ORIGIN OF THE PEPTIDE-FORMING FUNCTION IN THE RIBOSOME Koji Tamura^{1,2,3}

¹Department of Biological Science and Technology, and ²Research Institute for Science and

Technology, Tokyo University of Science,

2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

³PRESTO, Japan Science and Technology Agency, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama

332-0012, Japan

E-mail: koji@rs.tus.ac.jp

(Received July 12, 2011; Accepted September 13, 2011)

(Abstract)

Peptide bond formation catalyzed on the ribosome is a crucial event in the life on earth. The ribosome is a supercomplex of ribonucleoprotein particles containing both RNAs and proteins, and the peptide bond is produced on the peptidyl transferase center (PTC) of the large subunit of the ribosome. The high-resolution structures of the ribosome showed that the PTC is composed of only RNA. Although the ribosome seems to be a ribozyme, the foundation of the PTC and the evolutionary route of the ribosome are not clear. In this study, a possible evolutionary pathway for ribosome formation has been presented by combining a model experiment and the structural analysis of the ribosome. The current ribosome-catalyzed reaction could have evolved from a primitive system in the RNA world comprising proto-tRNA molecules like the minihelix. The missing link in the evolutionary route of the modern ribosome can be solved by considering tRNAs as primordial molecules comprising proto-ribosomes and proto-tRNAs, which form a symmetrical RNA dimer to constitute the PTC.

(Keywords)

ribosome; peptide bond formation; proto-tRNA; minihelix; RNA dimer; evolution

リボソームにおけるペプチド生成機構の 起源 田村浩二 1,2,3 1東京理科大学 基礎工学部 生物工学科 2東京理科大学総合研究機構 〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641 3科学技術振興機構 さきがけ 〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8 E-mail: koji@rs.tus.ac.jp

1. はじめに

タンパク質の存在抜きにして地球上の生命 は語れない. DNA の塩基の配列に刻まれた情 報の解読は、3つ組の塩基が1つのアミノ酸 を指定し、そのアミノ酸が順次結合すること で最終的にタンパク質が生成されることに よって完遂される [1]. タンパク質の生成はリ ボソーム上で行われる. リボソームは 50 種以

上のタンパク質と少なくとも3種類の RNA から構成される超複合体である [2]. タンパク 質はアミノ酸がアミド結合(ペプチド結合) を介して繋がっており、リボソーム上で合成 される天然タンパク質は L-アミノ酸のみから 構成されている. 化学進化の過程でどのよう にして L-アミノ酸が選択されたのかを解明す る試みについては他の文献を参照されたい [3-10]. タンパク質は,通常,20 種類の側鎖 から構成されており,その化学的・構造的多 様性により生命活動に多岐の能力を付与して いる.アミノ酸個々の性質からは計り知れな いような効果が、アミノ酸が繋がって様々な 構造を構成することにより、生み出されてい るのである.従って、生命の起源と進化の観 点から、タンパク質がどのように生成される ようになったのかを解明することは、 生命の 本質にも迫ることになる.技術の発展により, ある程度の長さを持つペプチドですら化学的 に合成できる時代になってはいるが、生命の 本質と進化を理解する上では、原始地球上で 生命体がどのようにタンパク質を合成し始め, リボソームを用いる現在のタンパク質の合成 機構がどのように生み出されてきたのかを明 らかにすることが肝要である.

リボソームは大小2つのサブユニットから 構成されており、大きく役割分担がされてい る.ペプチド結合の生成はリボソームの大サ ブユニットで行われる.大サブユニット中の ペプチジルトランスフェラーゼ中心(Peptidyl Transferase Center, PTC) という場所で、ペプ チド結合は生成される (Fig. 1) [11]. リボソー ムにはアミノ酸を付加された tRNA (アミノア シル tRNA) が運ばれて来るが、いわゆる L 字型の構造を持つ tRNA の片方の腕に相当す るアミノ酸結合部位を含むヘリックス(ミニ ヘリックス)がリボソームの大サブユニットと相互作用することで、ペプチド結合生成に 寄与しているのに対し,L 字型のもう一方の 腕に相当するアンチコドンを含むヘリックス の部分がmRNA 上のコドンと相互作用するこ とで,遺伝暗号表に記された遺伝情報の正確 な伝達に寄与している [12]. 大サブユニット で起こるペプチド結合の生成は、コドン・ア ンチコドン対合のようにアミノ酸特異的なも のではなく, アミノ酸の種類に関わらず起こ ることであり、化学進化あるいは生物進化の 過程で、大サブユニットは小サブユニットに 先んじて出現したと考えられている [12-14].



Figure 1. Structure of the large ribosomal subunit from *Haloarcula* marismortui (PDB ID 1JJ2) together with that of yeast tRNA^{Phe} (PDB ID 1EHZ) in the same scale (rendered using PyMOL). RNAs are shown in yellow, and proteins are shown in blue. The minihelix is composed of one arm of the L in tRNA with the CCA end, and the anticodon is located on the other arm of the L. The minihelix is thought to have evolved prior to the other parts of the tRNA.

2. リボソームでのペプチド結合生成メカニ ズム

リボソームの高分解能立体構造解析が、近 年、急速に発展し、リボソームの大小サブユ ニットそれぞれ、更には、大小サブユニット 双方から構成されるリボソームの全体構造 や、リボソームと他のタンパク質因子との複 合体の構造まで明らかになってきた [15-21]. 2009 年には、これらの業績に対し、 Ramakrishnan, Steitz, Yonath の3氏にノーベ ル化学賞も授与されている.特に、ペプチド 結合生成の場である大サブユニットの構造 は、生物のタンパク質合成機構の解明に大き な視点を与えた. 好塩菌 Haloarcula marismortui のリボソームの大サブユニット の構造が Steitz らによって示され, PTC 付近 の構造が明らかになったが、驚いたことに、 PTC はすべて RNA のみから構成されており, PTCから一番近い位置にあるタンパク質です ら、18Åも離れたところに配置されているこ とが明らかになった [15,16]. リボソームを構 成する RNA のうち, 23S rRNA のドメイン V を中心として PTC が構成され, アミノ酸を運 んできた tRNA の CCA 末端付近は、リボソー ムのこの領域と相互作用することにより、ペ プチド結合を生成することが明らかになっ てきた. リボソームは RNA とタンパク質の 複合体ではあるが、ペプチド結合反応を触媒

する部位には, RNA しか存在していないとい う事実から,「リボソームはリボザイムであ る(The ribosome is a ribozyme.)」[22]という ことが示唆されてきた.これは,かつて存在 したであろう RNA ワールドの有力な証拠の 1つであると考えられている.

PTC の構造が明らかになったものの,実際 のペプチド結合生成のメカニズムに関して は、今日に至るまで,まだ決着は得られてい ない.アミノアシル tRNA が有するカルボキ シルエステル結合は、タンパク質の持つアミ ド結合(ペプチド結合)よりも,自由エネル ギー的な観点からは高エネルギーであり,加 水分解によるアミノ酸の離脱を回避できれ ば、ペプチド結合の生成は自発的に起こる反 応である (Fig. 2a).その意味で,リボソーム は、単に、2つのアミノアシル tRNA のアミ ノ酸を近づけるための足場に過ぎないとい う考えもあるが、しかし、それだけではリボ ソームが持つ触媒活性の高さを説明できな いであろう.

立体構造を解析することで,2904 ヌクレオ チドから構成される 23S rRNA (大腸菌の場 合)の2451 番目のアデニン (A2451)が PTC に最も近い位置に存在する塩基であること が明らかになった.この事実から,A2451の アデニン環のN1かN3がアミノ酸のアミノ基 からプロトンを引き抜くことにより,このア ミノ基の求核性を高めているのではないか



Figure 2. Chemical reactions on the ribosome in the process of peptide bond formation. The peptidyl residue is shown in blue, and the aminoacyl residue, in red. (a) A general reaction scheme of the peptide bond formation on the ribosome. The lone pair on the nitrogen atom of the amino group attacks the carbonyl carbon of peptidyl-tRNA and a peptide bond is formed. (b) The possible role of N3 of A2451 from 23S rRNA as a general base that abstracts a proton from the amino group, which increases the nucleophilicity of the nitrogen atom. Only positions 2' and 3' of the ribose ring of peptidyl-tRNA are shown. (c) A possible "proton shuttle" mechanism occurring within the hydrogen bond network around the 2'-OH of A2451 from 23S rRNA. Cleavage of the ester bond of the peptidyl-tRNA causes the transfer of a proton from the 2'-OH group, which receives a proton from the α -amino group of the aminoacyl-tRNA.

ということが考えられたが (Fig. 2b) [16], A2451 を他の塩基に置換した RNA を用いて もペプチド結合生成能が大きく変化しない ことから,その可能性は低いことが明らかに なってきた [23-25]. 一方で, A2451 のリボー スの 2'-OH を介した水素結合のネットワーク がアミノ酸のアミノ基の求核性の向上に寄 与しているモデルも提唱されている (Fig. 2c) [26,27]. また, 中性子回折を用いた実験では, リボソームの全体(70S)においては、大サ ブユニットだけ(50S)の場合と比べて、リ ボソームタンパク質の位置が 30Åも大きく 動くことが示唆されており、ペプチド結合生 成というイベントに, RNA のみならず, タン パク質が寄与している可能性を示唆する報 告もある [28]. リボソームの大サブユニット を構成するタンパク質の1つである L2 タン パク質中のヒスチジン残基は、古くからの生 化学的な実験でも,その重要性が示唆されて きており [29], 今後, このようなダイナミク スをも考慮したメカニズムの解明が待たれ る.

3. ペプチド結合生成の起源と RNA ワール ド 化学的には,活性化したアミノ酸の縮合が

起これば、ペプチド結合の生成は可能であり、 アミノ酸を活性化するために考えられる経 路はさまざま存在する.おそらく,原始地球 においては,地球が持つエネルギー(地熱, 圧力,熱水噴出孔など)や太陽の光エネル ギーを利用してアミノ酸を活性化し,ペプチ ド結合が生成されていた可能性がある.また, 現存する生物の中には,抗生物質などを生成 する際に,リボソームによらないペプチド生 成 (non-ribosomal peptide synthesis) の経路を 利用するものが知られており、それらも化学 進化の経路を想像する参考になるだろう. そ こでは、チオエステルという形でアミノ酸を 活性化し、ペプチドの生成を行っている.ち なみに、これらのペプチドの中には D-アミノ 酸を含むものも含まれている. de Duve は, このように、チオエステルが RNA ワールド に先立った可能性を指摘しており(「チオエ ステルワールド」) [30], 鉄や硫黄からなる 世界が独立栄養性の代謝系を構成したであ ろうとする Wächtershäuser の「鉄・硫黄ワー ルド」 [31] と共に, 原始生命形態の在り方 に独自の提言をしている. アミノ酸によるペ プチドの重合に関しては、高温や乾燥を利用 した原田や Fox による取り組み [32] をはじ め、粘土を足場にして活性化したアミノ酸を

つなげるさまざまな試みも見逃せないだろう [33].

しかしながら、生命系の進化の連続性を考 えれば、現在のペプチド生成系に類似したプ ロトタイプのペプチド生成系から現在の系 が化学進化、あるいは生物進化したと考える のが自然であり、その意味で、現在のリボ ソームをベースとしたペプチド結合生成系 の起源は、間違いなく、原始 tRNA を基盤と したペプチド生成系の存在であろう. tRNA はL字型の構造を有するが、先述の通り、ミ ニへリックス部分にアンチコドンを含むへ リックスの部分が進化的に付け加わること により現在の tRNA が生成されたものと考え られる.

ペプチド生成の進化過程において、まずは アミノ酸が繋がるのが先決であり、コドンの 情報に基づいた厳密なアミノ酸特異性の獲 得は後で起こったものと考えられる. 20 種類 のアミノ酸がすべて、原始地球において初め から存在していたとは考えられず、タンパク **質合成系は、厳密な情報に基づかないミニヘ** リックスのアミノアシル化とリボソームの 大サブユニット上でのペプチド結合の生成 から進化し, アンチコドンを有する tRNA と, アミノアシル tRNA 合成酵素や(小サブユ ニットの付加も伴った)リボソームとの相互 作用の精密化によって、遺伝暗号の厳密な解 読という機能を獲得していったものと考え られる.実際、アミノ酸が付加したミニヘ リックスは、リボソームの大サブユニットの 基質になり、ペプチド結合を生成することが 知られている [34]. このように, さまざまな 証拠から、ミニヘリックスが原始の tRNA の 形態であると考えられている [13,14]. Cech と Altman によるリボザイムの発見により [35,36],「RNA ワールド」の存在が示唆され [37], それはリボソームの立体構造の解明で, 更に確からしいものとなった.そこで,ミニ ヘリックスをもとにした原始ペプチド生成 系を想定すると、RNA ワールドからペプチド 合成系の化学進化のシナリオを描くことが できる. RNA ワールドからタンパク質合成系 へといかにして発展したかという問題は、こ のようなシナリオを描けば解決可能である と思われる.一方, RNA ワールド以前の世界 から,いかにして RNA ワールドが生まれた のかという問題は、非常に難問であり、Orgel がその晩年をこの問題の解明に捧げたにも かかわらず,未だに謎のままである [38].本 論文では、ミニヘリックスをもとにしたペプ チド結合生成系の出現とリボソームへの進 化のみに言及し, RNA ワールド以前の世界に ついては、今後の研究に期待したい.

4. ミニヘリックスをベースとしたペプチド 結合生成モデル

RNA ワールド仮説の提唱以来,人工的に 活性を持った RNA を試験管内で選択して来

ようという試みが行われ、さまざまな人工 RNA が得られてきた [39.40]. これらの方法 はSELEX(Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) 法と呼ばれ, 今後の RNA 創薬の可能性も含め、数々のア プタマーと呼ばれる、特定の分子と特異的に 結合する RNA の創成が行われている.アプ タマーという名はラテン語の aptus (英語の fit に相当)に由来している.ペプチド結合生 成を触媒するリボザイムも SELEX 法を用い て取られてはいるが, 196 ヌクレオチドもの 長さを持つ RNA である [41]. SELEX 法を 用いれば、原理的には、特定の機能と長さを 持つ RNA の創成が可能である.しかし、こ の方法にはタンパク質合成系の産物である 耐熱性の DNA ポリメラーゼが用いられてお り、原理はともかく、タンパク質合成系がい かにして成立できるかを考える原始的な段 階で,このような方法が出現できたかについ ては大きな疑問が残る. そういった意味で, ペプチド結合生成を触媒するリボザイムが 創成されたとは言っても、196 ヌクレオチド の長さの RNA が生命の初期に、その順番の 配列を持って生み出されたとは非常に考え にくい

SELEX 法のような RNA の化学進化モデル が実際に存在できれば,確率的な困難さに関 する矛盾は解消できるが,単に原始環境での ランダムな過程を考えれば,75 程度の長さの ヌクレオチドから構成される現在の tRNA [42]でも,伸長の過程ですべての可能性 (4⁷⁵) を網羅するとすれば,全地球の 1/100 ほどの 質量が必要になる.しかし,ミニヘリックス は tRNA の半分程度の長さであり,伸長の過 程ですべての可能性を網羅できる可能性は 低くない.このようなことを念頭におき, tRNA と同様にミニヘリックスにも存在する 一本鎖の CCA 配列とリボソームとの相互作 用も考慮したモデルが考案されている.

リボソーム上では, tRNA の CCA 配列が 23S rRNA と相互作用をすることによって, ペプチド結合生成を確かなものにしている [16,43,44].特に, CCA 中の CC と 23S rRNA 中の GG とは,明確なワトソン・クリック結 合を介して相互作用することが,X線による リボソームと基質アナログ (CCdA-p-Puro) との複合体の構造からも明らかにされてい る [16].従って,このtRNA の CCA 配列と 23S rRNA との相互作用のエッセンスだけを 残し,他のリボソームの成分 (RNA のみなら ずタンパク質もすべて)を取り除いた概念的 モデル系が構築された [45].

23S rRNA の特徴とアミノアシル tRNA の 特徴の双方を兼ね備えた分子として, UGGU の5'末端にピューロマイシン (Pm)を, 5'-5' ホスホジエステル結合を介して繋げた (Pm-UGGU). Pm は, その構造が 3'-L-チロ シル-アデノシンに類似しており, このモデル 分子を用いることで, リボソーム上の 23S rRNA に近接しているアミノアシル tRNA を 模擬していることになる.一方,もう1つの アミノ酸の供給源であるペプチジル tRNA の アナログとしては、ミニヘリックスをL-アラ ニンでアミノアシル化した後、アミノ基をア セチル化することにより調製した (*N*-Ac-L-Ala-ミニヘリックス).ミニヘリッ クスが持つ ACCA と Pm-UGGU 中の UGGU が相互作用することにより、両分子が近接し、 Pmの *O*-メチル-L-チロシン部分のアミノ基の ローンペアが、*N*-Ac-L-Ala-ミニヘリックスの カルボニル炭素を求核攻撃することにより、 目的のペプチド結合が生成されるかどうか を調べた (Fig. 3) [45].

驚いたことに、リボソームのような超複合体の存在なしで、このような単純なモデル系において、ペプチド結合が生成されることが明らかになった.また、この実験でACCAとUGGUの相互作用による近接効果が重要であることが改めて示された.さらに、反応溶液中にイミダゾールを加えるとペプチド結合生成が促進されることを示唆する結果が得られた.イミダゾールの共役酸の pKaは6.99 であり、中性付近の反応系においてイミダゾールのN原子がアミノ基のプロトン引き抜きを促進した可能性が考えられる.

上述の 23S rRNA (A2451) のリボースの 2'-OH を介した水素結合のネットワークモデ ルが提唱する触媒効果や中性子回折像が示 すリボソームタンパク質のダイナミックな 動きを,このセクションで取り上げた Pm-UGGU とミニへリックスを用いたモデル 実験の結果と,合わせて捉えると,リボソー ムの起源を考える上で,近接効果と触媒効果 をどのように実現するかが,今後の課題であ る.

5. おわりに~リボソームへの道

前のセクションで示したモデル実験では、 リボソームやタンパク質を一切使用していな いが、モデル作成の概念として、単純化した 中にも、現在のリボソームと tRNA との相互 作用に見られるエッセンスだけを抽出するこ とを含めた.それらが、アセチルアラニル化 されたミニヘリックス(ペプチジル tRNA に 相当)であり、Pm-UGGU(rRNA の重要配列 とアミノアシル tRNA の特徴を併有)であっ た.ミニヘリックスのような RNA が、タンパ ク質の存在なしでペプチド結合生成を促進し た可能性は示せたが、これがいかにして、現 在の成熟したリボソームにつながったのかに ついては、依然として不明である.

この点に迫るために、改めて、リボソーム の PTC の構造に注目する必要があろう. さま ざまな種類の生物のリボソームの構造が明ら かにされてきたが、強い放射線耐性を示す細 菌である *Deinococcus radiodurans* の大サブユ ニットの構造を詳細に調べることによって、 PTC がいかにして単純な RNA から生成され てきたのかについて考えるための重要なパー スペクティブが得られた [46,47]. この構造に おいて, L 字型をした RNA の二量体が対称的 に配置されて PTC を構成していることが明ら かになった.しかも,対称的に配置されてい る RNA のサイズ (ヌクレオチド長)は tRNA と同じ程度であり,現在の厳密に組織化され た L 字型の tRNA の前駆体とも言える初期の L 字型 tRNA (Proto-tRNA)が二量体を形成す ることで,初期の PTC を形成したシナリオが 考えられる.つまり,現在の仕組みへの化学 進化の連続性の立場から,例えば,まずは L 字型を有する tRNA 様分子の一対が,原始の リボソームの PTC を構成した可能性が示唆さ れよう.

tRNAは2つのヘアピン状RNAが繋がった ような形状をしているので,可能性の1つと して,ミニヘリックスのような半tRNA状分



Figure 3. A simplified model that reflects the essence of peptide bond formation on the ribosomal process. Puromycin possesses a structure similar to that of L-tyrosyl-tRNA and UGGU contains the essential sequence found in the PTC of 23S rRNA. By combining these two parts via the 5'-5' phosphodiester bond, the puromycin-containing oligonucleotides (Pm-UGGU) have the characteristics both of aminoacyl-tRNA and 23S rRNA. Acetylation of the amino group of the L-alanyl-minihelix produces *N*-acetyl-L-alanyl-minihelix, which has the characteristics of peptidyl-tRNA. dmA denotes N,N-dimethyladenosine, which is contained in puromycin.

子が重複して,初期のL字型tRNA様分子を 生成したことが考えられる[48]. このような RNA ダイマーは原始リボソームのPTCを構 成すると同時に,2つのアミノアシルtRNA としても作用したのかもしれない.同一起源 であるtRNA様のL字型RNAのうち,或るも のは,PTCを形成し,2つのアミノアシル tRNAをペプチド結合が生成するのにふさわ しい空間配置を可能にするように進化し,ま た或るものは,現在のtRNAに進化して行っ たと考えると,現在の系とミニへリックスに 基づく化学進化系が矛盾なく繋がるように見 える (Fig. 4).

これはまったく新しい見方であり, 今後,



Figure 4. A possible representation of the symmetrical proto-PTC that could have existed in the first stage of the evolution of life. The symmetrical structure is actually found in the PTC of the ribosome of *Deinococcus radiodurans* [46,47]. Each region is composed of RNA that is similar in size to modern tRNA. tRNA can be formed in the duplication of a half-sized hairpin RNA like a minihelix [48]. L-shaped proto-tRNA dimer could have constituted a scaffold for the peptide bond formation between the two aminoacyl-tRNAs.

この可能性を検証する実験が行われると期待 している.このような原始リボソームは,RNA ワールドで出現し、現在のリボソームへ進化 したかもしれない.現在のリボソームには, 多くのタンパク質因子が関与しており、特に ペプチド鎖解離因子はタンパク質でありなが ら, tRNA と同様に mRNA のコドン(終止コ ドン)をしっかりと認識する.興味深いこと に、ペプチド鎖解離因子は tRNA と非常に良 く似た立体構造をしていることが明らかに なっており、過去に tRNA がこのような役割 をしていたのかについて、また、似た構造を 持つタンパク質が進化の過程で RNA に置き 換わって機能し始めたのかについて、さまざ まな可能性も含め、分子擬態という概念はリ ボソームの進化を語る上で非常に重要になる であろう [49,50].

タンパク質の機能は生命現象の根幹である のみならず、タンパク質の生成機構の進化の 解明は、生命そのものの理解のために避けて は通れないものである.様々な分野の研究を 総合することにより、本質的な解明が待たれ る.人間の想像力に期待したい.

謝辞

東京大学の伊藤耕一博士には、本論文の内容について、多くのディスカッションをしていただいた.また、科学技術振興機構・さきがけ(RNAと生体機能)、日本学術振興会・科学研究費助成事業(科学研究費補助金)、および、文部科学省・私立大学戦略的研究基盤形成支援事業による助成をいただいた.ここに感謝の意を表したい.

引用文献

- Tamura, K. and Alexander, R. W. Peptide synthesis through evolution, Cell. Mol. Life Sci. 61, 1317-1330 (2004).
- Moore, P. B. Ribosomes, Curr. Opin. Struct. Biol. 1, 258-263 (1991).
- 3. Tamura, K. and Schimmel, P. Chiral-selective aminoacylation of an RNA minihelix, Science 305, 1253 (2004).
- Tamura, K. and Schimmel, P. R. Chiral-selective aminoacylation of an RNA minihelix: Mechanistic features and chiral suppression, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 13750-13752 (2006).
- Tamura, K. Origin of amino acid homochirality: Relationship with the RNA world and origin of tRNA aminoacylation, Biosystems 92, 91-98 (2008).
- Tamura, K. Molecular handedness of life: Significance of RNA aminoacylation, J. Biosci. 34, 991-994 (2009).
- Tamura, K. Amino acid homochirality and the RNA world: Necessities for life on Earth, J. Cosmol. 5, 883-889 (2010).
- Tamura, K. RNA-directed molecular asymmetry of amino acids, Viva Origino 38, 18-22 (2010).
- Tamura, K. Mechanistic features of RNA-directed molecular asymmetry of amino acids. Viva Origino, in press.
- Tamura, K. Molecular Basis for Chiral Selection in RNA Aminoacylation, Int. J. Mol. Sci. 12, 4745-4757 (2011).
- Noller, H. F. On the origin of the ribosome: Coevolution of subdomains of tRNA and rRNA, pp. 137-156, in Gesteland, R. F. Eds., The RNA World, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York, 1993.
- Schimmel, P. and Alexander, R. W. All you need is RNA, Science 281, 658-659 (1998).
- Schimmel, P., Giegé, R., Moras, D. and Yokoyama, S. An operational RNA code for amino acids and possible relationship to genetic code, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 8763-8768 (1993).
- Schimmel, P. and Ribas de Pouplana, L. Transfer RNA: from minihelix to genetic code, Cell 81, 983-986 (1995).
- Ban, N., Nissen, P., Hansen, J., Moore, P. B. and Steitz, T. A. The complete atomic structure of the large ribosomal subunit at 2.4 Å resolution, Science 289, 905-920 (2000).
- Nissen, P., Hansen, J., Ban, N., Moore, P. B. and Steitz, T. A. The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis, Science 289, 920-930 (2000).
- 17. Schluenzen, F., Tocilj, A., Zarivach, R., Harms, J.,

Gluehmann, M., Janell, D., Bashan, A., Bartels, H., Agmon, I., Franceschi, F. and Yonath, A. Structure of functionally activated small ribosomal subunit at 3.3 angstroms resolution, Cell 102, 615-623 (2000).

- Wimberly, B. T., Brodersen, D. E., Clemons, W. M. Jr., Morgan-Warren, R. J., Carter, A. P., Vonrhein, C., Hartsch, T. and Ramakrishnan, V. Structure of the 30S ribosomal subunit, Nature 407, 327-339 (2000).
- Korostelev, A. and Noller, H. F. The ribosome in focus: new structures bring new insights, Trends Biochem. Sci. 32, 434-441 (2007).
- 20. Ramakrishnan, V. What we have learned from ribosome structures, Biochem. Soc. Trans. 36, 567-574 (2008).
- Steitz, T. A. A structural understanding of the dynamic ribosome machine, Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 9, 242-253 (2008).
- 22. Noller, H. F., Hoffarth, V. and Zimniak, L. Unusual resistance of peptidyl transferase to protein extraction procedures, Science 256, 1416-1419 (1992).
- 23. Polacek, N., Gaynor, M., Yassin, A. and Mankin, A. S. Ribosomal peptidyl transferase can withstand mutations at the putative catalytic nucleotide, Nature 411, 498-501 (2001).
- Thompson, J., Kim, D. F., O'Connor, M., Lieberman, K. R., Bayfield, M. A., Gregory, S. T., Green, R., Noller, H. F. and Dahlberg, A. E. Analysis of mutations at residues A2451 and G2447 of 23S rRNA in the peptidyltransferase active site of the 50S ribosomal subunit, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 9002-9007 (2001).
- Bieling, P., Beringer, M., Adio, S. and Rodnina, M. V. Peptide bond formation does not involve acid-base catalysis by ribosomal residues, Nat. Struct. Mol. Biol. 13, 423-428 (2006).
- Erlacher, M. D. and Polacek, N. Ribosomal catalysis: the evolution of mechanistic concepts for peptide bond formation and peptidyl-tRNA hydrolysis, RNA Biol. 5, 5-12 (2008).
- 27. Pech, M. and Nierhaus, K. H. Ribosomal peptide-bond formation, Chem. Biol. 15, 417-419 (2008).
- Willumeit, R., Forthmann, S., Beckmann, J., Diedrich, G., Ratering, R., Stuhrmann, H. B. and Nierhaus, K. H. Localization of the protein L2 in the 50 S subunit and the 70 S E. coli ribosome, J. Mol. Biol. 305, 167-177 (2001).
- Cooperman, B. S., Wooten, T., Romero, D. P. and Traut, R. R. Histidine 229 in protein L2 is apparently essential for 50S peptidyl transferase activity, Biochem. Cell Biol. 73, 1087-1094 (1995).
- de Duve, C. Vital dust: Life as a cosmic imperative, Basic Books, New York, 1995.
- Wächtershäuser, G. Groundworks for an evolutionary biochemistry: the iron-sulphur world, Prog. Biophys. Mol. Biol. 58, 85-201 (1992).
- 32. Fox, S. W. and Harada, K. Thermal copolymerization of amino acids to a product resembling protein, Science 128, 1214 (1958).
- Paecht-Horowitz, M., Berger, J. and Katchalsky, A. Prebiotic synthesis of polypeptides by heterogeneous polycondensation of amino-acid adenylates, Nature

228, 636-639 (1970).

- Sardesai, N. Y., Green, R. and Schimmel, P. Efficient 50S Ribosome-catalyzed peptide bond synthesis with an aminoacyl helix, Biochemistry 38, 12080-12088 (1999).
- Kruger, K., Grabowski, P. J., Zaug, A. J., Sands, J., Gottschling, D. E. and Cech, T. R. Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of Tetrahymena, Cell 31, 147-157 (1982).
- Guerrier-Takada, C., Gardiner, K., Marsh, T., Pace, N. and Altman, S. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme, Cell 35, 849-857 (1983).
- 37. Gilbert, W. The RNA world, Nature 319, 618 (1986).
- Orgel, L. E. Prebiotic chemistry and the origin of the RNA world, Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 39, 99-123 (2004).
- Tuerk, C. and Gold, L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase, Science 249, 505-510 (1990).
- Ellington, A. D. and Szostak, J. W. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands, Nature 346, 818-822 (1990).
- 41. Zhang, B. and Cech, T. R. Peptide bond formation by in vitro selected ribozymes, Nature 390, 96-100 (1997).
- Jühling, F., Mörl, M., Hartmann, R. K., Sprinzl, M., Stadler, P. F. and Pütz, J. tRNAdb 2009: compilation of tRNA sequences and tRNA genes, Nucleic Acids Res. 37(Database-Issue), 159-162 (2009).
- Moazed, D. and Noller, H. F. Sites of interaction of the CCA end of peptidyl-tRNA with 23S rRNA, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 3725-3728 (1991).
- 44. Tamura, K. The role of the CCA sequence of tRNA in the peptidyl transfer reaction, FEBS Lett. 353, 173-176 (1994).
- 45. Tamura, K. and Schimmel, P. Oligonucleotide-directed peptide synthesis in a ribosome- and ribozyme-free system, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 1393-1397 (2001).
- Agmon, I. The dimeric proto-ribosome: Structural details and possible implications on the origin of life, Int. J. Mol. Sci. 10, 2921-2934 (2009).
- 47. Agmon, I., Bashan, A., Zarivach, R. and Yonath, A. Symmetry at the active site of the ribosome: structural and functional implications, Biol. Chem. 386, 833-844 (2005).
- Tanaka, T. and Kikuchi, Y. Origin of the cloverleaf shape of transfer RNA-the double-hairpin model: implication for the role of tRNA intro and the long extra loop, Viva Origino 29, 134-142 (2001).
- Ito, K., Ebihara, K., Uno, M. and Nakamura, Y. Conserved motifs in prokaryotic and eukaryotic polypeptide release factors: tRNA-protein mimicry hypothesis, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 5443-5448 (1996).
- Ito, K., Uno, M. and Nakamura, Y. A tripeptide 'anticodon' deciphers stop codons in messenger RNA, Nature 403, 680-684 (2000).