*ВЫСШЕЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ*

А. С. СПИРИН

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

## РИБОСОМЫ И БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

**Учебник**

*Рекомендовано*
*Учебно-методическим объединением*
*по классическому университетскому образованию*
*в качестве учебника для студентов*
*высших учебных заведений, обучающихся*
*по направлению «Биология»*
*и биологическим специальностям*

ACADEMIA

Москва
Издательский центр «Академия»
2011

УДК 577.2(075.8)
ББК 28.070я73
С722

Рецензенты:

акад. РАН, д-р хим. наук, проф. *А. А. Богданов* (кафедра химии природных соединений химического факультета и НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова);
чл.-кор. РАН, д-р хим. наук *В. И. Цетлин* (руководитель лаборатории рецепции нейропептидов Института биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН)

**Спирин А.С.**

С722 Молекулярная биология : рибосомы и биосинтез белка : учебник для студ. высш. проф. образования / А. С. Спирин. — М. : Издательский центр «Академия», 2011. — 496 с., [16] с. цв. ил.

ISBN 978-5-7695-6668-4

Настоящий учебник охватывает часть общего курса молекулярной биологии, посвященную структурным и функциональным аспектам биосинтеза белков, которую автор читает на биологическом факультете МГУ им. М. В. Ломоносова. Вместе с тем объем включенного в учебник материала соответствует уровню требований кандидатского минимума по специальности «Молекулярная биология». В книге отражены современные тенденции и знания в данной области науки, приведен достаточно полный список литературы по охватываемым проблемам. Книга не имеет аналогов в современной мировой литературе.

Для студентов учреждений высшего профессионального образования. Может быть полезен научным работникам и преподавателям вузов.

УДК 577.2(075.8)
ББК 28.070я73

*Учебное издание*

**Спирин Александр Сергеевич**

**Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка**

**Учебник**

Редактор *И. В. Пирогова*. Технический редактор *О. Н. Крайнова*
Компьютерная верстка: *Г. Ю. Никитина*. Корректор *Г. Н. Петрова*

Изд. № 101112096. Подписано в печать 21.12.2010. Формат 70 × 100/16.
Гарнитура «Ньютон». Бумага офсетная № 1. Печать офсетная. Усл. печ. л. 41,6 (в т. ч. цв. вкл. 1,3).
Тираж 1 000 экз. Заказ №

Издательский центр «Академия». www.academia-moscow.ru
125252, Москва, ул. Зорге, д. 15, корп. 1, пом. 26б. Адрес для корреспонденции 129085, Москва, пр-т Мира, 101В, стр. 1, а/я 48. Тел./факс: (495)648-0507, 616-0029.
Санитарно-эпидемиологическое заключение № 77.99.60.953.Д.007831.07.09 от 06.07.2009.

Отпечатано с электронных носителей издательства.
ОАО «Тверской полиграфический комбинат», 170024, г. Тверь, пр-т Ленина, 5.
Телефон: (4822) 44-52-03, 44-50-34. Телефон/факс: (4822) 44-42-15.
Home page — www.tverpk.ru Электронная почта (E-mail) — sales@tverpk.ru

*Оригинал-макет данного издания является собственностью Издательского центра «Академия», и его воспроизведение любым способом без согласия правообладателя запрещается*

© Спирин А.С., 2011
© Образовательно-издательский центр «Академия», 2011
© Оформление. Издательский центр «Академия», 2011

**ISBN 978-5-7695-6668-4**

# ПРЕДИСЛОВИЕ

Настоящий учебник написан на основе курса лекций по структуре рибосом и биосинтезу белка, который я читаю студентам старших курсов биологического факультета Московского государственного университета. Лекции были частью основного курса по молекулярной биологии в течение более трех десятилетий, и они претерпели значительную эволюцию по мере развития знаний в этой области. Наука продолжает идти вперед, и читатели должны быть готовы к тому, что некоторые факты, утверждения и идеи, включенные в книгу, могут оказаться не совсем полными или не совсем современными. В любом случае книга является учебным руководством, а не исчерпывающим обзором. Она обеспечивает основу для знаний и развития текущих идей в области биосинтеза белка, дает примеры наблюдений и их объяснения. Я понимаю, что некоторые объяснения и выводы могут быть предварительными и спорными, но надеюсь, что они послужат стимулом для размышлений и обсуждения проблем.

У книги есть прототип: это моя монография «Молекулярная биология: Структура рибосомы и биосинтез белка», вышедшая в 1986 г. в издательстве «Высшая школа», Москва. Здесь я в основном выдерживаю предыдущий порядок представления тем и подразделения на главы. Однако содержание глав было подвергнуто значительной ревизии и дополнено. Короткая вводная глава 1 теперь значительно расширена и включает историю открытия кодирующих и некодирующих РНК, перечисление как генетических, так и негенетических функций различных видов РНК, описание основных принципов макромолекулярной структуры РНК, а также изложение гипотезы о древнем мире РНК, его происхождении и эволюции в клеточные формы жизни. Главы по морфологии рибосомы (гл. 5), рибосомной РНК (гл. 6), терминации трансляции (гл. 13), котрансляционному сворачиванию и трансмембранному транспорту белков (гл. 17) полностью переписаны в соответствии с новыми данными. Главы 7 и 8 издания 1986 г., посвященные рибосомным белкам, объединены и дополнены новым материалом по четвертичной структуре рибосомы. Фактически заново написаны главы по контролю трансляции у прокариот (гл. 15) и эукариот (гл. 16). Заключительная глава 18 об основных принципах структурной организации и функционирования рибосомы теперь включает также рассмотрение рибосомы как молекулярной машины.

В этой книге (как и в предыдущей) литературные ссылки приведены в основном в целях обучения и таким образом список литературы, имеющийся в конце каждой главы, далеко не полный. Чтобы дать представление об истории открытий, я цитирую преимущественно пионерские исследования в обсуждаемой области и по ходу текста указываю руководителей соответствующих научных групп в русской транскрипции и год публикации работы. Сами же ссылки на работы в оригинальной транскрипции, а также ссылки на обзоры даны, как уже отмечено выше, в конце каждой главы. Во многих случаях при ссылках на работы коллективов авторов фамилии руководителей групп в списках литературы подчеркнуты.

Бóльшая часть иллюстраций по структуре рибосом и их компонентов, определенной в конце 1990-х и 2000-х гг. с помощью рентгеноструктурного анализа, наряду со ссылками на соответствующие публикации, снабжена также ссылками на идентификационный номер в международном банке белковых структур — *Protein Data Bank* (PDB ID). Книга содержит и много оригинальных иллюстраций, сделанных благодаря ценной помощи моих сотрудников в Институте белка РАН в Пущино. Я также благодарен моим коллегам, работающим как в Институте белка, так и вне его, — А. А. Богданову, В. Д. Васильеву, А. В. Ефимову, В. Н. Лузикову, Л. Л. Киселеву, В. А. Колбу, Л. П. Овчинникову, А. Г. Рязанову и А. В. Финкельштейну — за их вклад в написание и обсуждение ряда глав этого учебника. Хочу принести особую благодарность А. Коммеру за неоценимую помощь в приготовлении всего иллюстрационного материала книги, Т. Б. Кувшинкиной за большой вклад в составление и упорядочивание списков литературы к каждой главе и Л. Н. Рожанской за повседневную техническую помощь. Кроме того, я весьма признателен сотруднику кафедры молекулярной биологии биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова П. А. Каменскому за помощь в подготовке рукописи и в демонстрации ее материала на моих лекциях.

А. С. Спирин,
Москва — Пущино, 2008 г.

# Глава 1
# МИР РНК И БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ

## 1.1. Центральная догма молекулярной биологии

В 40-х гг. XX в., прежде всего на основе цитологических и биохимических наблюдений Касперсона (1941) и Браше (1941—1942), стало складываться представление, что ДНК, локализующаяся в ядрах клеток, в их хромосомах, самым тесным образом связана с аппаратом наследственности, а РНК — это обязательный компонент клеточной цитоплазмы, ответственный за биосинтез белка. Прямые эксперименты Эйвери, МакЛеод и МакКарти (1944) доказали, что чистая, изолированная из клеток ДНК может быть носителем наследственных признаков организма. Все большее количество исследователей — в первую очередь биохимиков и цитологов — начинали склоняться к мысли, что ДНК или ее комплексы с белком могут быть основными носителями генетической информации, а РНК — посредником, воспринимающим эту информацию от ДНК и реализующим ее путем биосинтеза белков.

К началу 1950-х гг. Чаргафф установил факт видовой специфичности состава ДНК, показав, что соотношение четырех сортов ее мономеров — гуанилового (G), аденилового (A), цитидилового (C) и тимидилового (T) — различается у разных видов организмов. Этот факт прямо соответствовал предполагавшейся генетической роли ДНК. Были найдены также интересные закономерности в нуклеотидном составе ДНК, названные «правилами Чаргаффа»: независимо от видовых различий, во всех ДНК количество G было равно количеству C, а количество A — количеству T (G = C, A = T). В 1953 г. Уотсон и Крик, используя эти экспериментальные данные по химическому составу ДНК, а также результаты рентгеноструктурных анализов ориентированных нитей ДНК, указывавшие на спиральный характер укладки ее полимерных молекул (Уилкинс и Фрэнклин), предложили модель макромолекулярной структуры ДНК. Это была двойная спираль, где две полимерные нити ДНК закручены вокруг общей оси и удерживаются вместе за счет парных взаимодействий G с C и A с T (рис. 1.1). Непосредственно из этой структуры вытекал механизм ее точного воспроизведения, что впервые дало объяснение наследственности — воспроизведению генов в процессах размножения. Так полвека назад родилась новая наука — молекулярная биология.

В основе воспроизведения (редупликации) структуры ДНК лежит так называемый принцип комплементарности: в двойной спирали две полимерные цепи ДНК связаны друг с другом бок о бок водородными связями за счет образования пар G:C, C:G, A:T и T:A (здесь и далее нековалентные связи обозначены двоеточиями). Если две цепи двойной спирали расходятся, то на каждой из них может строиться (полимеризоваться) новая *комплементарная* цепь, так что напротив G исходной цепи устанавливается C новой цепи, напротив C старой цепи — G

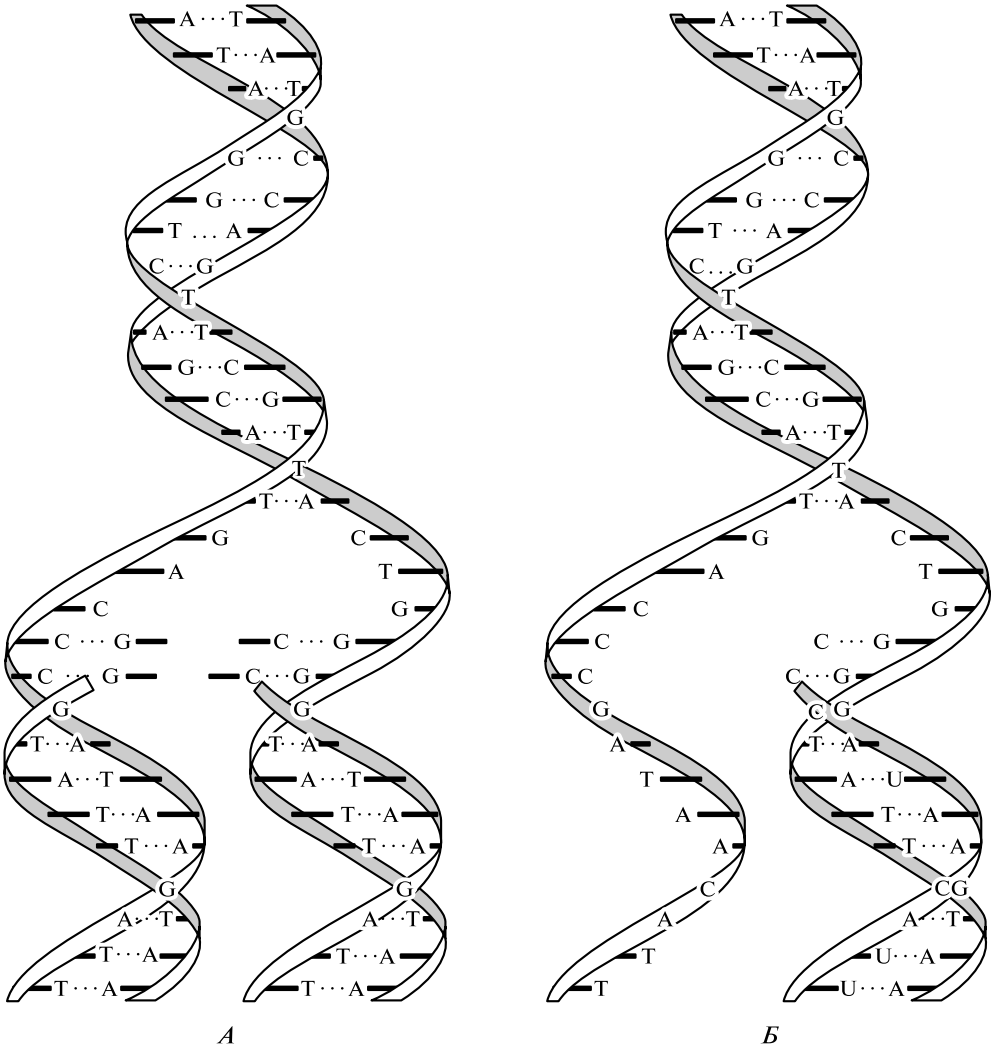



Рис. 1.1. Схема двойной спирали ДНК, ее комплементарной редупликации (***А***) и комплементарного синтеза РНК на одной из цепей ДНК (транскрипции) (***Б***)

новой цепи, напротив A — T, а напротив T — A; в результате этого получаются две дочерние двойные спирали, полностью идентичные исходной — материнской (см. рис. 1.1, ***А***).

РНК химически подобна ДНК. В обоих случаях это линейные, неразветвленные полимеры нуклеотидов с пентозофосфатным остовом и четырьмя типами азотистых (пуриновых и пиримидиновых) оснований в качестве боковых групп. Существует только два небольших отличия цепи РНК от одиночной цепи ДНК: 1) пятиуглеродный сахар (пентоза) в РНК представлен рибозой, а в ДНК его производным — 2′-дезоксирибозой; 2) один из двух пиримидиновых нуклеотидов в РНК представлен уридиловым остатком (U), вместо его метилированного производного T в ДНК. Вышеупомянутый принцип комплементарности обеспечивает механизм репликации РНК на матрице ДНК. Разница лишь в том, что РНК полимеризуется только на одной из двух разошедшихся цепей двойной спирали ДНК

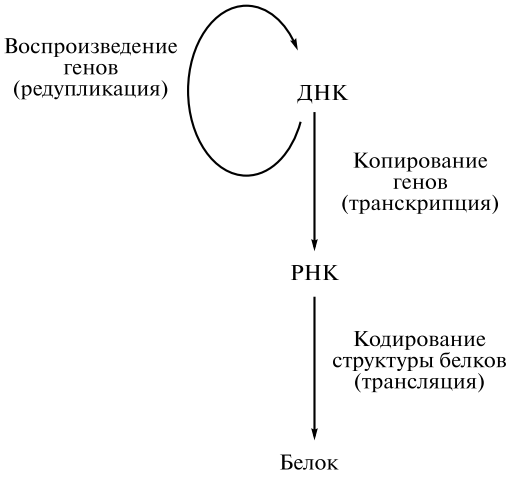



Рис. 1.2. Центральная догма молекулярной биологии

(см. рис. 1.1, ***Б***). Разумеется, при синтезе РНК напротив А цепи ДНК устанавливается уридиловый рибонуклеотид (U) вместо тимидилового дезоксирибонуклеотида (Т) при синтезе ДНК. Реплицирующаяся цепь РНК таким образом является точной копией противоположной цепи ДНК, с заменой Т на U. Процесс репликации сопровождается отделением цепи РНК от ДНК. В результате такой репликации РНК образуется как гибкий одноцепочечный полимер в отличие от жесткой двойной спирали ДНК.

Будучи копиями определенных функциональных отрезков цепи ДНК — генов, цепи РНК призваны служить матрицами для синтеза другого типа полимеров — полипептидных цепей белков. Так как белки состоят из двадцати разных сортов мономеров (аминокислот), а РНК — только из четырех сортов мономеров (нуклеотидов), то детерминация аминокислотной последовательности полипептидной цепи нуклеотидной последовательностью РНК требует того, чтобы каждая аминокислота кодировалась комбинацией из нескольких — не менее трех — нуклеотидов. Действительно, именно триплетный код был сначала постулирован на основании теоретических соображений, а затем и доказан экспериментально. Таким образом, за РНК была признана *генетическая роль* посредника между генами и белками: с одной стороны, РНК представлялась как совокупность копий генов, т. е. копий отрезков ДНК, а с другой — как непосредственные матрицы, последовательности нуклеотидных триплетов которых кодируют аминокислотные последовательности полипептидных цепей в процессе синтеза белков. Вышесказанное и представляет собой «центральную догму молекулярной биологии», сформулированную Криком и выраженную в виде схемы: ДНК → РНК → → белок, где прямые стрелки обозначают необратимый поток информации от ДНК через РНК к белку (рис. 1.2).

## 1.2. Кодирующие и некодирующие РНК

Ко второй половине 50-х гг. XX в. уже было установлено, что синтез белков в живых клетках осуществляется рибонуклеопротеидными частицами — рибосомами — и что РНК, присутствующая в рибосомах в качестве их основного компо-

нента (рибосомная РНК), представляет собой подавляющую часть тотальной РНК клетки. Было довольно логично предположить, что именно полирибонуклеотидные цепи рибосомных РНК служат матрицами для синтеза белков. «Долго считалось, что структурная информация переносится от генов к стабильным матрицам, таким как рибосомная РНК, копирующим гены и поддерживающим в цитоплазме информацию, необходимую для синтеза белков. Каждый ген, как полагали, детерминирует образование геноспецифических рибосомных частиц, которые в свою очередь и обеспечивают синтез определенного белка (см. Крик, 1958)» (цит. по: Jacob, F., and Monod, J., 1961, p. 195).

Для проверки этого предположения было проведено параллельное с ДНК определение нуклеотидного состава тотальных РНК у тех же видов бактерий, среди которых было найдено большое разнообразие состава ДНК (Спирин, Белозерский и др., 1957; Белозерский и Спирин, 1958, 1960). Вопреки ожиданию, что основная масса клеточной РНК как предполагаемый посредник в переносе генетической информации от ДНК к белкам должна по своему нуклеотидному составу копировать нуклеотидный состав ДНК своего организма (лишь с заменой тимина на урацил), оказалось, что состав тотальной РНК не повторяет состава ДНК и вообще эволюционно гораздо более стабилен по сравнению с ДНК (табл. 1.1). Этот результат вызвал сенсацию в научном мире. В 1959 г. Крик констатировал: «Проблема кодирования к настоящему времени прошла три фазы. На первой фазе — фазе блужданий — были сделаны различные предположения, но ни одно не было достаточно точным, чтобы выдержать возражения. Вторая фаза — оптимистическая — была начата Гамовым в 1954 г.; он был достаточно смел, чтобы предложить довольно точный код. Это стимулировало ряд исследователей к тому, чтобы показать некорректность его предположений, и тем самым несколько способствовало точности мышления в этой области. Третья фаза — фаза замешательства — была инициирована статьей Белозерского и Спирина в 1958 г. Представленные там свидетельства показали, что наши идеи во многих важных отношениях были слишком упрощенными» (цит. по: Krick, F. H. C,, 1958, p. 35). Описывая создавшуюся ситуацию, Жакоб и Моно добавляют следующее к тому, что было процитировано ранее относительно предположения о кодирующей

Таблица 1.1

**Сравнение нуклеотидного состава ДНК и РНК у некоторых бактерий**

| Вид | ДНК, (G + C)/(A + T) | РНК, (G + C)/(A + U) |
|---|---|---|
| *Sarcina lutea* | 2,57 | 1,32 |
| *Mycobacterium tuberculosis* | 2,08 | 1,45 |
| *Corybacterium diphtheriae* | 1,20 | 1,24 |
| *Salmonella typhosa* | 1,13 | 1,21 |
| *Escherichia coli* | 1,09 | 1,21 |
| *Proteus vulgaris* | 0,68 | 1,22 |
| *Staphylococcus aureus* | 0,53 | 1,05 |
| *Clostridium perfringens* | 0,45 | 1,06 |

роли рибосомной РНК: «В последние годы, однако, эта гипотеза столкнулась с несколькими трудностями. Прежде всего, различия в нуклеотидном составе, найденные в ДНК различных видов бактерий, как оказалось, не отражаются в нуклеотидном составе рибосомной РНК (Belozersky and Spirin, 1960)» (цит. по: Jacob, F., and Monod, J., 1961, p. 195). Таким образом, все оказывалось сложнее, чем постулировалось «центральной догмой молекулярной биологии» в ее первоначальном виде. Во всяком случае полученные результаты по несоответствию нуклеотидного состава тотальной клеточной РНК нуклеотидному составу ДНК впервые указали на то, что преобладающая доля тотальной клеточной РНК, и в первую очередь рибосомная РНК, по-видимому, не является кодирующей РНК. Таким образом, именно с упомянутых работ 1957—1958 гг. можно начинать историю открытия *некодирующих РНК* в живых клетках.

С тех пор, и особенно в 2000-х гг., некодирующие РНК заняли прочные позиции в молекулярной биологии. Их изучение — одна из самых актуальных и бурно развивающихся областей этой науки в настоящее время. Помимо рибосомной РНК, было открыто множество других классов некодирующих РНК. Адаптерная РНК, или тРНК (transfer RNA, tRNA) — второй по представительству класс клеточных РНК после рибосомных РНК — была открыта тоже в 1957 г. одновременно американскими (Хоагланд, Замечник и Стефенсон) и японскими исследователями (Огата и Нохара). Она также не является матрицей для синтеза белков, хотя вовлечена в процесс первичной декодировки генетического кода путем специфического акцептирования аминокислот через ферменты — аминоацил-тРНК-синтетазы (см. гл. 3). «Настоящие» некодирующие РНК, кроме рибосомных РНК, были открыты много позже, прежде всего потому, что каждый их вид представлен в клетках в малых количествах (см.: Gesteland, R. F., Cech, T. R., and Atkins, J. F., eds., 2006). К ним относятся РНК, участвующие в качестве затравки в синтезе ДНК и в удлинении теломеров хромосом, без чего невозможна репродукция генов и клеток; малые ядерные РНК, регулирующие процессы транскрипции (синтеза) мРНК на генах и процессы посттранскрипционных модификаций предшественников мРНК; малые цитоплазматические РНК, участвующие в регуляции процессов трансляции (синтеза белка) на рибосомах; 4,5S и 7S РНК, играющие структурную роль и собирающие на себе специальные белки с образованием функционально важных рибонуклеопротеидных частиц, таких как SRP-частицы, ответственные за экспорт белков через клеточную мембрану (см. гл. 17); многие другие виды РНК. Нельзя не упомянуть также открытые в 1982—1983 гг. каталитические РНК — рибозимы (Чек и др., 1982; Алтман и др., 1983). Особый интерес представляет класс так называемых микроРНК, открытых совсем недавно (2001) и вызвавших настоящий научный бум. Оказалось, что микроРНК (короткие РНК длиной всего 20—25 нуклеотидных остатков, комплементарные участкам мРНК) в клетках высших организмов, в том числе человека, играют ключевую роль в регуляции синтеза белков, определяющих эмбриональное развитие, клеточную дифференцировку и другие важные процессы (см. гл. 16). В настоящее время имеются основания полагать, что экспрессия по крайней мере одной трети наших генов контролируется различными микроРНК. В целом же только около 2 % геномной ДНК человека кодируют белки, и в то же время 80 % генома транскрибируется в различные виды некодирующих РНК, функции большинства из которых пока не известны. Анализ «транскриптома», т.е. репертуара РНК, в клетках животных и человека является одной из самых «горячих точек» современной молекулярной биологии (см., например, обзор: Kapranov, P., Gingeras, T. R., et al., 2007).

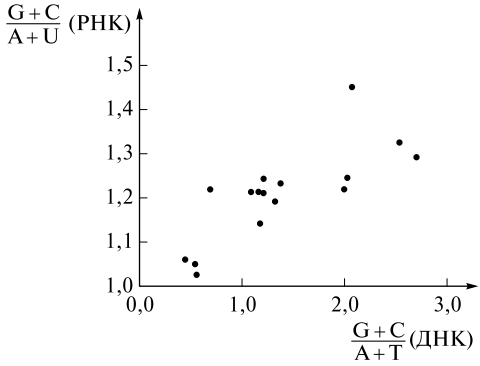



Рис. 1.3. Корреляция нуклеотидного состава тотальной клеточной РНК с нуклеотидным составом ДНК при анализе различных видов бактерий.

Belozersky and Spirin (1958) *Nature* **182:** 111—112

При сравнении нуклеотидного состава ДНК с составом тотальной РНК у разных видов бактерий (Спирин, Белозерский и др., 1957; Белозерский и Спирин, 1958) выявилась и еще одна интересная особенность: несмотря на несходство составов ДНК и РНК и эволюционную консервативность основной массы РНК, наблюдалась определенная тенденция к увеличению соотношения (G + C)/(A + U) в РНК при переходе к видам с увеличивающимся соотношением (G + C)/(A + T) в их ДНК (см. табл. 1.1). Это указывало на существование в тотальной РНК нормальных клеток бактерий небольшой фракции РНК, коррелирующей по своему нуклеотидному составу с ДНК исследуемых клеток, т. е. фракции ДНК-подобной РНК (рис. 1.3). Выявление такой корреляции было первым свидетельством того, что копиями структурных генов являются не эволюционно консервативные РНК белоксинтезирующих частиц — рибосом, а другие РНК, призванные программировать функционально неспецифичные рибосомные частицы и быть гено- и видоспецифическими («ДНК-подобными») матрицами для синтезируемых на рибосомах белков.

Так было предсказано существование специальной фракции кодирующей РНК, позднее названной *messenger RNA* (mRNA), или *информационной РНК* (мРНК), представляющей собой копии структурных генов и кодирующей клеточные белки. Годом ранее в работе Волкина и Астрачана было показано, что заражение клеток *E. coli* бактериофагом индуцирует в них синтез короткоживущей РНК с соотношением нуклеотидов, подобным таковому в фаговой ДНК. Однако эта работа обратила на себя внимание лишь позднее, когда стало выясняться, что синтез фагоспецифической ДНК-подобной фракции РНК в зараженных клетках отражает не просто специфику фаговой инфекции, а может указывать на общее явление программирования белкового синтеза нерибосомными РНК. Именно продолжение этой работы в блестящих экспериментах на зараженных фагами бактериях, почти одновременно опубликованных тремя различными группами авторов в 1961 г. — англо-франко-американской (Бреннер, Жакоб и Меселсон), франко-американской (Гро, Гилберт, Уотсон и др.) и американской (Спигелман и др.), — окончательно утвердило факт существования, место и роль информационных РНК (мРНК) в процессе биосинтеза белка.

Итак, в процессе биосинтеза белка определились три основных участника, представляющих три основных класса РНК в клетке: 1) некодирующая *рибосомная РНК*, или рРНК, ответственная за формирование белоксинтезирующих частиц — рибосом; 2) *адаптерная РНК*, или тРНК, в русской научной литературе не совсем точно называемая транспортной РНК, ковалентно связывающая (акцептирующая) аминокислотные остатки и совместно с рибосомой участвующая в их включении в синтезируемую полипептидную цепь белка; 3) кодирующая *информационная РНК*, или мРНК, иногда также называемая матричной РНК, свя-

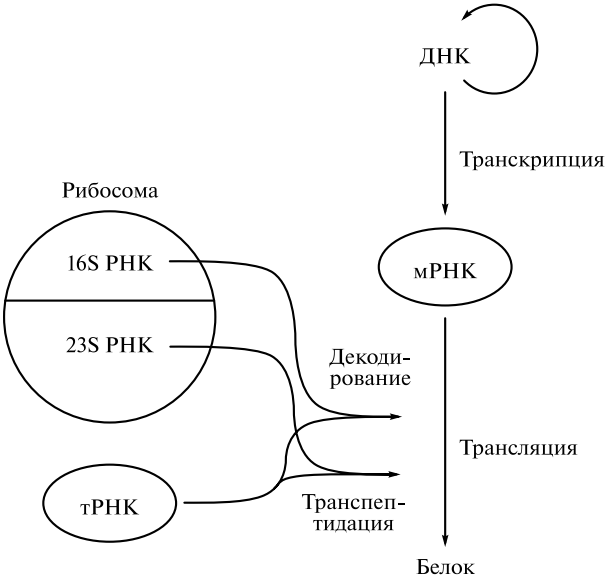



Рис. 1.4. Кодирующая РНК (мРНК) и два основных типа некодирующих РНК (рибосомные РНК и тРНК)

зывающаяся с рибосомой и определяющая порядок вхождения различных аминоацилированных тРНК в рибосому, а тем самым — аминокислотную последовательность синтезируемого белка (рис. 1.4).

## 1.3. Общая схема биосинтеза белков

Основные этапы биосинтеза белка схематически представлены на рис. 1.5. В центре всех событий этого процесса находятся рибосомы. *Рибосома* представляет собой большой макромолекулярный комплекс со сложной асимметричной четвертичной структурой, состоящей из рибонуклеиновых кислот (рибосомных РНК) и белка (рибосомного белка). Для того чтобы синтезировать белок, рибосома должна быть снабжена: 1) программой — мРНК, определяющей последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи белка; 2) субстратом — аминокислотами, из которых будет синтезирован белок; 3) химической энергией. Сама рибосома является катализатором процесса формирования пептидных связей, т. е. процесса последовательной полимеризации аминокислотных остатков с образованием полипептидной цепи.

Программа, которая определяет последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи белка, приходит от ДНК, т. е. из генома клетки. Отдельные участки двухцепочечной молекулы ДНК, которые называются генами, служат матрицами для синтезируемых одноцепочечных молекул РНК. Синтезированные молекулы РНК являются комплементарными репликами одной из цепей ДНК и, таким образом, представляют собой точную копию нуклеотидной последовательности другой цепи ДНК. Этот процесс копирования генов, выполняемый ферментом РНК-полимеразой, называется *транскрипцией*. В клетках эукариот, и в меньшей степени в клетках прокариот, синтезируемая РНК может подвергаться дополни-

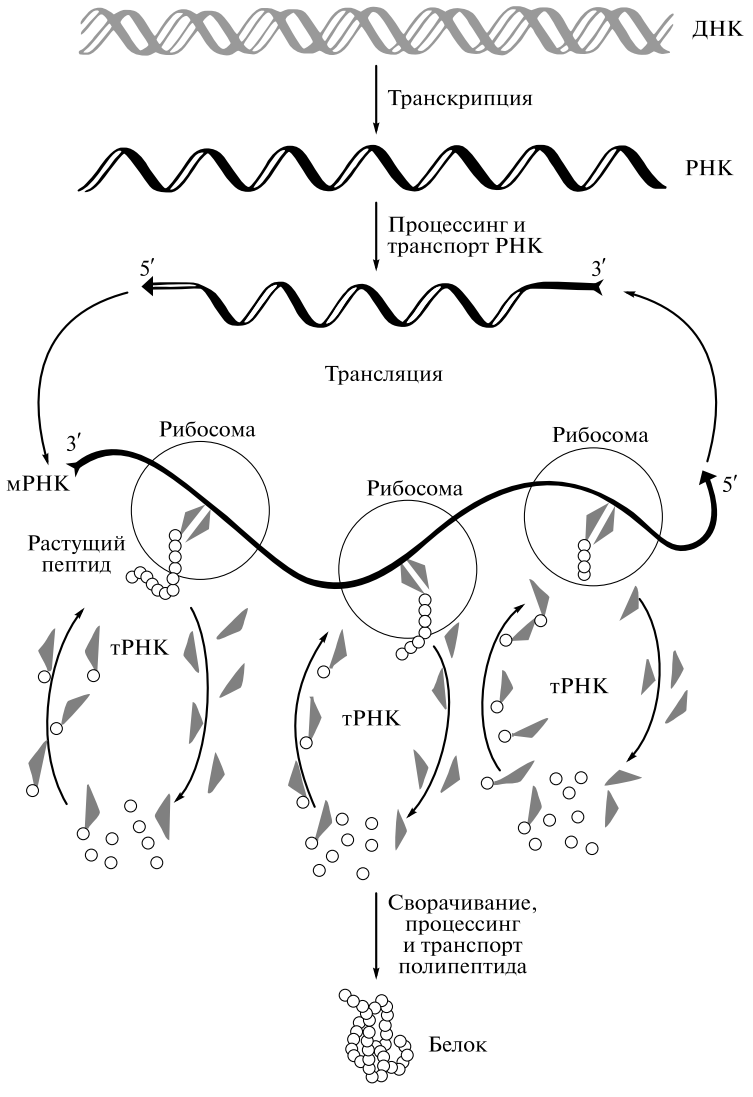



Рис. 1.5. Общая схема биосинтеза белка

тельным изменениям, которые называются *процессингом*, в результате чего определенные части нуклеотидной последовательности могут быть вырезаны из РНК, а в некоторых случаях изменены или отредактированы. Зрелая РНК связывается с рибосомами и служит программой, или матрицей, которая определяет аминокислотную последовательность в синтезируемом белке, — это информационная РНК (мРНК). Другими словами, поток информации от ДНК к рибосомам обеспечивается транскрипцией генов и процессингом РНК, приводящим к образованию мРНК.

В клетках эукариот образование мРНК, т.е. транскрипция, и большая часть процессинга происходят в ядре. В то же время функционирующие рибосомы находятся в цитоплазме. Таким образом, в потоке информации, идущем от ДНК к рибосомам, необходимой стадией является *транспорт* мРНК из ядра в цитоплазму. В клетках прокариот, как и в органеллах, расположенных в цитоплазме

эукариот (митохондриях и хлоропластах), рибосомы и ДНК не разделены мембраной, поэтому мРНК становится доступной для рибосом во время транскрипции, и тогда же начинается синтез белка; этот феномен называется *сопряженной транскрипцией-трансляцией*.

Белки состоят из аминокислот. Однако синтетическая машина рибосомы не использует свободные аминокислоты. Для того чтобы стать субстратом в процессе синтеза белка, аминокислота должна сначала связаться с аденилатной частью молекулы АТФ — это процесс активации аминокислоты. Затем аминокислотный остаток ковалентно связывается со специфической молекулой тРНК, т.е. происходит ковалентное акцептирование аминокислоты. Оба процесса катализируются одним и тем же ферментом, называемым аминоацил-тРНК-синтетазой. Для каждой аминокислоты существует своя специфическая аминоацил-тРНК-синтетаза, которая и присоединяет данный аминокислотный остаток к специфическим молекулам тРНК. Молекулы аминоацил-тРНК, образующиеся в результате этих событий, рибосома использует как субстраты для синтеза белка, а *энергия химической связи* между аминокислотным остатком и тРНК используется для образования пептидной связи. Таким образом, процессы активации аминокислот и образования аминоацил-тРНК обеспечивают как материал, так и энергию для синтеза белка.

Используя мРНК как программу и аминоацил-тРНК как высокоэнергетический субстрат, рибосомы переводят (транслируют) генетическую информацию с языка мРНК на язык аминокислот, характерный для полипептидных цепей. В молекулярных терминах это означает, что во время передвижения вдоль цепи мРНК рибосома последовательно выбирает из окружающей среды надлежащие виды аминоацил-тРНК. Специфичность аминокислотного остатка аминоацил-тРНК, выбранной рибосомой, определяется комбинацией нуклеотидов в цепи мРНК, ассоциированной с рибосомой. Это приводит к проблеме генетического кода — комбинаций нуклеотидов, которые определяют (кодируют) каждую из 20 природных аминокислот. Данные комбинации нуклеотидов представляют собой триплеты, называемые *кодонами*.

Таким образом, движение рибосомы вдоль цепи мРНК (или перемещение мРНК через рибосому) задает строгий временнóй порядок вхождения различных видов аминоацил-тРНК в рибосому, который зависит от последовательности кодонов в цепи мРНК. В рибосоме аминокислотный (аминоацильный) остаток каждой выбранной аминоацил-тРНК ковалентно прикрепляется к растущей полипептидной цепи. Деацилированная тРНК освобождается в раствор. В каждом акте выбора аминоацил-тРНК и освобождения деацилированной тРНК рибосома потребляет добавочную энергию, освобождаемую в результате гидролиза ГТФ. Все это приводит к пошаговому формированию полипептидной цепи в соответствии с программой, записанной в цепи мРНК.

## 1.4. Принципы макромолекулярной структуры РНК

### 1.4.1. Вторичная структура

Принципиальное макроструктурное различие двух типов нуклеиновых кислот состоит в том, что ДНК — это единая двойная спираль, т.е. макромолекула, построенная из двух комплементарно связанных полимерных тяжей, спирально за-

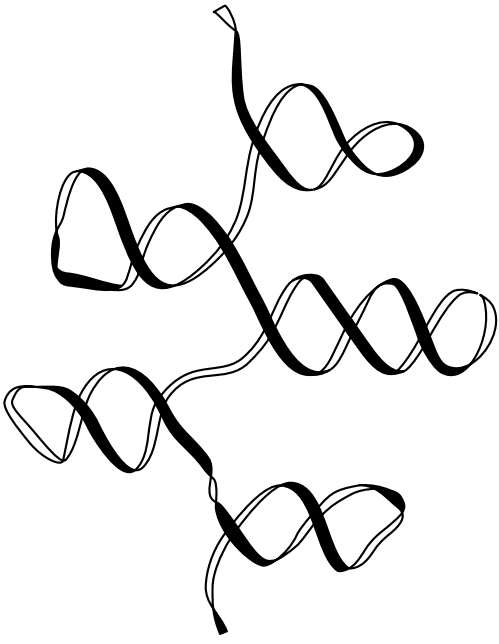


Рис. 1.6. Схема вторичной структуры РНК, формирующейся за счет парных комплементарных взаимодействий смежных участков полирибонуклеотидной цепи («шпилечная структура»)

крученных вокруг общей оси, а РНК — однотяжевой полимер. В то же время взаимодействия боковых групп — азотистых оснований — друг с другом приводят к тому, что однотяжевой полимер РНК сворачивается на себя, формируя вторичную и третичную структуры. Вторичная структура РНК образуется в основном за счет парного взаимодействия смежных участков полинуклеотидной цепи с формированием коротких двуспиральных участков, где спаренные участки цепи имеют противоположную направленность, т. е. «антипараллельны» (рис. 1.6). Это спаривание соседних участков цепи происходит благодаря комплементарным взаимодействиям между основаниями противоположных цепей с образованием, в основном, типичных, или канонических (уотсон-криковских), пар G:C, A:U, C:G и U:A (рис. 1.7).

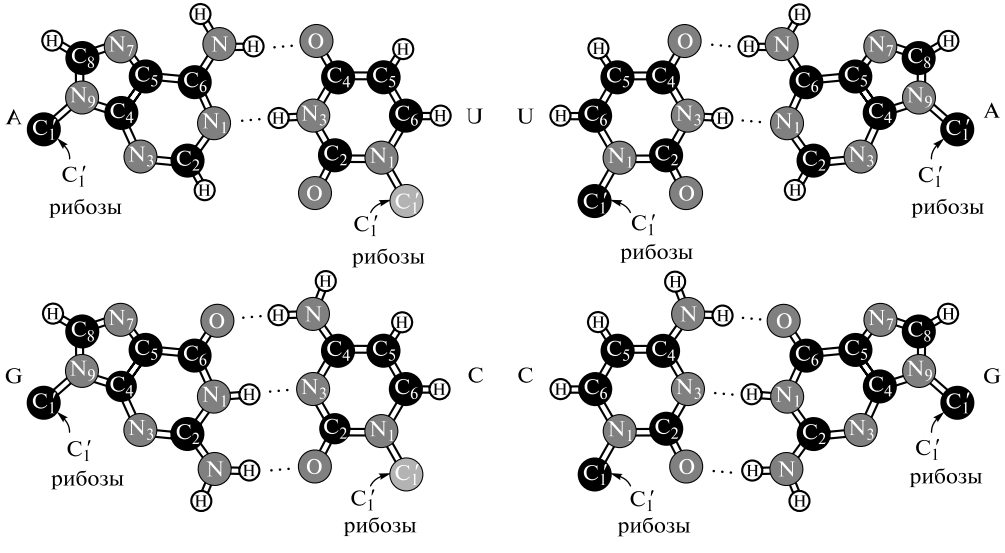
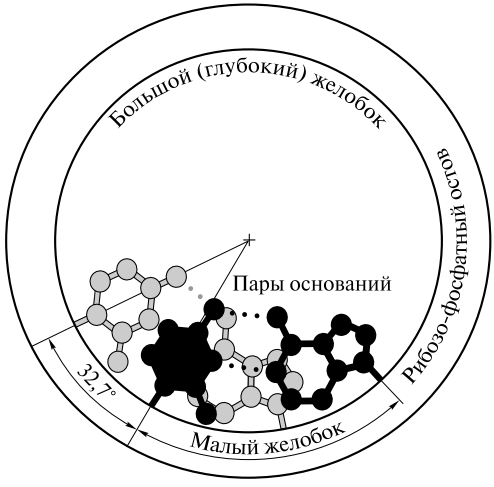



Рис. 1.7. Канонические (уотсон-криковские) пары оснований, идентичные по своим геометрическим параметрам — расстоянию между гликозидными центрами ($C_1'$-атомами рибозы), взаимному расположению гликозидных центров и углу между N-гликозидными связями

Рис. 1.8. Вид с торца двойной спирали РНК в *А*-форме.

Верхняя пара оснований представлена черными линиями (связи) и кружками (атомы), расположенная под ней пара — серыми. Диаметр двойной спирали 2 нм, шаг спирали 3 нм, расстояние между плоскостями пар оснований вдоль оси спирали 0,27—0,28 нм




Конформация двуспирального участка РНК несколько отличается от классической *В*-формы двойной спирали ДНК; двойная спираль РНК может существовать лишь в *А*-форме, близкой по параметрам к *А*-форме частично обезвоженной ДНК. При диаметре около 2 нм длина полного витка, или шаг, двойной спирали *А*-формы РНК составляет 3 нм (вместо 3,4 нм в *В*-ДНК), расстояние между плоскостями пар оснований вдоль оси спирали — 0,27—0,28 нм (вместо 0,34 нм в *В*-ДНК), и соответственно один виток спирали включает в себя 11 пар оснований (а не 10, как в *В*-ДНК). Главное отличие состоит в том, что пары оснований в двойной спирали *А*-ДНК и РНК сильно сдвинуты от оси к периферии спирали в сторону малого желобка (рис. 1.8), в результате чего малый желобок становится очень мелким, а большой желобок — очень глубоким (ср. *А*- и *В*-формы на рис. 1.I цв. вкл.).

Другая важная особенность большинства внутрицепочечных двойных спиралей РНК — это формирование некоторого количества неканонических пар оснований — прежде всего пары G:U (U:G), самой близкой к каноническим парам по своим геометрическим (и энергетическим) параметрам (рис. 1.9, вверху слева). Реже встречаются пары, больше отличающиеся от канонических, — G:A (A:G) и U:U, и значительно реже — A·A, A·C и U:C (см. рис. 1.9). Неканоничесие пары обычно образуются либо на краях двуспиральных участков, либо вписываются в двойную спираль, несколько искажая ее классическую конформацию и дестабилизируя ее. На краях двуспиральных участков и в местах искажений двойной спирали могут формироваться и неканонические пары другого типа, где в спаривании участвуют атомы азота в положении 7 пуринового ядра — так называемые хугстиновские пары оснований (*Hoogsteen base pairs*) (рис. 1.10). Хугстиновские пурин-пуриновые взаимодействия могут иметь место также при внедрении одноцепочечного участка РНК в большой (глубокий) желобок двуспирального участка РНК (см., например, гл. 3, рис. 3.8).

Еще одной особенностью двуспиральных участков РНК является возможность так называемых боковых выпетливаний — участков одноцепочечной РНК, не вписывающихся в двойную спираль и образующих однонуклеотидные выступы, дву-, три- или многонуклеотидные петли с боковой стороны спирали (рис. 1.11). Эти выпетливания искажают конформацию двойной спирали и дестабилизируют ее, но в то же время участвуют в формировании третичных структур РНК. Пример сильного искажения спирали — ее резкого излома — в месте тринуклеотидной боковой петли показан на рис. 1.12.

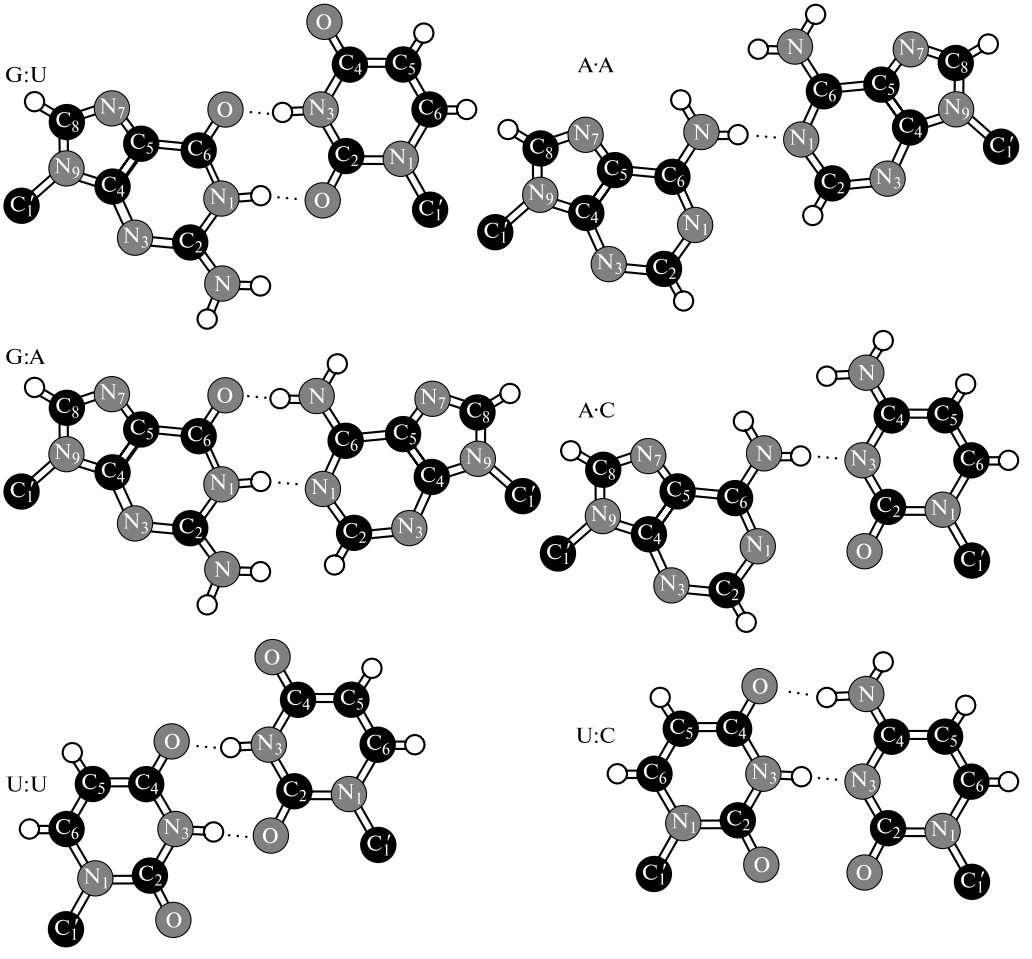



Рис. 1.9. Неканонические пары оснований, встречающиеся в двуспиральных участках РНК. Видно отличие неканонических пар от канонических (см. рис. 1.7) по тем или иным геометрическим параметрам

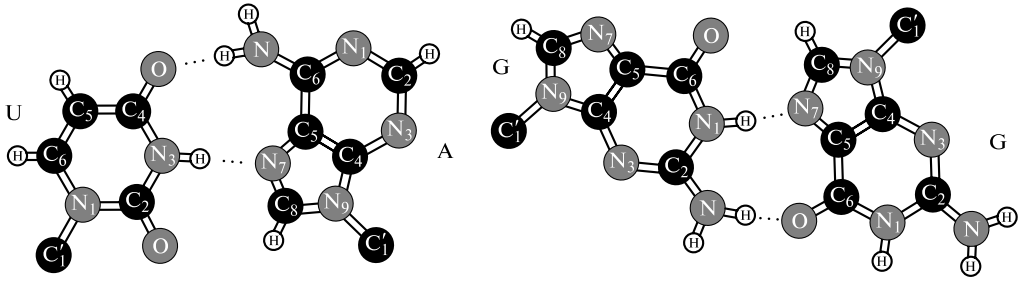



Рис. 1.10. Редкие неканонические пары оснований с участием $N_7$ пуринового кольца (хугстиновские пары), встречающиеся на торцах двуспиральных участков РНК и при вхождении одноцепочечного участка РНК в большой (глубокий) желобок двуспирального участка