

Ribonukleoproteine

Ribosomenbiogenese in Archaeen

MICHAEL JÜTTNER, SÉBASTIEN FERREIRA-CERCA
BIOCHEMIE III, REGENSBURG CENTER FOR BIOCHEMISTRY, INSTITUT FÜR BIOCHEMIE,
GENETIK UND MIKROBIOLOGIE, UNIVERSITÄT REGENSBURG

The ribosome is a universally conserved macromolecular machine responsible for the translation of mRNAs into proteins. The synthesis of ribosomes is a crucial task that has been well characterized in bacteria and eukarya, but not in archaea. Here we summarize our current understanding of ribosome biogenesis in archaea and how it might help to further answer evolutionary questions.

DOI: 10.1007/s12268-022-1815-5
© Die Autoren 2022

■ Das Ribosom ist als Translationsmaschine für die Erstellung jedes Proteins in jeder Zelle verantwortlich und demzufolge ein essenzieller und universeller Bestandteil des uns bekannten Lebens. Dieses faszinierende Makromolekül ist in der Lage den degenerierten, genetischen Nukleinsäurecode in einen Aminosäurecode zu übersetzen, Peptidbindungen zu knüpfen und somit Proteine herzustellen. Angelegt in dieser zentralen Aufgabe ist ein hoher Grad an struktureller und funktioneller Konservierung, der sich in den einzelnen Bausteinen des Ribosoms unverkennbar manifestiert. Als ein Ribonukleoproteinkomplex bestehen die beiden Untereinheiten des Ribosoms aus spezifischen ribosomalen RNAs (rRNAs) und ribosomalen Proteinen (r-Proteine). Im Hinblick auf die ribosomalen Proteine stellt man fest, dass neben einem universellen Kern von 33 r-Proteinen in allen drei Domänen, in Archaeen und Eukaryoten 34 weitere gemeinsame r-Proteine zu finden sind (**Abb. 1**). Die kleine Untereinheit setzt sich bei Prokaryoten aus der 16S-rRNA, die große Untereinheit aus 23S- und 5S-rRNA und den jeweils dazugehörigen r-Proteinen zusammen. Eukaryotische rRNAs sind hingegen wesentlich länger. Seit langem werden die Sequenzen der rRNA und der r-Proteine benutzt, um den Verwandtschaftsgrad von Organismen in phylogenetischen Stammbäumen zu definieren, aber auch die Strukturen der rRNA- oder r-Proteine können Aufschluss über evolutionäre Beziehungen geben. Das Ribosom kann als ein immer noch existierendes

Fossil der Molekularbiologie bezeichnet werden [1, 2].

Aufgrund der hohen Konservierung mag es im Nachhinein nur logisch erscheinen, dass die Welt der Archaeen als eine eigene, unabhängige Domäne des Lebens neben Bakterien und Eukaryoten mithilfe von Sequenzvergleichen genau dieser rRNA durch George Fox und Carl Woese 1977 erstmalig identifiziert wurde [3, 4]. Insofern sind die beiden Forschungsfelder – die Biologie der Archaeen und des Ribosoms – wissenschaftsgeschichtlich eng miteinander verwoben.

In ihrer zellulären und molekularbiologischen Natur sind Archaeen zwar klar von Bakterien und Eukaryoten zu unterscheiden, dennoch finden sich gewisse Ähnlichkeiten. Beispielsweise zählen die Archaeen genau wie Bakterien zu den Prokaryoten, besitzen demnach keinen Zellkern. Auf der anderen Seite wurde bereits in den frühen Jahren der Archaeenforschung erkannt, dass archaeelle RNA-Polymerasen strukturell ihren eukaryotischen Pendanten viel ähnlicher sind als den bakteriellen [4]. Folglich vereinen Archaeen Merkmale aus beiden Domänen in sich, können darüber hinaus aber auch eigene einzigartige Eigenschaften vorweisen. Die Tatsache, dass Archaeen uns als Eukaryoten phylogenetisch näher sind als Bakterien, wurde bereits früh erkannt. Interessanterweise deuten jüngere Studien nun sogar darauf hin, dass die eukaryotische Linie direkt aus den Archaeen, genauer aus einer bestimmten Gruppe davon, den Asgardarchaeen, hervorgegangen sein könnte (**Abb. 2**, [3, 4]).

Doch nicht nur Information über die Bausteine der Ribosomen in unterschiedlichen Organismen können uns helfen, evolutionäre Zusammenhänge besser zu verstehen. Auch der Prozess der Herstellung der beiden ribosomalen Untereinheiten, die Ribosomenbiogenese, bietet das Potenzial für molekulare, vergleichende Evolutionsbiologie [1, 5]. Die Herstellung des Ribosoms ist ein maßgeblicher zellulärer Vorgang, der energetisch aufwendig, hoch komplex und stark reguliert ist. Dabei entstehen molekulare Herausforderungen, wie beispielsweise die korrekte Faltung der rRNA oder die Vermeidung von energetischen Sackgassen. Im Laufe der Evolution haben sich für diese Probleme in verschiedenen Lebensformen unterschiedliche, aber auch gleiche/ähnliche Lösungsmöglichkeiten entwickelt [2, 6].

In Bakterien und Eukaryoten sind viele Schritte der Ribosomenbiogenese detailliert entschlüsselt und viele Ribosomenbiogenesefaktoren – Proteine, die die Assemblierung ermöglichen und unterstützen – bekannt und charakterisiert. In Archaeen hingegen ist dieser Ablauf sehr viel weniger untersucht. Überraschenderweise sind die meisten Ribosomenbiogenesefaktoren zwischen Bakterien und Eukaryoten auf Sequenzebene nicht konserviert [2, 6]. Was Eukaryoten angeht, ist außerdem ein drastischer Anstieg der Anzahl beteiligter Faktoren festzustellen. Der Reifungsweg ist paradoxerweise im Laufe der Evolution beträchtlich verändert worden, obwohl letztlich sehr ähnliche funktionelle Einheiten produziert werden [2, 6]. Das bedeutet andererseits aber auch, dass ein gewisses Maß an konservierten funktionellen Prinzipien, die der Ribosomenbiogenese im gesamten Baum des Lebens zugrunde liegen, vorhanden sein kann.

Ribosomenbiogenese in Archaeen

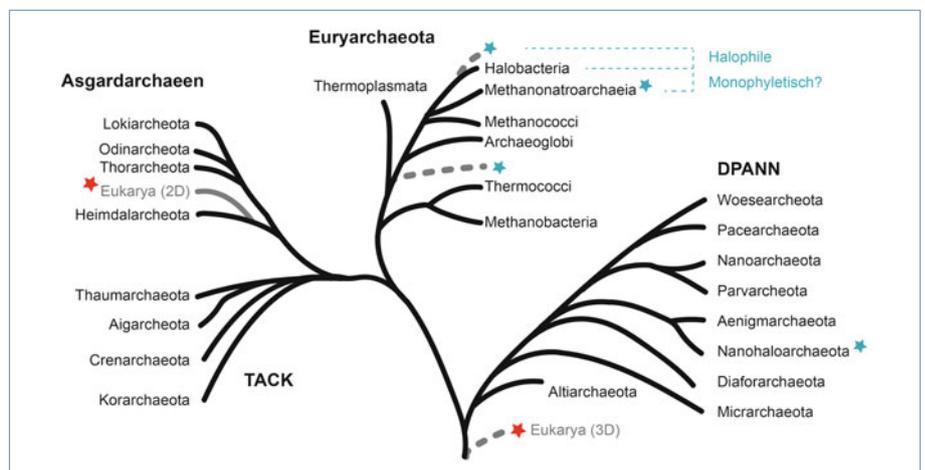
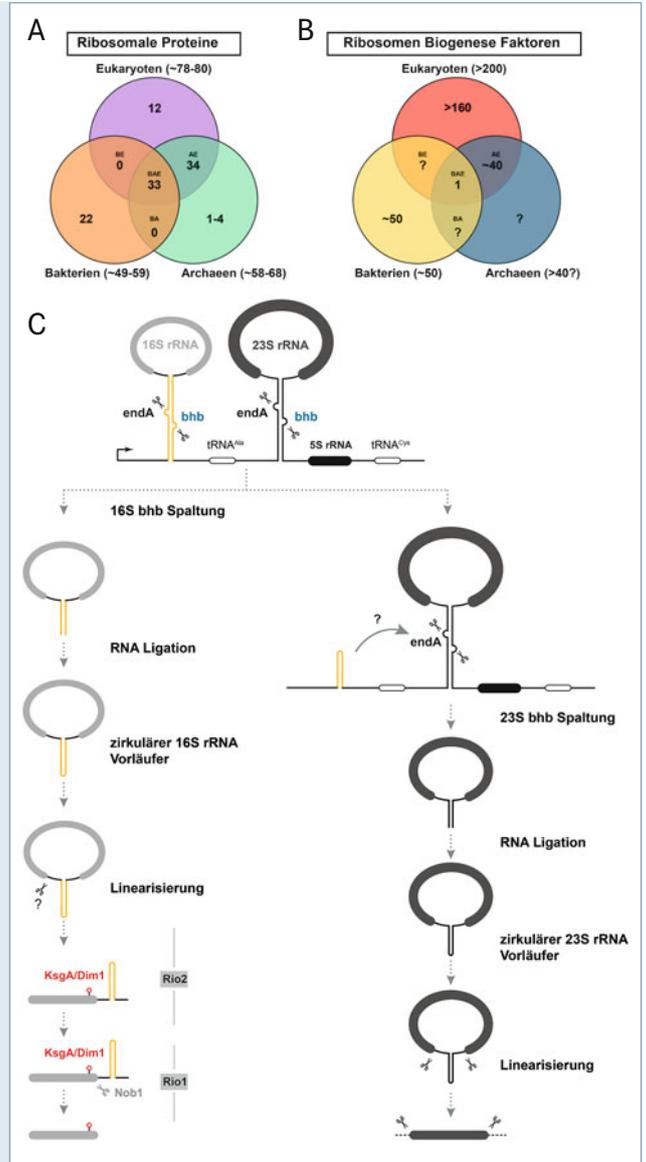
Wie kann man sich also den grundlegenden Ablauf der ribosomalen Reifung vereinfacht vorstellen? Üblicherweise wird die gesamte rRNA als ein langes, zusammenhängendes Vorläufertranskript abgeschrieben, das dann in vielen weiteren Schritten in die einzelnen, für beide Untereinheiten benötigten rRNAs mithilfe von Endo- und Exonukleasen zerlegt wird. Zusätzlich wird die rRNA in verschie-

denen Stadien des Reifeprozesses modifiziert [2]. Die gemeinsame Transkription der gesamten rDNA garantiert z. B. eine stöchiometrische Balance zwischen kleiner und großer Untereinheit sowie eine simultane Regulation der Transkriptionsaktivität. In Eukaryoten liegen die rRNA-Gene (fast) ausschließlich in Operon-Form vor [2, 5, 6]. Bemerkenswert ist jedoch, dass in Prokaryoten auch geteilte rRNA-Gene vorliegen können [5]. Ganz besonders spannend hinsichtlich evolutionärer Implikationen ist die Betrachtung der zuvor erwähnten Asgardarchaeen, jene Gruppe der Archaeen, deren Vertreter als der Ursprung der eukaryotischen Linie gehandhabt werden. In fast allen untersuchten Asgardarchaeen findet sich eine (Ver-)Teilung der ribosomalen RNA-Gene im Genom. Als direkter Vorfahre der Eukaryoten müsste die Teilung in diesen Organismen wieder rückgängig gemacht worden sein. Ein Szenario, das im Hinblick auf massive, notwendige Ko-Adaptionen schwer vorstellbar, wenn auch nicht unmöglich, erscheint. Dementsprechend sollte diese Auffälligkeit berücksichtigt werden, um die Entstehung der Eukaryoten aus den Asgardarchaeen besser zu erklären [5].

Eines der wichtigsten bisher bekannten spezifischen Merkmale der Ribosomenbiogenese in Archaeen ist die Entstehung von zirkulären 16S- und 23S-rRNA-Zwischenprodukten während der rRNA-Reifung (Abb. 1, [2]). Mit funktionellen *in vivo*-Studien in *Haloferax volcanii*, einem genetisch manipulierbaren und relativ leicht zu kultivierenden Archaeon, wurde die Rolle der beteiligten strukturellen rRNA-Elemente sowie partizipierende Enzyme bei der Bildung der zirkulären RNAs näher untersucht [7, 8]. Dadurch konnte die essenzielle Rolle der strukturellen Integrität dieser rRNA-Elemente demonstriert werden [7, 8]. Die funktionelle Bedeutung der Zirkularisierung muss noch vollständig charakterisiert werden. Es ist jedoch interessant festzustellen, dass während der rRNA-Reifung in Bakterien und Eukaryoten ebenfalls pseudozirkuläre Zwischenprodukte erzeugt werden, die vermutlich ein gemeinsames funktionelles Kennzeichen darstellen [2, 6, 7].

Des Weiteren hat die Suche nach Homologen eukaryotischer Ribosomenbiogenesefaktoren in archaeellen Genomen ergeben, dass sich in beiden Domänen etwa 40 gemeinsame Assemblierungsfaktoren finden lassen [2, 9]. Überraschenderweise ist bisher nur ein einziger, (fast) universell vorkommender

► **Abb. 1:** Schlüsselmerkmale der Ribosomen und Ribosomenbiogenese in allen drei Domänen des Lebens. **A**, gemeinsame und spezifische ribosomale Proteine. **B**, gemeinsame und spezifische Ribosomenbiogenesefaktoren, basierend auf [2]. **C**, ribosomale RNA-Reifung in *Haloferax volcanii*, basierend auf [2, 7, 8, 10–12]. Das primäre polycistronische Transkript wird durch die tRNA-Splicing-Endonuklease (*endA*) an den Bulge-Helix-Bulge-Motiven (*bhb*), die in den 16S- und 23S-rRNA-Prozessierungsstämmen vorhanden sind, gespalten. Nach der *endA*-abhängigen Spaltung werden die jeweiligen rRNA-Vorläufer ligiert und somit zirkularisiert. Während der weiteren Reifung werden die zirkulären rRNA-Vorläufer wieder linearisiert und weiter prozessiert. Die wenigen Ribosomenbiogenesefaktoren, für die funktionelle Erkenntnisse in Archaeen vorliegen, wie die Rio-Proteinfamilie, die Di-Methyltransferase *KsgA/Dim1* oder die tRNA-Splicing-Endonuklease, sind angegeben.



▲ **Abb. 2:** Diversität der Archaeen und der neuste Stand ihrer phylogenetischen Beziehungen. Ein vereinfachter Stammbaum basierend auf [3, 5] ist abgebildet. Die Domäne der Archaeen wird in das Phylum der Euryarchaeen und die Superphyla TACK, DPANN und Asgard eingeteilt. Zu beachten ist, dass die exakte Position der Eukaryoten (roter Stern) als eine Schwestergruppe der Asgardarchaeen weiterhin Gegenstand der Diskussion ist.

Biogenesefaktor in allen drei Domänen bekannt: die Di-Methyltransferase KsgA (in Bakterien) oder Dim1 (in Eukaryoten) [2]. Genau dieses Protein war ein vielversprechender Kandidat, um die exakten molekularen Mechanismen zu analysieren und domänenübergreifend darzustellen.

KsgA/Dim1 dimethyliert im späteren Verlauf der Reifung des Ribosoms zwei Adenosine der 16S-rRNA-Helix h45, die sich am 3'-Ende befindet und an der Bildung des funktionellen Zentrums der kleinen Ribosomen-Untereinheit beteiligt ist (**Abb. 1**). Kurioserweise stellte sich heraus, dass im Fall von *H. volcanii* ein heterogenes Methylierungsmuster existiert [10]. Dieses zunächst unerwartete Phänomen konnte jedoch mit genauerem Blick auf die rRNA-Substratstruktur und die dadurch entstehende Varianz bei der Substratmodifizierung erklärt werden [10]. Weiterhin konnte der Vergleich mit anderen archaeellen Spezies zeigen, dass sich h45 in drei strukturelle Kategorien einteilen lässt. Spannenderweise stimmen diese Kategorien gut mit der Positionierung dieser Spezies in aktuellen phylogenetischen Stammbäumen sowie deren jeweiligem Modifizierungsstatus überein [10]. Dies deutet zudem auf die Anwesenheit von heterogenen ribosomalen Untereinheiten in Archaeen hin, die möglicherweise unterschiedliche funktionelle Eigenschaften besitzen [10]. Die Charakterisierung von ksgA/Dim1 konnte wertvolle, funktionelle Informationen zur Verfügung stellen, die nun genutzt werden könnten, um evolutionäre Beziehungen noch besser zu verstehen. Insbesondere in der Archaeenforschung werden noch einige evolutionäre und phylogenetische Fragestellungen stark debattiert, wie der Ursprung der Halophilie (Anpassung an hohe Salzkonzentration) oder die Verwandtschaftsverhältnisse einzelner Gruppen zueinander (**Abb. 2**, [3, 5, 10]).

Ein anderes Beispiel sind die Biogenesefaktoren Rio1 und Rio2 (**Abb. 1**), die in Archaeen und Eukaryoten konserviert sind. *In vivo*- und *in vitro*-Analysen konnten die mechanistische Ähnlichkeit zum eukaryotischen System zeigen. Dies ist ein weiterer Hinweis, dass einige Schritte der archaeellen Ribosomenbiogenese ein vereinfachter Vorgänger des eukaryotischen Systems sein

könnten [2, 6]. Bemerkenswert war allerdings der Fakt, dass die Rio-Proteine in Archaeen – anders als in Eukaryoten – nicht essenziell sind [11].

Zusammenfassung

Die gesammelten funktionellen Argumente zeigen, dass die Ribosomenbiogenese in Archaeen spezifische, universelle sowie archaeell-eukaryotische Aspekte besitzt. Dennoch ist definitiv auch eine gewisse Diversifizierung und umweltbedingte Anpassung innerhalb der archaeellen Domäne zu beobachten [2, 5]. Die Untersuchung der Ribosomenbiogenese in Archaeen wird uns weiterhin helfen, gemeinsame und spezifische Prinzipien der Ribosomenbiogenese in allen Lebewesen zu entdecken. Dadurch können wir zu einem besseren Verständnis der Evolution dieses fundamentalen Prozesses und generell der Evolution des Lebens auf der Erde gelangen [5].

Literatur

- [1] Bowman JC, Petrov AS, Frenkel-Pinter M et al (2020) Root of the tree: the significance, evolution, and origins of the ribosome. *Chem Rev* 120: 4848–4878
- [2] Londei P, Ferreira-Cerca S (2021) Ribosome biogenesis in archaea. *Front Microbiol* 12: 1476
- [3] Tahon G, Patricia Geesink, Ettema TJG (2021) Expanding archaeal diversity and phylogeny: past, present, and future. *Annu Rev Microbiol* 75: 359–381
- [4] Albers SV, Forterre P, Prangishvili D, Schleper C (2013) The legacy of Carl Woese and Wolfram Zillig: from phylogeny to landmark discoveries. *Nat Rev Micro* 11: 713–719
- [5] Jüttner M, Ferreira-Cerca S (2022) Looking through the lens of the ribosome biogenesis evolutionary history: possible implications for archaeal phylogeny and eukaryogenesis. *Mol Biol Evol* 39: msac054
- [6] Ferreira-Cerca S (2017) Life and death of ribosomes in archaea. In: Clouet-d'Orval B (Hrsg.) *RNA metabolism and*

gene expression in archaea. Springer International Publishing, Cham, 129–158

[7] Jüttner M, Weiß M, Ostheimer N et al (2020) A versatile cis-acting element reporter system to study the function, maturation and stability of ribosomal RNA mutants in archaea. *Nucleic Acids Res* 48: 2073–2090

[8] Schwarz TS, Berkemer SJ, Bernhart SH et al (2020) Splicing endonuclease is an important player in rRNA and tRNA maturation in archaea. *Front Microbiol* 11: 594838–594838

[9] Birikmen M, Bohnsack KE, Tran V et al (2021) Tracing eukaryotic ribosome biogenesis factors into the archaeal domain sheds light on the evolution of functional complexity. *Front Microbiol* 12: 2598

[10] Knüppel R, Trahan C, Kern M et al (2021) Insights into synthesis and function of KsgA/Dim1-dependent rRNA modifications in archaea. *Nucleic Acids Res* 49: 1662–1687

[11] Knüppel R, Christensen RH, Gray FC et al (2018) Insights into the evolutionary conserved regulation of Rio ATPase activity. *Nucleic Acids Res* 46: 1441–1456

[12] Grünberger F, Knüppel R, Jüttner M et al (2020) Exploring prokaryotic transcription, operon structures, rRNA maturation and modifications using nanopore-based native RNA sequencing. *bioRxiv*, doi: <https://doi.org/10.1101/2019.12.18.880849>

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. Sébastien Ferreira-Cerca

Lehrstuhl für Biochemie III

Universität Regensburg

Universitätsstraße 31

D-93053 Regensburg

sebastien.ferreira-cerca@ur.de

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0522-843X>

AUTOREN



Michael Jüttner

Bis 2018 Biologiestudium an der Universität Regensburg. Seit 2019 Promotion an der Universität Regensburg unter Anleitung von PD Dr. S. Ferreira-Cerca.



Sébastien Ferreira-Cerca

Bis 2003 Biologiestudium an der Université de Poitiers und Toulouse, Frankreich. 2003–2008 Promotion an der Universität Regensburg unter Anleitung von Prof. Dr. H. Tschöchner und Dr. P. Milkereit. 2008–2012 Postdoktorand am Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg (BZH) im Labor von Prof. Dr. E. Hurt. Seit 2013 Akademischer (Ober-)Rat auf Zeit und Gruppenleiter, Universität Regensburg. 2019 Habilitation in Biochemie, Universität Regensburg.