

10 Zusammenfassung

Die dreidimensionale Struktur des nicht-translatierenden 80S Ribosoms wurde mit Hilfe von Kryo-Elektronenmikroskopie und 3D Rekonstruktion bestimmt. Eine 150 Å lange Elektronendichte an der 60S Untereinheit des Ribosoms wurde als die Haupthelix des Erweiterungselements 27 (ES27) identifiziert und konnte in zwei Hauptpositionen beobachtet werden: (i) in der Nähe des L1 Armes (ii) und nach einer Rotation um 90° über dem Tunnelausgang der 60S Untereinheit. Wir postulieren ein Modell, in dem ES27 den Zugang von nicht ribosomalen Faktoren zum Tunnelausgang in der 60S Untereinheit kontrolliert und mit der neu-synthetisierten Polypeptidkette oder Proteinen interagiert die an die neu-synthetisierte Polypeptidkette binden.

Die dreidimensionale Struktur des translatierenden 80S Ribosoms in Assoziation mit dem proteinleitenden Kanal wurde mit Hilfe von Kryo-Elektronenmikroskopie und 3D-Rekonstruktion bestimmt. Die Struktur zeigt vier Brücken zwischen dem Kanal und dem Ribosom bestehend aus rRNA und ribosomalen Proteinen. Die Brücken verbinden den Kanal mit dem Ribosom über eine Entfernung von 10-20 Å. Die beobachtete geschlossene Konformation des Kanals ist unabhängig vom funktionalen Zustand des Ribosom-Kanal-Komplexes. Das Einpassen von Transmembrandomänen ergab, dass der proteinleitende Kanal wahrscheinlich aus drei Sec61 α,β,γ -Trimeren gebildet wird. Wir postulieren ein Modell mit zwei funktionalen Hauptzustände für den Ribosom-Kanalkomplex, welches den Proteintransport durch den proteinleitenden Kanal sowie die Integration von Transmembranproteinen in die ER-Membran beschreibt.

Mit Hilfe eines Fluoreszenz Nukleotidaustauschassays wurden die beiden β -Untereinheiten der beiden homologen trimeren proteinleitenden Kanäle in Hefe als die Guanine-Nukleotid-Austausch-Faktoren (GEFs) für die β -Untereinheit des Signalerkennungspartikelrezeptors (SR β) identifiziert. Sowohl die isolierte zytosolischen Domänen, als auch das gereinigte komplette Sec61 β , wenn im trimeren proteinleitenden Kanal assembliert sind funktional als GEFs für SR β . Ist Sec61 β dagegen im heptamären

proteinleitenden Kanal assembliert, welcher in posttranslationalen Proteintransport involviert ist, ist es nicht als GEF für SR β aktiv.