpeisky, N. Usman, L. Beigelman, W. G. Scott, *Cell* 1998, 92, 665–673.
- 4) S. Wang, K. Karbstein, A. Peracchi, L. Beigelman, D. Herschlag, *Biochemistry* 1999, 38, 14363–14378.
- 5) a) M. De La Pena, S. Gago, R. Flores, *EMBO J.* 2003, 22, 5561–5570; b) A. Khvorova, A. Lescoute, E. Westhof, S. D. Jayasena, *Nature Struct. Mol. Biol.* 2003, 10, 708–712.
- 6) A. Fire, S. Q. Xu, M. K. Montgomery, S. A. Kostas, S. E. Driver, C. C. Mello, *Nature* 1998, 391, 806–811.
- 7) W. Winkler, R. R. Breaker, *ChemBioChem* 2003, 4, 1024–1032.
- 8) B. Süß, *Nachr. Chem.* 2006, 3, 273–275.
- 9) N. Sudarsan, M. C. Hammond, K. F. Block, R. Welz, J. E. Barrick, A. Roth, R. R. Breaker, *Science* 2006, 314, 300–304.
- 10) T. J. McCarthy, M. A. Plog, S. A. Floy, J. A. Jansen, J. K. Soukup, G. A. Soukup, *Chem. Biol.* 2005, 12, 1221–1226.
- 11) D. J. Klein, A. R. Ferré-D'Amaré, *Science* 2006, 313, 1752–1756.
- 12) A. Serganov, A. Polonskaia, A. T. Phan, R. R. Breaker, D. J. Patel, *Nature* 2006, 441, 1167–1171.
- 13) S. Thore, M. Leibundgut, N. N. Ban, *Science* 2006, 312, 1208–1211.
- 14) T. E. Edwards, A. R. Ferre-D'Amare, *Structure* 2006, 14, 1459–1468.
- 15) R. K. Montange, R. T. Batey, *Nature* 2006, 441, 1172–1175.
- 16) G. Mayer, M. S. L. Raddatz, J. Grunwald, M. Famulok, *Angew. Chem.* 2006, 119, 2007, 563–566.
- 17) J.-F. Lemay, J. C. Penedo, R. Tremblay, D. M. J. Lilley, D. A. Lafontaine, *Chem. Biol.* 2006, 13, 857–868.
- 18) R. Rieder, K. Lang, R. Micura, *unveröffentlicht*.
- 19) K. Salehi-Ashtiani, A. Lupták, A. Litovchick, J. W. Szostak, *Science* 2006, 313, 1788–1792.
- 20) M. Selmer, C. M. Dunnham, F. V. Murphy IV, A. Weixelbaumer, S. Petry, A. C. Kelley, J. R. Weir, V. Ramakrishnan, *Science* 2006, 313, 1935–1942.
- 21) F. Schluenzen, C. Takemoto, D. N. Wilson, T. Kaminishi, J. M. Harms, K. Hanawa-Suetsugu, W. Szafarski, M. Kawazoe, M. Shirouzu, K. H. Nierhaus, S. Yokoyama, P. Fucini, *Nature Struct. Mol. Biol.* 2006, 13, 871–878.
- 22) B. S. Schuwirth, J. M. Day, C. W. Hau, G. R. Janssen, A. E. Dahlberg, J. H. Doudna, Antón Vila-Sanjurjo, *Nature Struct. Mol. Biol.* 2006, 13, 879–886.
- 23) M. Erlacher, K. Lang, B. Wotzel, R. Rieder, R. Micura, N. Polacek, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 9909–9918.
- 24) T. A. Allen, S. Von Kaenel, J. A. Goodrich, J. F. Kugel, *Nature Struct. Mol. Biol.* 2004, 11, 816–821.
- 25) C. A. Espinoza, T. A. Allen, A. R. Hieb, J. F. Kugel, J. A. Goodrich, *Nature Struct. Mol. Biol.* 2004, 11, 822–829.
- 26) H. Kettenberger, A. Eisenführ, F. Brueckner, M. Theis, M. Famulok, P. Cramer, *Nature Struct. Mol. Biol.* 2006, 13, 44–48.
- 27) a) P. Wenter, B. Fürtig, A. Hainard, H. Schwalbe, S. Pitsch, *Angew. Chem.* 2005, 117, 2656–2659; b) P. Wenter, B. Fürtig, A. Hainard, H. Schwalbe, S. Pitsch, *ChemBioChem* 2006, 7, 417–420.
- 28) C. Höbartner, S. Silverman, *Angew. Chem.* 2005, 117, 7471–7475.
- 29) a) J. D. Trzupek, T. L. Sheppard, *Org. Lett.* 2005, 7, 1493–1496; b) P. A. Küpfer, C. Leumann, *Nucl. Acids Res.* 2007, 35, 58–68.
- 30) S. Shah, S. Rangarajan, S. H. Friedman, *Angew. Chem.* 2005, 117, 1352–1356.
- 31) D. Wöll, J. Smirnova, W. Pfeleiderer, U. E. Steiner, *Angew. Chem.* 2006, 118, 3042–3045.
- 32) C. Kreutz, H. Kählig, R. Konrat, R. Micura, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 11558–11559.
- 33) C. Kreutz, H. Kählig, R. Konrat, R. Micura, *Angew. Chem.* 2006, 118, 3528–3532.
- 34) M. Hennig, M. L. Munzarová, W. Bermel, L. G. Scott, V. Sklenár, J. R. Williamson, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 5851–5858.
- 35) a) J. Xia, A. Noronha, I. Toudjarska, F. Li, A. Akinc, R. Braich, M. Frank-Kamenetsky, K. G. Rajeev, M. Egli, M. Manoharan, *ACS Chem. Biol.* 2006, 1, 176–183; b) A. Somoza, J. Chelliserrykattil, E. T. Kool, *Angew. Chem.* 2006, 118, 5116–5119.
- 36) a) H. Moroder, C. Kreutz, K. Lang, A. Serganov, R. Micura, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 9909–9918; b) R. Micura, C. Höbartner, R. Rieder, C. Kreutz, B. Puffer, K. Lang, H. Moroder, *Curr. Prot. Nucl. Acids Chem.* 2006, im Druck; c) M. Egli, P. S. Pallan, R. Pattanayek, C. J. Wilds, P. Lubini, G. Minasov, M. Dobler, C. J. Leumann, A. Eschenmoser, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 10847–10856.

1. NUKLEOPHILE SUBSTITUTION

$$R-X + NHR'_2 \rightarrow R-NR'_2 + HX$$

(ALKYLIERUNG VON AMINEN) !!

GDCh [TEL. 069 7917-364] → **ANRUFEN !!**
 → **www.gdch.de**

!! FORTBILDUNG !!

GDCh
 GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

Fortbildung
 Telefon 069 / 7917 364
 Fax 069 / 7917 475
 E-Mail fb@gdch.de
 Internet www.gdch.de