

Nyckeln till liv på atomnivå

I början av 1900-talet var den kemiska grunden för liv ett mysterium. I dag vet vi hur många av de viktigaste processerna fungerar ända ner på atomnivå. 2009 års Nobelpris i kemi belönar den detaljerade kartläggningen av ribosomen; cellens maskineri för proteintillverkning. Ribosomen omvandlar den passiva informationen i DNA-molekylerna till form och funktion.

När Charles Darwin år 1859 lanserade evolutionsteorin byggde den på att egenskaper är ärftliga och att det då och då sker slumpartade förändringar av egenskaperna. Lyckade förändringar, som ökar överlevnadsförmågan, bevaras till kommande generationer.

När forskarvärlden hade smält Darwins tankar följde: men vad är det som går i arv? I vad uppstår dessa slumpartade förändringar och hur kan de komma till uttryck i en levande varelse?

Årets Nobelpris i kemi är det tredje i en serie av priser som på atomnivå visar hur Darwins teorier fungerar i praktiken. Bilder, framtagna med hjälp av olika röntgentekniker, visar hur den enkla DNA-koden kan bli till hörsel, känsel och smak; muskler, ben och hud; rörelse, tankar och prat.

Trilogin börjar med ett av de mest kända Nobelprisen; när James Watson, Francis Crick och Maurice Wilkins år 1962 belönades för en atommodell av den dubbelsträngade DNA-molekylen. Det andra priset tilldelades Roger D. Kornberg år 2006 för röntgenstrukturer som klargjorde hur informationen i DNA kopieras till molekylen budbärarRNA.

Ribosomen översätter genetisk information till handling

Årets tre Nobelpristagare, **Ada E. Yonath**, **Thomas A. Steitz** och **Venkatraman Ramakrishnan**, belönas för sina kartläggningar av ribosomen – ett av cellens mest sammansatta maskinerier – ner på atomnivå. Ribosomen läser av informationen i budbärarRNA och tillverkar utifrån den proteiner. Forskarna kallar detta för translation. Det är i denna översättningsprocess, där DNA/RNA-språk blir till proteinspråk, som livet blir till i hela sin komplexitet.

I kroppen finns tiotusentals olika proteiner som med makalös precision styr det mesta som sker. Exempel på proteiner är hemoglobin som transporterar syre från lungorna ut i kroppen, insulin som styr sockernivåerna i blodet, antikroppar som fångar upp inkräktande virus, och keratin som bygger upp hår och naglar.

Ribosomer finns i alla celler hos alla levande organismer, från bakterier till människor. Eftersom ingen levande varelse klarar sig utan ribosomer är de perfekta måltavlor för läkemedel. Många av de antibiotika som finns i dag slår ut bakteriernas ribosomer, men lämnar människans i fred. Kunskapen, som årets tre Nobelpristagare har tagit fram, kan därför bli avgörande i jakten på nya antibiotika. Men mer om detta senare. Nu åter till det mysterium som sysselsatte kemister och biologer under 1900-talets mitt. Hur fungerar liv rent kemiskt?

Proteiner – ett pärlband av aminosyror

I början av 1940-talet hade utforskningen av cellen kommit så långt att dåtidens forskare visste att kromosomerna bar på arvsanlagen. Kromosomer är uppbyggda av nukleinsyror (DNA) och proteiner (figur 1). De flesta trodde att proteinerna var de arvsbärande generna, eftersom de är mer komplexa än DNA.

Forskarvärlden fascinerades av proteinerna. Vissa proteiner, visste man, fungerar som byggmaterial. Andra, enzymerna, startar och styr kemiska reaktioner. Men trots att de fyller så många olika funktioner i cellen består alla proteiner av samma byggstenar, av tjugo olika slags aminosyror. Likt pärlor i ett pärlband sitter de sammankopplade i långa kedjor (figur 3). Kopplingen, en så kallad peptidbindning, är mycket stabil. En proteinkedja kan bestå av allt ifrån tiotals till tiotusentals aminosyror. Insulin är till exempel mycket kortare än blodkropparnas hemoglobin.

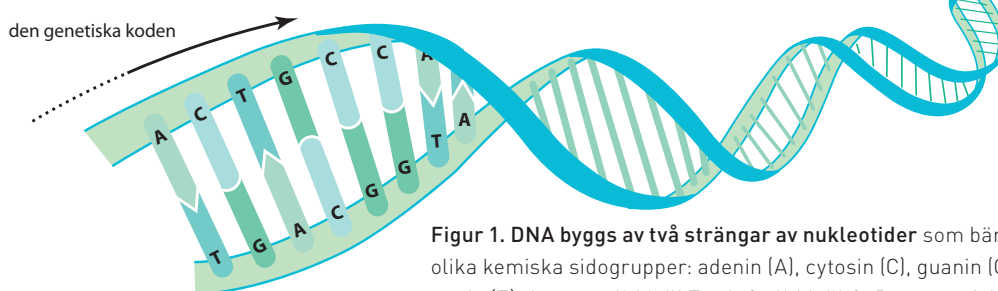
DNA – för enkel för att bära arvet vidare

DNA-molekylen var däremot föga intressant för 1940-talets forskare. Den isolerades från cellens kärna 1871 av schweizaren Friedrich Miescher. Han kallade den nyfunna molekylen för nuklein (kärna heter *nucleus* på latin).

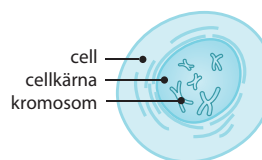
Precis som proteiner, är DNA ett pärlband av mindre molekyler. Men DNA består bara av fyra olika pärlor, nukleotider (figur 1). Dessa bär på fyra olika sidogrupper: adenin (A), cytosin (C), guanin (G) och tymin (T).

Fyra byggstenar var alltför få för att kunna fylla någon viktig funktion i cellen, menade forskarna. Därför trodde de att DNA mest fungerade som ett skelett åt kromosomens proteiner.

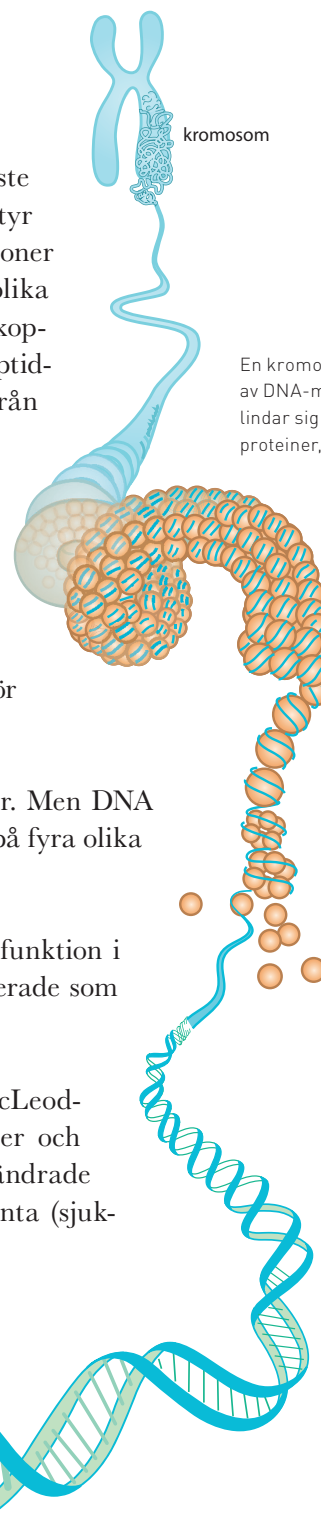
DNA-molekylens revansch kom 1944. I det så kallade Avery-MacLeod-McCarty-experimentet tog forskarna DNA från döda bakterier och förde in det i levande bakterier. Detta ledde till att bakterierna ändrade karaktär. De gick från att vara icke-virulenta till att bli virulenta (sjukdomsframkallande).



Figur 1. DNA byggs av två strängar av nukleotider som bär på fyra olika kemiska sidogrupper: adenin (A), cytosin (C), guanin (G) och tymin (T). A parar alltid till T och C alltid till G. Den genetiska koden ligger i sekvensen av nukleotider längs en DNA-sträng. ACTGCCAT betyder något helt annat än GCGTATAG.



Kroppen består av cirka ethundratusen miljarder celler. Inuti varje cells kärna ligger en uppsättning av de 46 kromosomerna.



En kromosom består av DNA-molekyler som lindar sig kring speciella proteiner, histoner.

Experimentet blev ifrågasatt, men forskarvärlden fick upp ögonen för DNA. Förståelsen av hur DNA kunde bära arvet vidare kom dock först när man hade en atommodell för den dubbla spiralen.

Den geniala dubbla spiralen

Den 28 februari 1953 föll pusselbitarna på plats för James Watson och Francis Crick vid Cavendishlaboratoriet i Cambridge, Storbritannien. Under flera år hade de försökt förstå hur DNA-molekylens fyra nukleotider kunde sammanfogas till en tredimensionell struktur.

En skarp röntgendiffraktionsbild, framtagen av Rosalind Franklin vid King's College i London, visade bland annat att DNA formar en spiral, en helix, som består av två strängar. Analyser av biokemisten Erwin Chargaff, visade också att DNA alltid, oavsett vilken bakterie, insekt eller vilket djur som det kom från, innehåller lika många A som T, och lika många C som G.

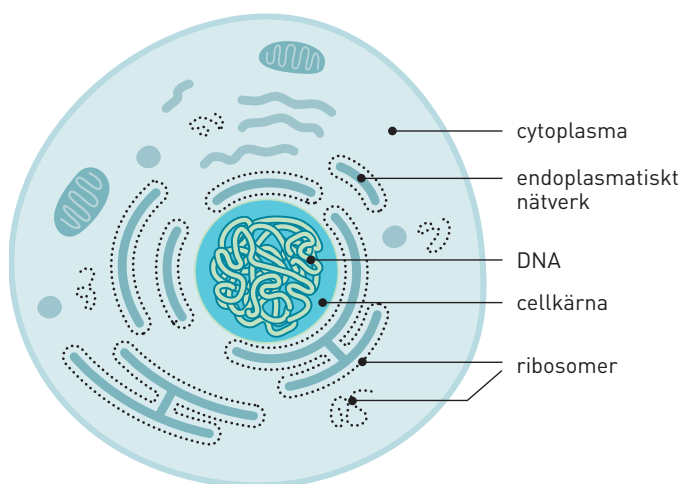
Watson och Crick hade flera misslyckade försök bakom sig. Men de hade jobbat med fel kemiska strukturformer av nukleotiderna. En rättelse från en kollega gjorde att de fick klart för sig att A passar till T, och G till C (figur 1). Nukleotidparen, eller basparen som de brukar kallas, blev lika stora och passade perfekt in i en dubbel spiral.

Forskarvärlden insåg att den genetiska koden ligger i den exakta sekvensen av nukleotider. ATTGCCAT betyder något helt annat än GCGTATAG. Detta, insåg forskarna, styr på något sätt sekvensen av aminosyror i proteiner. Men hur?

RNA – en kusin till DNA

Samtidigt som Watson och Crick gjorde sitt stora genombrott, intresserade sig forskarvärlden allt mer för en annan nukleinsyra som framförallt finns i cytoplasman (den delen av cellen som ligger utanför kärnan). Forskare hade länge känt till att DNA har en släkting, RNA, som också är uppbyggd av fyra olika nukleotider. Men i stället för tymin finns i RNA uracil (U).

Under början av femtioalet insåg forskarna att det mesta av allt RNA finns i små partiklar i cytoplasman (figur 2). Och, upptäckte forskarna, det är ju här som proteinerna tillverkas! 1958 döpte de den proteintillverkande partikeln till ribosom. Den består av proteiner och RNA-molekyler (ribosomaltRNA, rRNA).



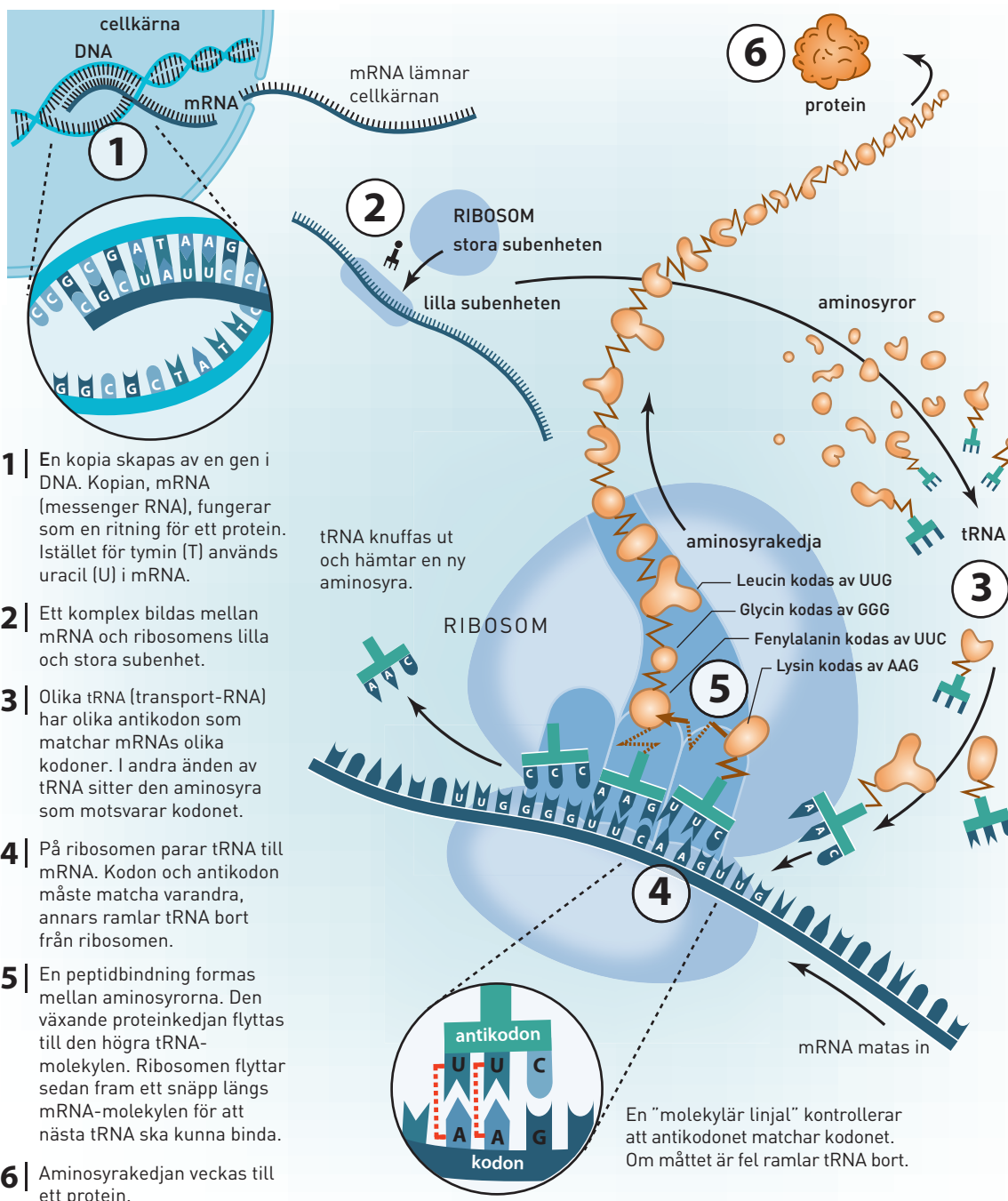
Figur 2. Cell i genomsnitt. En ribosom är cirka 25 nanometer (miljondels millimeter) stor. Vissa ribosomer sitter vid cellens så kallade endoplasmiska nätverk. I en cell finns tiotusentals ribosomer.

Den genetiska koden knäcks på 1960-talet

100 år efter det att Darwin lanserat sin evolutionsteori visste forskarna alltså att den arvsbärande molekyl är DNA. Sekvensen av nukleotider i DNA bestämmer sekvensen av aminosyror i proteiner. Dessa tillverkas av ribosomer ute i cytoplasman. Men var fanns länken mellan DNA och ribosomerna? De ligger på varsin sida om cellkärnans vägg och har ingen kontakt (figur 2).

Svaret kom i början av 1960-talet. Det genetiska budskapet i DNA, insåg forskarna, kopieras till en RNA-molekyl (figur 3). De kallade denna för budbärarRNA (förkortas mRNA efter engelskans messenger RNA). mRNA far ut ur kärnan och fångas upp av ribosomen, som använder mRNA som ritning när den tillverkar proteiner.

Figur 3. Från DNA till proteiner, en av livets grundläggande processer.



När detta blev känt knäckte forskarna snabbt den genetiska koden med hjälp av konstgjort mRNA och ribosomer i ett provrör. Tre och tre läser ribosomen av nukleotiderna i mRNA. Det första ”kodon” (nukleotidtrio) forskarna lärde sig var UUU som ribosomen översätter till aminosyran fenyylalanin. Det finns 64 olika kodoner och 20 aminosyror, så vissa aminosyror kodas av fler än ett kodon.

Själva avläsningen sker med hjälp av en annan RNA-molekyl, transportRNA (tRNA). I ena änden har den ett ”antikodon” som basparar med matchande kodon på mRNA-molekylen i ribosomen (figur 3). I andra änden sitter den specifika aminosyra som hör ihop med kodonet.

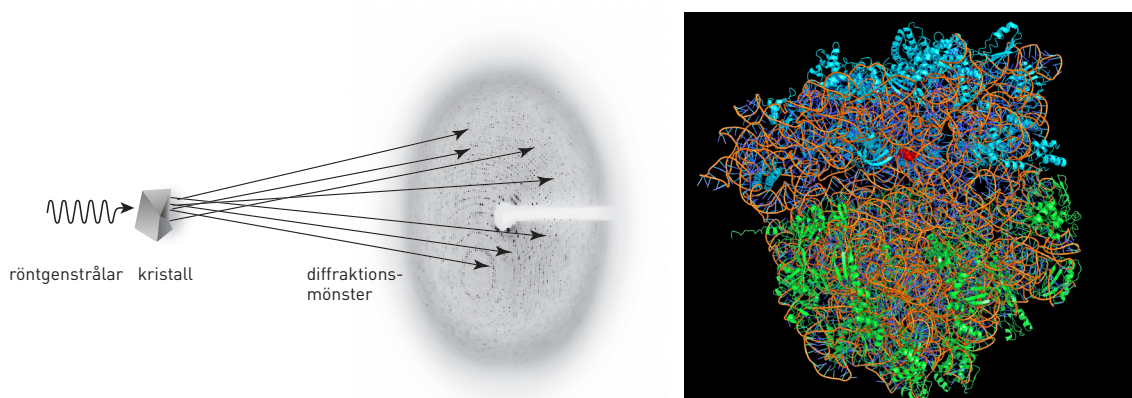
Så var bilden av livets mest fundamentala process klar: hur informationsflödet går från DNA till RNA och blir till handling genom enzymer och andra proteiner. Men bilden var fortfarande schematisk. Eller som James Watson uttryckte det i en översiktsartikel 1964: ”Tyvärr kan vi inte beskriva exakt hur en molekyl fungerar på kemisk nivå, om vi inte först vet dess struktur”.

Det skulle dröja fram till år 2000 innan någon fick fram en struktur som visar hur atomerna sitter i ribosomen.

Ada Yonath – den viljestarka pionjären

Många banbrytande upptäckter har en pionjär som banar nya vägar genom okända marker. Pionjären i det här fallet är Ada Yonath. När hon mot slutet av 1970-talet bestämde sig för att försöka få fram röntgenkristallografistrukturer av ribosomen ansåg många att det var omöjligt.

Inom röntgenkristallografin riktar forskarna röntgenstrålar mot en kristall av, till exempel, ett protein (figur 4). När strålarna träffar atomerna i kristallen ändrar vissa riktning. På andra sidan kristallen registrerar forskarna hur röntgenstrålarna har spridit sig. Tidigare skedde det med hjälp av en fotografisk film, som svärtades av strålarna. Idag sker det med hjälp av CCD-detektorer, som till exempel finns i digitalkameror och som belönas med årets Nobelpris i fysik. Genom att analysera mönstret av svarta prickar, kan forskarna bestämma exakt hur atomerna ligger ordnade i ett protein.



Figur 4. Röntgenkristallografi. Forskarna skapar röntgenstrålar med hjälp av synkrotroner, cirkulära tunnlar där de accelererar elektroner till nära ljusets hastighet. När strålarna träffar ribosomkristallen sprids de och formar ett mönster av miljontals prickar på en CCD-detektor. Genom att analysera mönstret kan forskarna bestämma positionen för ribosomens hundratusentals atomer. Med hjälp av datorer kan de sedan visualisera ribosomen (bilden till höger).

Men för att detta ska fungera måste kristallen vara näst intill perfekt; molekylerna måste ligga i ett precist mönster som upprepar sig om och om igen. Om saltvatten sakta får dunsta kan det, om man har tur, bildas vackra saltkristaller. Men om en kastrull fylld med saltvatten får koka torr, formar saltet bara en tråkig hinna på botten. Olika förutsättningar ger mer eller mindre fina kristaller.

Ungefär så är det med kristaller vid röntgenkristallografi. Att få tillräckligt bra kristaller av ett protein kan vara ett hästjobb. Ju större proteinkomplex desto svårare blir det.

Många var därför skeptiska till Ada Yonaths vision. Ribosomen är ett av de mest komplicerade protein/RNA-komplex som finns. Den är uppdelad i två delar som kallas ”den lilla subenheten” och ”den stora subenheten”. Den lilla subenheten i en mänsklig ribosom består av en stor RNA-molekyl och cirka 32 proteiner. Den stora subenheten består av tre RNA-molekyler och cirka 46 proteiner. Varje subenhet är därför uppbyggd av tusentals nukleotider och tusentals aminosyror, som i sin tur består av hundratusentals atomer. Ada Yonath ville bestämma den exakta positionen för varenda en av ribosomens hundratusentals atomer.

Varma källor och Döda havet – ju tuffare miljö desto bättre kristall

När Ada Yonath bestämde sig för att kristallisera ribosomen, valde hon att arbeta med bakterier från tuffa miljöer. *Geobacillus stearothermophilus* kan leva i varma källor och tål temperaturer upp emot 75 °C. För att klara det måste ribosomen vara extremt stabil och därmed forma bättre kristaller, resonerade Ada Yonath.

Redan 1980 fick hon fram de första tredimensionella kristallerna av ribosomens stora subenhet. Det var en stor bedrift. Men kristallerna var långt ifrån perfekta.

Faktum är att det skulle dröja 20 år av hårt arbete innan Ada Yonath fick fram en bild av ribosomen där hon kunde se var varje atom sitter. Hon provade många nya grepp. Bland annat stabiliserade hon kristallerna genom att frysa ner dem i flytande kväve till -196 °C. Hon provade också att kristallisera ribosomer från andra tåliga mikroorganismer. En av dem fanns i hennes närhet; den lilla saltälskande *Haloarcula marismortui* som lever i Döda havet.

Steg för steg kom Ada Yonath närmare målet. Så småningom började fler forskare inse att en atomstruktur av ribosomen fanns inom räckhåll. Fler anslöt sig till loppet, bland annat Thomas Steitz och Venkatraman Ramakrishnan.

Mönstret av miljontals svarta prickar får en mening

Vid början av 1990-talet var Ada Yonaths kristaller i princip tillräckligt fina; det svartprickiga mönstret var tillräckligt detaljrikt för att bestämma atomernas lägen i ribosomkristallen. Men ett stort problem återstod, röntgenkristallografins så kallade ”fasproblem”. För att kunna bestämma en struktur från mönstret av svarta prickar måste forskarna veta ”fasvinkeln” för varje prick. Det är matematisk information som har med atomernas fördelning i kristallen att göra.

Ett knep som forskarna brukar använda för att ta reda på fasvinklarna är att bada kristallen i tunga atomer, till exempel kvicksilver. De tunga atomerna fäster på ytan av ribosomerna i kristallen. Genom att jämföra prickmönstren från kristaller med och utan tunga atomer kan forskarna komma åt fasvinklarna.

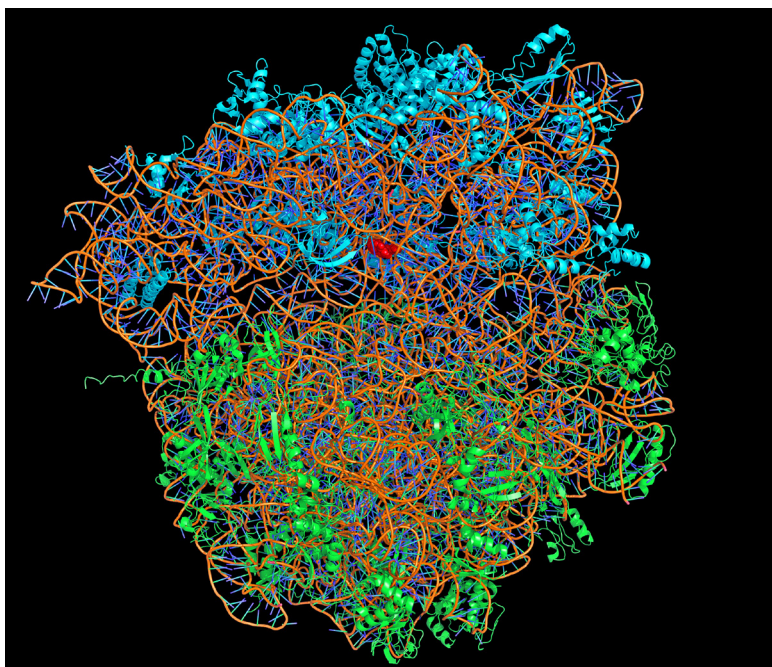
Men eftersom ribosomerna är så stora, fäste det för många tunga atomer för att man omedelbart skulle kunna lösa fasvinkelproblemet. Forskarna blev tvungna att hitta fler nycklar till fasvinklarna.

Thomas Steitz lyckades till slut lösa problemet. Han tog hjälp av bilder på ribosomen, gjord av elektronmikroskopispecialisten Joachim Frank. Med hjälp av dessa kunde Thomas Steitz se hur ribosomerna låg orienterade och placerade i kristallen (däremot kunde han inte se de enskilda atomerna). Denna information, tillsammans med informationen från de tunga atomerna, gav slutligen fasvinklarna.

I mål efter 20 års arbete

År 1998 publicerade Thomas Steitz den första kristallstrukturen av ribosomens stora subenhet. Den var som ett suddigt foto, och hade en upplösning på 9 Ångström (en Ångström är en tiomiljondels millimeter). Det gick inte att se enskilda atomer, men han kunde se ribosomens långa RNA-molekyler. Det var ett avgörande steg.

När fasproblemet väl var löst, räckte det att ytterligare förbättra kristallerna och samla mer data för att öka skärpan i bilderna. Årets tre Nobelpristagare gick över mållinjen nästan samtidigt. Under augusti och september år 2000 publicerade de var sin kristallstruktur med en upplösning på atomnivå. Thomas Steitz lyckades få fram strukturen av den stora subenheten från *Haloarcula marismortui*. Ada Yonath och Venkatraman Ramakrishnan fick fram strukturen av *Thermus thermophilus* lilla subenhet. Därmed var det fritt fram att kartlägga ribosomens funktioner in i minsta atomdetalj.



Figur 5. Röntgenstruktur av en bakterieribosom. rRNA-molekylerna är färgade i orange, den lilla subenhetens proteiner är blå och den stora subenhetens proteiner är gröna. En antibiotikamolekyl (röd) sitter bunden till den lilla subenheten. Forskare studerar strukturer som denna för att kunna formge nya och mer effektiva antibiotika.

Den lilla subenheten håller i den röda pennan

En egenskap hos ribosomen som länge har fascinerat forskarna är att det sällan blir fel när den översätter DNA/RNA-språket till proteinspråket. Om en enda aminosyra byts ut mot en annan kan ett protein helt förlora funktionen, eller, nästan ännu värre, börja fungera annorlunda.

Att rätt aminosyra hamnar på rätt plats beror först och främst på basparningen mellan tRNA och mRNA (figur 3). Men basparningen räcker inte för att förklara ribosomens precision. Venkatraman Ramakrishnans kristallstrukturer av ribosomens lilla subenhet har varit avgörande för förståelsen av hur ribosomens noggrannhet uppkommer. Han har hittat något som kan liknas vid en molekylär linjal (figur 3). Nukleotider i den lilla subenhetens rRNA mäter avståndet mellan kodonet i mRNA och antikodonet i tRNA. Är avståndet felaktigt ramlar tRNA-molekylen av ribosomen.

Linjalen används i två omgångar; ribosomen dubbelkontrollerar att allt blir rätt. Det leder till att det bara blir fel cirka en gång per 100 000 aminosyror.

Den stora subenheten trär pärlorna på pärlhalsbandet

Den stora subenhetens roll i ribosomen är främst att få det nya proteinet att växa fram. Den katalyserar formationen av peptidbindningen mellan aminosyrorna. Att få en bild av hur den kemiska reaktionen går till, steg för steg, är väldigt svårt. Den sker på atomnivå med hög hastighet. I en ribosom formas cirka 20 peptidbindningar per sekund.

Men Thomas Steitz har lyckats frysa olika ögonblick i den kemiska reaktionen. Han har kristalliserat den stora subenheten med molekyler som liknar dem som deltar i formationen av peptidbindningen. Med hjälp av dessa strukturer har forskare listat ut vilka atomer i ribosomen som är viktiga för reaktionen och hur den går till.

Förståelsen av ribosomens funktion på atomnivå bidrar till kunskapen om hur naturen kan omvandla något så enkelt som en kod på fyra bokstäver till något så komplicerat som liv. Precis som James Watson förutsåg år 1964. Och den nyfikenhetsdrivna forskningen kan också, som så ofta, komma till praktisk nytta. Denna gång i jakten på nya antibiotika.

Ribosomen – viktig måltavla i jakten på nya antibiotika

Idag har mänskligheten en arsenal av olika antibiotika att ta till i kampen mot sjukdomsframkallande bakterier. Många av dessa antibiotika tar död på bakterier genom att blockera bakterieribosomens funktion. Men bakterierna har i en skrämmande takt utvecklat resistens mot nästan alla dessa läkemedel. Därför behövs nya.

Årets tre Nobelpristagare i kemi har alla tagit fram strukturer som visar hur olika antibiotika binder till ribosomen. Vissa blockerar tunneln där det växande proteinet kommer ut från ribosomen, en del hämmar sammankopplingen av aminosyror och andra gör så att det blir fel i översättningen från DNA/RNA-språket till proteinspråket.

Flera företag använder nu strukturer av ribosomen för att ta fram nya antibiotika (figur 5). En del av dessa genomgår nu kliniska prövningar för att komma åt problemet med multi-resistenta bakterier, till exempel vid sjukhussjuka.

Förståelsen av ribosomens struktur och funktion kan alltså på detta sätt komma mänskligheten till stor och omedelbar nytta. Kunskapen som Ada Yonath, Thomas Steitz och Venkatraman Ramakrishnan har tagit fram är viktig både för att förstå hur livets kärnprocesser fungerar och för att kunna rädda liv.

LÄNKAR OCH LÄSTIPS

Mer information om årets priser, bland annat en vetenskaplig bakgrundsartikel på engelska, finns på Kungl. Vetenskapsakademiens webbplats, <http://kva.se> och på <http://nobelprize.org>. Där kan man också se presskonferensen som webb-TV. Mer information om utställningar och aktiviteter kring Nobelprisen finns på www.nobelmuseum.se.

Länkar

Om ribosomen på engelska: www.cytochemistry.net/cell-biology/ribosome.htm

Om proteinkristallografi på engelska: www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2003/Kogoy/protein.html

Om makromolekylär röntgenkristallografi: www-structmed.cimr.cam.ac.uk/Course/Overview/Overview.html

Animationer och bilder: se pristagarnas webbplatser nedan.

Böcker på engelska

Nierhaus K. H. och **Wilson D. N.** (2004) *Protein synthesis and ribosome structure: translating the genome*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 579 sid.

Liljas A. (2004) *Structural aspects of protein synthesis*, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 308 sid.

Walsh C. (2003) *Antibiotics: actions, origins, resistance*, ASM Press, Washington, 335 sid.

Böcker på svenska

Edström J-E. (2008) *Koder och kromosomer*, Atlantis, 186 sid.

Ekenstierna L., Ehinger M. (2008) *Bioteknik – från DNA till protein*, Studentlitteratur AB, 229 sid.

PRISTAGARE

VENKATRAMAN RAMAKRISHNAN

Structural Studies Division
MRC Laboratory of
Molecular Biology
Hills Road
Cambridge CB2 0QH
Storbritannien

[www.mrc-lmb.cam.ac.uk/
ribo/homepage/ramak/index.html](http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/ribo/homepage/ramak/index.html)

Amerikansk medborgare. Född 1952 (57 år) i Chidambaram, Tamil Nadu, Indien. F.D. i fysik 1976 vid Ohio University, USA. Senior Scientist och Group Leader vid Structural Studies Division, MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, Storbritannien.

THOMAS A. STEITZ

Molecular Biophysics and
Biochemistry Department
Yale University
266 Whitney Avenue
P.O. Box 208114
New Haven, CT 06520-8114
USA

[www.mbb.yale.edu/
faculty/pages/steitzt.html](http://www.mbb.yale.edu/faculty/pages/steitzt.html)

Amerikansk medborgare. Född 1940 (69 år) i Milwaukee, WI, USA. F.D. i molekylärbioologi och biokemi 1966 vid Harvard University, MA, USA. Sterling professor of Molecular Biophysics and Biochemistry och Howard Hughes Medical Institute Investigator, båda vid Yale University, CT, USA.

ADA E. YONATH

Department of Structural Biology
Weizmann Institute of Science
76100 Rehovot
Israel
[www.weizmann.ac.il/
sb/faculty_pages/Yonath/home.html](http://www.weizmann.ac.il/sb/faculty_pages/Yonath/home.html)

Israelisk medborgare. Född 1939 (70 år) i Jerusalem, Israel. F.D. i röntgenkristallografi 1968 vid Weizmann Institute of Science, Israel. Martin S. and Helen Kimmel Professor of Structural Biology och Director vid Helen & Milton A. Kimmelman Center for Biomolecular Structure & Assembly, båda vid Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel.