

# ОГЛАВЛЕНИЕ

---

---

Предисловие . . . . .	3
Предисловие автора . . . . .	5
<b>ЧАСТЬ I. ВВОДНАЯ</b> . . . . .	<b>7</b>
<b>Глава 1. Мир РНК и биосинтез белков</b> . . . . .	<b>7</b>
1.1. Центральная догма молекулярной биологии . . . . .	7
1.2. Кодированные и некодирующие РНК . . . . .	10
1.3. Общая схема биосинтеза белков . . . . .	14
1.4. Принципы макромолекулярной структуры РНК . . . . .	17
1.5. Мир РНК и происхождение жизни . . . . .	30
<b>Глава 2. Информационная РНК и генетический код</b> . . . . .	<b>45</b>
2.1. Расшифровка генетического кода . . . . .	45
2.2. Особенности генетического кода . . . . .	49
2.3. Структура мРНК . . . . .	52
2.4. Информационные рибонуклеопротеидные частицы высших эукариот (информосомы, или мРНП) . . . . .	57
<b>Глава 3. Транспортная РНК и аминоксил-тРНК-синтетазы</b> . . . . .	<b>67</b>
3.1. Открытие . . . . .	67
3.2. Структура тРНК . . . . .	69
3.3. Аминоксил-тРНК-синтетазы . . . . .	78
3.4. Аминоксилирование тРНК . . . . .	83
3.5. Специфичность аминоксилирования тРНК . . . . .	88
<b>Глава 4. Рибосомы и трансляция</b> . . . . .	<b>95</b>
4.1. Первые наблюдения . . . . .	95
4.2. Локализация рибосом в клетке . . . . .	96
4.3. Рибосомы прокариот и эукариот . . . . .	98
4.4. Полирибосомы . . . . .	100
4.5. Стадии трансляции: инициация, элонгация и терминация . . . . .	104

4.6. Химические реакции и суммарный энергетический баланс биосинтеза белка . . . . .	105
4.7. Бесклеточные системы трансляции . . . . .	107
<b>ЧАСТЬ II. СТРУКТУРА РИБОСОМЫ . . . . .</b>	<b>113</b>
<b>Глава 5. Морфология рибосомы . . . . .</b>	<b>113</b>
5.1. Размер, внешний вид и подразделение на субъединицы . . . . .	113
5.2. Малая субъединица . . . . .	115
5.3. Большая субъединица . . . . .	118
5.4. Ассоциация субъединиц в полную рибосому . . . . .	118
5.5. Структура рибосомы с низким разрешением . . . . .	120
5.6. Структура рибосомы с атомным разрешением . . . . .	123
<b>Глава 6. Рибосомная РНК . . . . .</b>	<b>126</b>
6.1. Введение . . . . .	126
6.2. Типы рибосомной РНК и их первичная структура . . . . .	126
6.3. Вторичная структура рибосомных РНК . . . . .	130
6.4. Конформационная подвижность и компактное сворачивание рибосомных РНК . . . . .	137
6.5. Третичная структура рибосомных РНК . . . . .	141
<b>Глава 7. Рибосомные белки и четвертичная структура рибосомы . . . . .</b>	<b>152</b>
7.1. Разнообразии и номенклатура рибосомных белков . . . . .	152
7.2. Первичные структуры белков . . . . .	157
7.3. Пространственные структуры белков . . . . .	158
7.4. Белковые комплексы . . . . .	161
7.5. Взаимодействия белков с рибосомной РНК . . . . .	163
7.6. Разборка и самосборка рибосомных частиц . . . . .	165
7.7. Периферическая локализация белков и их топография . . . . .	170
<b>ЧАСТЬ III. ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РИБОСОМЫ . . . . .</b>	<b>183</b>
<b>Глава 8. Функциональные активности и функциональные участки рибосомы . . . . .</b>	<b>183</b>
8.1. Рабочий цикл рибосомы . . . . .	183
8.2. Связывание, удержание и скольжение мРНК (мРНК-связывающий участок на малой субъединице) . . . . .	187
8.3. Катализ реакции образования пептидной связи (пептидилтрансферазный центр на большой субъединице) . . . . .	191
8.4. GTP-зависимое связывание факторов трансляции (участок связывания белковых факторов на большой субъединице) . . . . .	197
8.5. Связывание аминоксил-тРНК и удержание пептидил-тРНК (тРНК-связывающие центры в межсубъединичном пространстве) . . . . .	201
8.6. Перемещения лигандов: функция транслокации . . . . .	211

<b>Глава 9. Элонгационный цикл, стадия I: связывание аминоацил-тРНК . . . .</b>	<b>214</b>
9.1. Кодон-антикодоновое взаимодействие . . . . .	214
9.2. Участие фактора элонгации 1 (EF-Tu или eEF1A) в связывании аминоацил-тРНК . . . . .	222
9.3. Ингибиторы связывания аминоацил-тРНК . . . . .	231
9.4. Ложное кодирование . . . . .	241
9.5. Общая схема последовательности событий при связывании аминоацил-тРНК с рибосомой . . . . .	250
<b>Глава 10. Элонгационный цикл, стадия II: транспептидация (образование пептидной связи) . . . . .</b>	<b>257</b>
10.1. Химический механизм реакции транспептидации . . . . .	257
10.2. Стереохимическое рассмотрение реакции . . . . .	259
10.3. Структурные основы катализа транспептидации . . . . .	264
10.4. Спонтанное посттранспептидационное смещение продуктов транспептидации как предпосылка транслокации . . . . .	266
10.5. Энергетический баланс реакции . . . . .	268
10.6. Ингибиторы . . . . .	269
<b>Глава 11. Элонгационный цикл, стадия III: транслокация . . . . .</b>	<b>280</b>
11.1. Определения и экспериментальные термины . . . . .	280
11.2. Участие фактора элонгации (EF-G или eEF2) в транслокации . . . . .	282
11.3. Бесфакторная («неэнзиматическая») транслокация . . . . .	290
11.4. Передвижения матрицы при транслокации . . . . .	293
11.5. Механика и энергетика транслокации . . . . .	304
11.6. Ингибиторы транслокации . . . . .	306
11.7. Резюме: последовательность событий и молекулярные механизмы . . . . .	312
<b>Глава 12. Скорость элонгации и ее модуляция . . . . .</b>	<b>317</b>
12.1. Скорость элонгации у прокариот и эукариот . . . . .	317
12.2. Неравномерность элонгации . . . . .	321
12.3. Избирательная регуляция скорости элонгации на специфических мРНК . . . . .	326
12.4. Тотальная регуляция элонгации . . . . .	327
12.5. Белковые токсины, воздействующие на элонгацию . . . . .	330
<b>Глава 13. Терминация трансляции . . . . .</b>	<b>338</b>
13.1. Кодоны терминации . . . . .	338
13.2. Белковые факторы терминации . . . . .	341

13.3. Связывание факторов терминации с рибосомой . . . . .	346
13.4. Гидролиз пептидил-тРНК . . . . .	348
13.5. Эвакуация деацилированной тРНК . . . . .	349
13.6. Общий сценарий последовательности событий в процессе терминации . . . . .	351
<b>Глава 14. Инициация трансляции . . . . .</b>	<b>357</b>
14.1. Общие принципы . . . . .	357
14.2. Инициация у прокариот . . . . .	364
14.3. Инициация у эукариот . . . . .	376
<b>Глава 15. Регуляция трансляции у прокариот . . . . .</b>	<b>410</b>
15.1. Общие положения . . . . .	410
15.2. Дискриминация мРНК . . . . .	411
15.3. Трансляционное сопряжение . . . . .	413
15.4. Трансляционная репрессия . . . . .	421
15.5. «Рибопереключения» . . . . .	438
15.6. Антисмысловое блокирование . . . . .	443
<b>Глава 16. Регуляция трансляции у эукариот . . . . .</b>	<b>449</b>
16.1. Значение регуляции трансляции у эукариот . . . . .	449
16.2. Тотальная регуляция трансляции путем модификации факторов инициации . . . . .	450
16.3. Дискриминация мРНК иницирующими рибосомными частицами и факторами инициации . . . . .	455
16.4. Регуляция инициации короткими открытыми рамками считывания (uORF) . . . . .	460
16.5. Трансляционная репрессия . . . . .	467
16.6. Маскирование мРНК . . . . .	472
16.7. Эволюция основных механизмов регуляции трансляции . . . . .	487
<b>Глава 17. Котрансляционное сворачивание и трансмембранный транспорт белков . . . . .</b>	<b>491</b>
17.1. Вклад рибосомы в сворачивание белков . . . . .	491
17.2. Взаимодействие транслирующих рибосом с мембранами . . . . .	501
17.3. Котрансляционная трансмембранная транслокация растущих полипептидных цепей . . . . .	509
17.4. Котрансляционные ковалентные модификации и сворачивание растущей полипептидной цепи в просвете эндоплазматического ретикула . . . . .	516

17.5. Альтернативные пути трансмембранного транспорта новосинтезированных белков . . . . .	517
<b>ЧАСТЬ IV. ОБОБЩЕНИЕ . . . . .</b>	<b>523</b>
<b>Глава 18. Принципы структурной организации и функционирования рибосомы . . . . .</b>	<b>523</b>
18.1. Основные принципы структурной организации и сборки рибосомы . . . . .	523
18.2. Структурные основы функционирования рибосомы . . . . .	525
18.3. Рибосома как молекулярная машина . . . . .	536
18.4. Вклад белковых факторов элонгации . . . . .	543
18.5. Рибосома как изотермическая машина с конформационным «храповиком» и химической «собачкой» . . . . .	553
18.6. Заключение . . . . .	559

## ПРЕДИСЛОВИЕ

---

---

Эта книга (учебное пособие) написана выдающимся российским ученым, одним из основоположников науки о биосинтезе белка Александром Сергеевичем Спириным. В середине 1950 г., еще будучи студентом и аспирантом А. Н. Белозерского, А. С. Спирин начал изучение нуклеотидного состава суммарной РНК различных организмов (теперь мы знаем, что это была преимущественно рибосомная РНК). Эти работы справедливо относят к основополагающим достижениям только что зарождавшейся в те годы главной науки второй половины XX в. — молекулярной биологии. Во-первых, было показано, что РНК, представленные в клетке в наибольшем количестве, закодированы в небольшой части генома. Во-вторых, Спириным и Белозерским было предсказано существование матричной РНК, в виде которой генетическая информация переносится от ДНК к белкам. На рубеже 1950—1960 г. А. С. Спириным совместно с американскими учеными Ж. Фреско и П. Доти были установлены основные принципы организации макромолекулярной структуры РНК, которые остаются неизблемыми и сейчас. В эти же годы уже в собственной лаборатории в Институте биохимии им. А. Н. Баха Александр Сергеевич приступает к изучению рибосом, их конформационной подвижности и сборки из РНК и белков. В 1967 г. А. С. Спирин создает в Пушкино академический Институт белка, который становится одним из основных мировых центров по изучению структуры и функций рибосом. Научные достижения этого Института достаточно подробно представлены в этой книге, и это составляет одну из ее сильных сторон. Уже в год создания Института белка А. С. Спириным была сформулирована концепция, согласно которой образование каждой новой пептидной связи в синтезируемой рибосомой молекуле белка сопровождается периодическим смещением субъединиц рибосомы друг относительно друга. В последние десятилетия эта концепция нашла убедительное экспериментальное подтверждение. Она легла в основу представления о том, что, синтезируя белки, рибосома работает как молекулярная машина.

В 2000 г. в науке о рибосомах произошло выдающее событие: сразу в нескольких лабораториях методом рентгеноструктурного анализа была установлена пространственная структура бактериальных рибосом с атомным разрешением. Исследователи, изучавшие рибосому биохимическими и генетическими методами, получили возможность в деталях рассмотреть ее внутреннее устройство. А главное, у них появилась возможность соотнести с атомными моделями структуры огромный массив экспериментальных результатов, накопленных в течение предыдущих сорока лет (в т. ч. и данные о структуре рибосомы, полученные физическими методами с более низким разрешением). Со множеством таких сопоставлений читатель встретится на страницах этой книги.

Однако, параллельно с расшифровкой атомных структур рибосом из широкого круга биологических объектов с помощью рентгеновской кристаллографии (на сегодня их известно уже несколько десятков) все более очевидными становились серьезные проблемы, ограничивающие дальнейший прогресс в этой области. Как это неоднократно подчеркивает автор настоящей книги, в ходе синтеза полипептидной цепи рибосома, взаимодействуя с лигандами и факторами белкового синтеза, проходит через множество промежуточных состояний и претерпевает многие структурные изменения. Без знания атомной структуры этих интермедиатов глубокое понимание механизма процесса трансляции и управление им невозможны. Однако закристаллизовать такие комплексы удается только в редких случаях. И здесь большие надежды связывают с методом криоэлектронной микроскопии, который позволяет изучать биологические объекты в растворе в «рабочем состоянии». За последние несколько лет разрешающая способность этого метода выросла настолько, что в ближайшем будущем исследователи смогут работать с атомными структурами практически любых функциональных рибосомных комплексов. В своей книге А. С. Спирина уделяет этому методу достаточно много внимания. Тем не менее, мы настоятельно рекомендуем читателям ознакомиться с приведенными в списке литературы к Главе 18 статьями И. Франка последних лет о перспективах приложения метода криоэлектронной микроскопии к расшифровке механизмов работы рибосомы. (В 2017 г. за развитие метода криоэлектронной микроскопии И. Франку была присуждена Нобелевская премия по химии.)

Учебники А. С. Спирина по рибосомам, на которых выросло не одно поколение молекулярных биологов (и не только в нашей стране, поскольку они не раз переводились на английский), имеют длинную историю. Сначала это были сравнительно небольшие по объему монографии. А в 1986 г. Александр Сергеевич задумал издание капитального трехтомного учебника по молекулярной биологии, к работе над которым он привлек группу ученых, читавших в Московском университете курсы лекций по различным ее разделам. Первый том под тем же названием, что и настоящая книга, он написал сам. Ее последнее издание вышло в 2011 г. Несколько лет назад А. С. Спирина включил в текст этой последней версии своего учебника некоторые новые данные. Тем не менее, пока шла работа над подготовкой ее рукописи к настоящему изданию, наука о биосинтезе белка продолжала бурно прогрессировать, и мы решили, с согласия автора, включить в текст учебника примечания, в которых упомянуты новые достижения науки о рибосомах, а также дополнить списки литературы ссылками на ключевые (в основном обзорные) работы последних лет. В этой работе приняли участие С. Дмитриев, П. А. Каменский, В. Широков и автор этого предисловия.

А. А. Богданов,  
профессор МГУ им. М. В. Ломоносова,  
2018 г.

## ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРА

---

---

Эта книга написана 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 эту 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 этой области и дает примеры наблюдений и их объяснения. Я понимаю, что некоторые объяснения и выводы могут быть предварительными и спорными, но надеюсь, что это будет больше стимулировать размышления и обсуждение проблем, нежели белые пятна, которые могли бы быть оставлены в книге.

У книги есть прототип: это моя монография «Молекулярная биология: Структура рибосомы и биосинтез белка» (М.: Высшая школа, 1986). Здесь я в основном выдерживаю предыдущий порядок представления тем и подразделения на главы. Однако содержание 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) и котрансляционному сворачиванию и трансмембранному транспорту белков (гл. 17) полностью переписаны в соответствии с новыми данными. Глава 7 по рибосомным белкам объединена с главой 8 и расширена новым материалом по четвертичной структуре рибосомы. Фактически заново написаны главы по контролю трансляции у прокариот (гл. 16) и у эукариот (гл. 17). Заключительная глава 18 об основных принципах структурной организации и функционирования рибосомы теперь включает в себя также рассмотрение рибосомы как молекулярной машины.

В этой книге (как и в предыдущей) литературные ссылки даны в основном с целью 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, а чтобы обеспечить информацию о теперешних знаниях, я отсылаю читателя к не-

которым недавним публикациям и обзорам. Во многих случаях при ссылках на работы коллективов авторов фамилии руководителей групп в списках литературы подчеркнуты, а в тексте дана соответствующая ссылка именно на руководителя работы. Кроме списков литературы в конце каждой главы, добавлены соответствующие ссылки в подписях ко многим иллюстрациям. Большая часть иллюстраций по структуре рибосом и их компонентов, расшифрованных в последнее время с помощью рентгеноструктурного анализа, 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 коллег в Институте белка РАН в Пушкино. Я очень признателен моим коллегам — 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 помощь в написании ряда глав этого учебника и их обсуждение. Хочу принести особую благодарность А. Коммеру за неоценимую помощь в приготовлении всего иллюстрационного материала книги, Т. Б. Кувшинкиной за большой вклад в составление и упорядочение списков литературы к каждой главе и Л. Н. Рожанской за повседневную техническую помощь.

А. С. Спирин,  
академик РАН

# ЧАСТЬ I. ВВОДНАЯ

---

---

## ГЛАВА 1. МИР РНК И БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ

### 1.1. Центральная догма молекулярной биологии

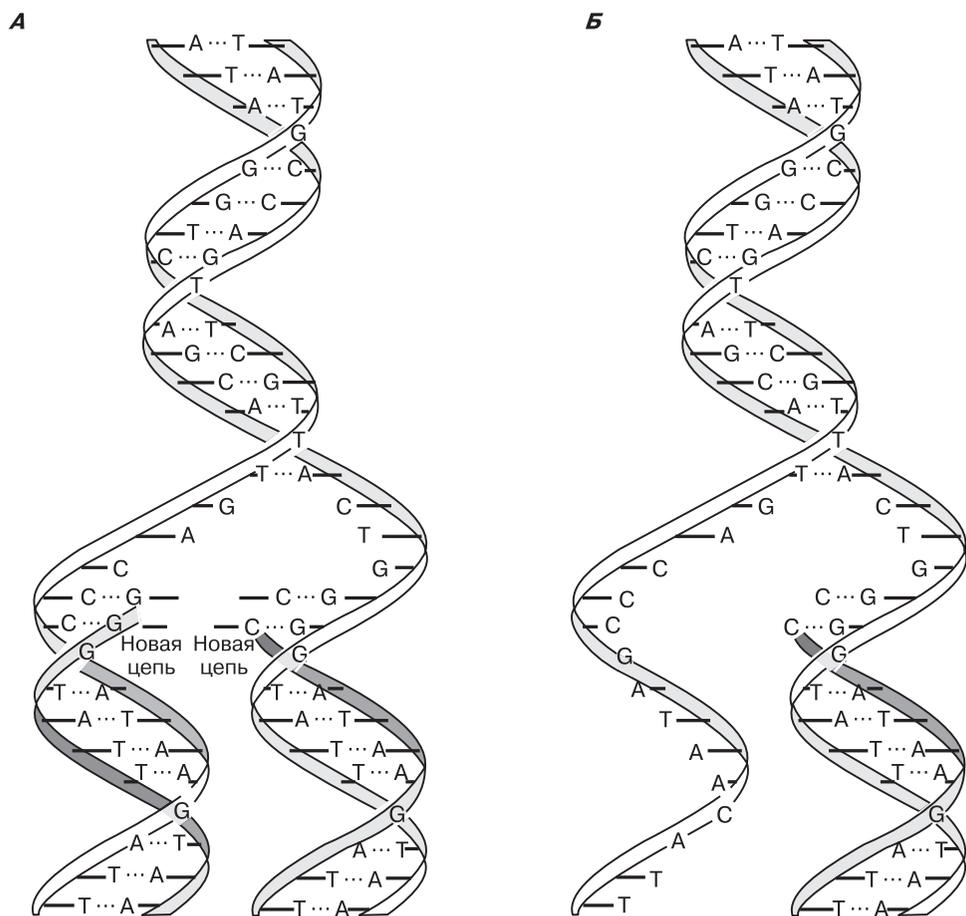
В 40-х гг. XX в., прежде всего на основе цитологических и биохимических наблюдений Касперсона (1941) и Браше (1941–1942), стало складываться представление, что ДНК, локализуемая в ядрах клеток, в их хромосомах, самым тесным образом связана с аппаратом наследственности, а РНК — обязательный компонент 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 в виде биосинтеза белков.

К началу 1950-х гг. Чаргафф установил факт видовой специфичности состава ДНК, показав, что соотношения четырех сортов ее мономеров — гуанилового (G), аденилового (A), цитидилового (C) и тимидилового (T) — различаются у разных видов организмов. Этот факт прямо соответствовал предполагавшейся генетической роли ДНК. При этом 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, указавших на спиральный характер укладки полимерных молекул ДНК (Уилкинс и Фрэнклин), предложили модель макромолекулярной структуры ДНК. Это была двойная спираль, где две полимерные нити ДНК закручены друг относительно друга 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 воспроизведению генов в процессах размножения и наследственности. Так полвека назад родилась новая наука — молекулярная биология.

В основе воспроизведения (редупликации) структуры ДНК лежит так называемый принцип комплементарности: в двойной спирали две полимерных цепи ДНК связаны друг с другом бок о бок водородными

связями при образовании пар G : C, C : G, A : T и T : A (здесь и далее нековалентные связи будут обозначаться двоеточиями). Если две цепи двойной спирали расходятся, то на каждой из них может строиться (полимеризоваться) новая *комплементарная* цепь, так что напротив G исходной цепи установится C новой цепи, напротив C старой цепи — G новой цепи, напротив A — T, а напротив T — A; в результате получатся две дочерние двойные спирали, полностью идентичные исходной — материнской (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 уридилковым остатком (U), вместо его метилиро-



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

ванного производного Т в ДНК. Тот же 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. 1.1, **Б**). Разумеется, при синтезе РНК напротив А цепи ДНК становится уридилковый рибонуклеотид (U), вместо тимидилового дезоксирибонуклеотида (Т) при синтезе ДНК. Реплицирующаяся цепь РНК, таким образом, оказывается 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.

Цепи РНК — копии определенных функциональных отрезков цепи ДНК — генов, они призваны служить матрицами для синтеза другого типа полимеров — полипептидных цепей белков. Поскольку 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 прочно 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 стрелки обозначают необратимый поток информации от ДНК через РНК к белку (рис. 1.2).



**Рис. 1.2.** Центральная догма молекулярной биологии

## 1.2. Кодирование и некодирующие РНК

Ко второй половине 1950-х гг. уже было установлено, что синтез белков в живых клетках осуществляется рибонуклеопротеидными частицами — рибосомами и что РНК, присутствующая в рибосомах в качестве их основного компонента (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 (Крик, 1958)» (Жакоб и Моно, 1961, с. 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» (Крик, 1958, с. 35). Описывая создавшуюся ситуацию, Жакоб и Моно добавляют следующее к тому, что было процитировано выше относительно предположения о кодирующей 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)» (Жакоб и Моно, 1961, с. 195). Таким образом, все оказывалось сложнее, чем первоначально постулировалось «центральной догмой молекулярной биологии» в ее первоначальном

Таблица 1.1

## Сравнение нуклеотидного состава ДНК и РНК у некоторых бактерий

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

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 г. можно начинать историю открытия *некодирующих РНК* в живых клетках.

С тех пор, и особенно в последнее время, 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. Транспортная (адаптерная) РНК, или тРНК, — второй по представленности класс клеточных РНК после рибосомных РНК — была открыта тоже в 1957 г. одновременно американскими (Хоагланд, Замечник и Стефенсон) и японскими (Огата и Кохара) исследователями. Она также не служит матрицей для синтеза белков, хотя участвует в процессе первичного декодирования генетического кода путем специфического акцептирования аминокислот через ферменты — аминоксил-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. обзоры в сборнике под редакцией Гестеланда, Чека и Аткинса, 2006). Сюда относятся РНК, участвующие в качестве затравки в синтезе ДНК и при 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. Нельзя не упомянуть также открытые в 1982–1983 каталитические РНК — рибозимы (Чек и др. 1982; Алтман

и др., 1983). Особый интерес представляет класс так называемых микроРНК, открытых не так давно (2001) и вызвавших настоящий научный бум. Оказалось, что микроРНК (короткие РНК длиной всего 20–25 нуклеотидных остатков, комплементарные участкам мРНК) в клетках высших организмов, включая 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 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: Капранов, Джингерас и др., 2007).

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 в пользу 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 обнаружение специальной фракции кодирующей РНК, позднее названной *messenger RNA*, или информационной РНК (мРНК, матричная РНК), представляющей собой копии структурных генов и кодирующей клеточные белки. Годом ранее в работе Волкина и Астрачана было показано, что заражение клеток *Escherichia coli* бактериофагом индуцирует в клетках 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 фаговоспецифической 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 фагозараженных бактериях, почти одновременно опубликованных тремя различными группами авторов в 1961 г. — англо-франко-американской группы (Бреннер, Жакоб



лотные остатки и совместно с рибосомой участвующая в их включении в синтезируемую полипептидную цепь белка; 3) кодирующая *информационная РНК*, также называемая *матричной РНК* (мРНК), связывающаяся с рибосомой и определяющая порядок вхождения различных аминокислотированных тРНК в рибосому, а тем самым определяющая 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 (рРНК) 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 служит катализатором процесса формирования пептидных связей — 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 дополнительным 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, или матричная, 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

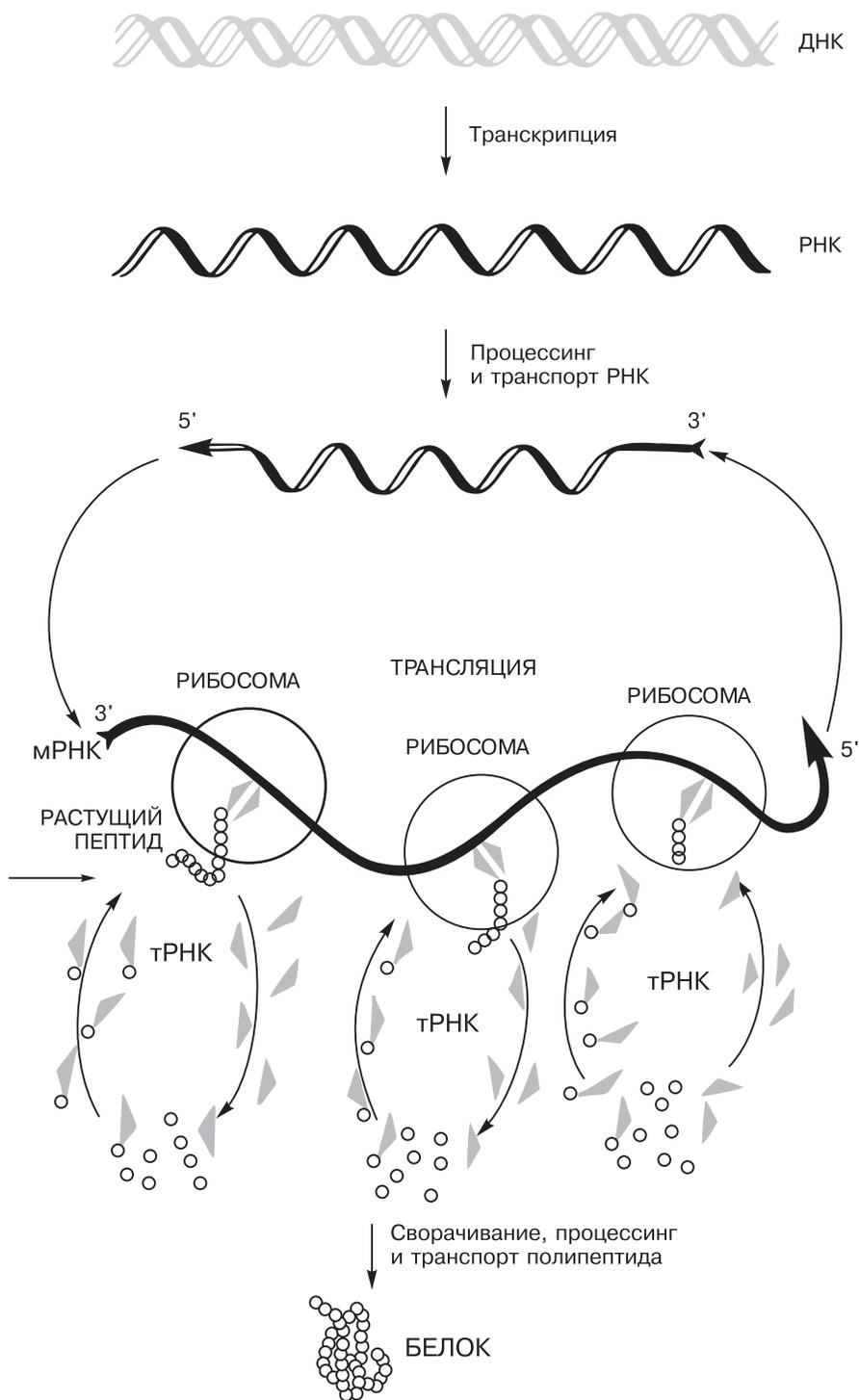


Рис. 1.5. Общая схема биосинтеза белка

и в органеллах, расположенных в цитоплазме эукариот (митохондриях и хлоропластах) рибосомы и ДНК не разделены мембраной, и 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 РНК, в русской научной литературе называемой *транспортной РНК* (по-английски *transfer RNA*), или тРНК; это — ковалентное акцептирование аминокислоты. Эти два процесса катализируются одним и тем же ферментом, называемым аминоксил-тРНК-синтетазой. Для каждой аминокислоты существует своя специфическая аминоксил-тРНК-синтетаза, которая и присоединяет данный аминокислотный остаток к специфическим молекулам тРНК. Молекулы аминоксил-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 аминоксил-тРНК обеспечивают как материал, так и энергию для синтеза белка.

Используя мРНК как программу и аминоксил-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 аминоксил-тРНК. Специфичность аминокислотного остатка соответствующей аминоксил-тРНК, выбранной рибосомой, определяется комбинацией нуклеотидов в цепи мРНК, ассоциированной с рибосомой. Это приводит нас к проблеме генетического кода — комбинации нуклеотидов, которые определяют (кодируют) каждую из 20 природных аминокислот. Эти комбинации нуклеотидов представляют собой триплеты, которые называют *кодонами*.

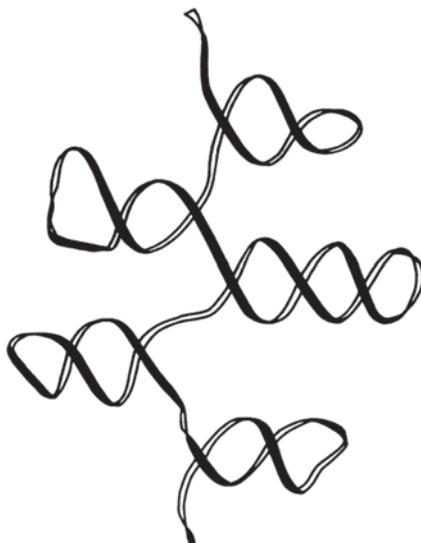
Таким образом, движение рибосомы вдоль цепи мРНК (или перемещение мРНК через рибосому) задает строгий временной порядок вхождения различных видов аминоксил-тРНК в рибосому. Этот порядок зависит от последовательности кодонов в цепи мРНК. В рибосоме аминокислотный (аминоацильный) остаток каждой выбранной аминоксил-тРНК ковалентно прикрепляется к растущей полипептидной цепи. Деацилированная тРНК освобождается в раствор. В каждом акте выбора аминоксил-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

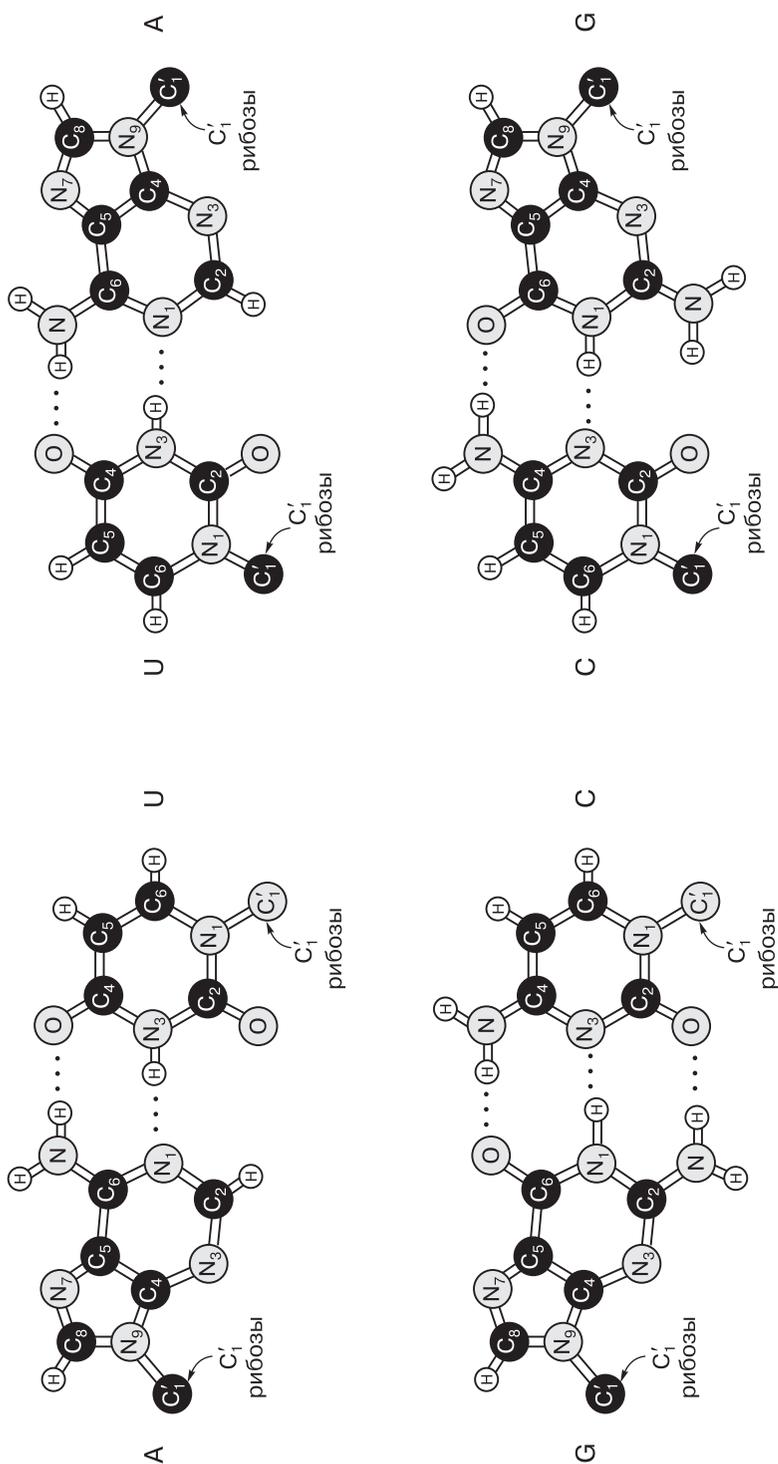
### 1.4.1. Вторичная структура

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 закрученных вокруг общей оси, а РНК — одноцепочечный полимер. В то же время взаимодействия боковых групп — азотистых оснований — друг с другом приводят к тому, что одноцепочечный полимер РНК сворачивается на себя, формируя вторичную и третичную структуры. Вторичная структура РНК образуется в основном благодаря парному взаимодействию смежных участков полинуклеотидной цепи с формированием коротких двуспиральных участков, где естественным образом 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).

Конформация двуспирального участка РНК несколько отличается от классической *B*-формы двойной спирали ДНК; двойная спираль РНК может существовать лишь в *A*-форме, близкой по параметрам к *A*-форме частично обезвоженной ДНК. При диаметре около 2 нм длина полного витка, или шаг двойной спирали *A*-формы РНК, составляет 3 нм (вместо 3,4 нм в *B*-ДНК), расстояние между плоскостями пар



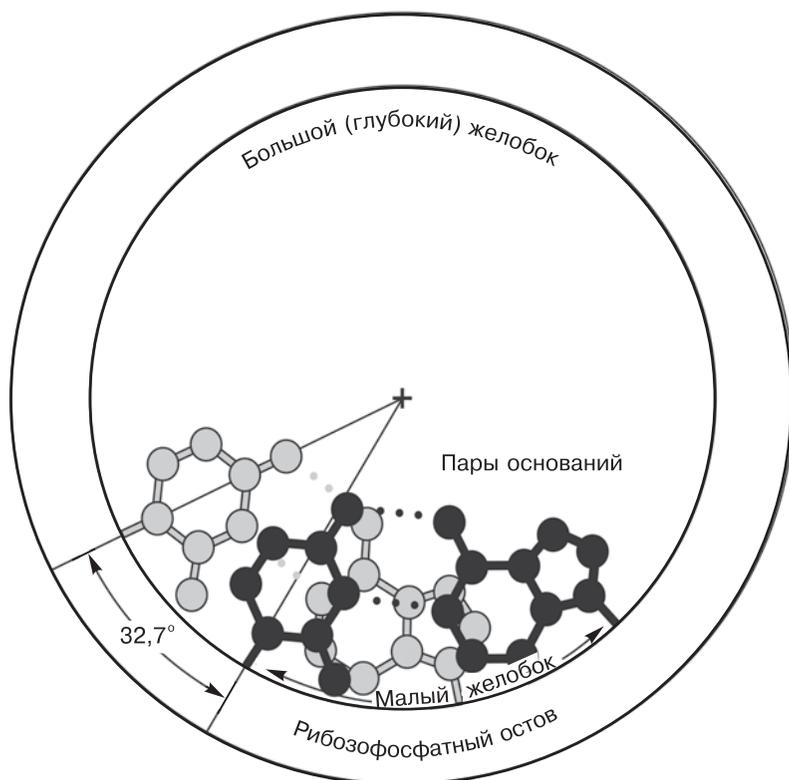
**Рис. 1.6.** Схема вторичной структуры РНК, формирующейся за счет парных комплементарных взаимодействий смежных участков полирибонуклеотидной цепи («шпильчатая структура»)



**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

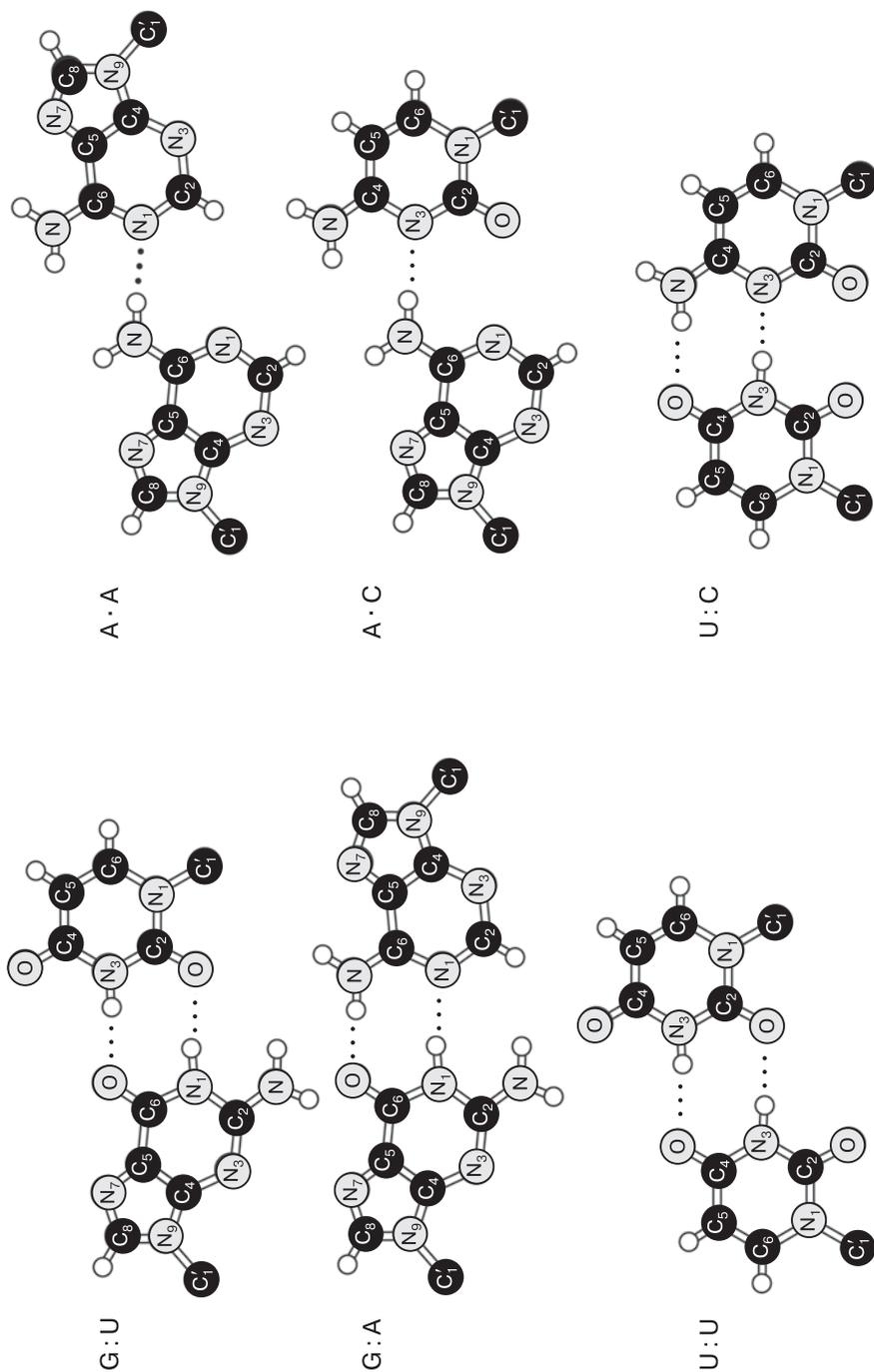
оснований вдоль оси спирали 0,27–0,28 нм (вместо 0,34 нм в *B*-ДНК), и соответственно один виток спирали включает в себя 11 пар оснований (а не 10, как в *B*-ДНК). Главное отличие состоит в том, что пары оснований в двойной спирали *A*-ДНК и РНК сильно сдвинуты от оси к периферии спирали в сторону малого желобка спирали (рис. 1.8), в результате чего малый желобок становится очень мелким, а большой желобок — очень глубоким (ср. *A*- и *B*-формы на рис. 1.1 цв. вкл.).

Другая важная особенность большинства внутрицепочечных двойных спиралей РНК — это формирование некоторого количества неканонических пар оснований — прежде всего пары G : U (и 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 (рис. 1.9). Неканонические 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



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

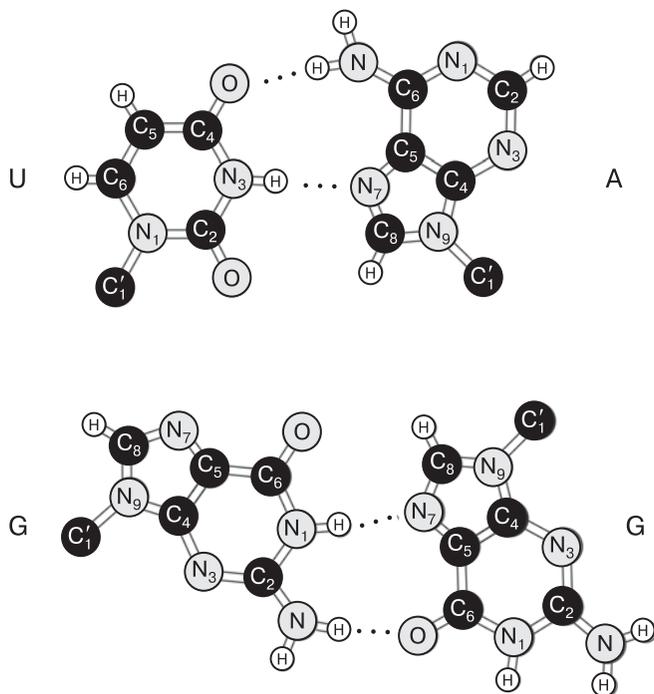


**Рис. 1.9.** Неканонические пары оснований, встречающиеся в двухспиральных участках РНК. Видно их отличие от канонических пар (рис. 1.7) по тем или иным геометрическим параметрам

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 однуклеотидные выступы или 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 могут участвовать в формировании третичных структур РНК. Пример сильного искажения спирали — ее резкого излома — в месте тринуклеотидной боковой петли показан на рис. 1.12.

Торцевые петли двуспиральных участков РНК представляют особый интерес, так как могут формировать специальные типы вторичных структур. Это, прежде всего, так называемые тетрапетли (*tetraloops*). На примере, представленном на рис. 1.13, показано, как тетрануклеотидная торцевая петля шпильки образует компактную стабильную структуру: U<sub>5</sub>



**Рис. 1.10.** Редкие неканонические пары оснований с участием N<sub>7</sub> пуринового кольца (хугстиновские пары), встречающиеся на торцах двуспиральных участков РНК и при вхождении одноцепочечного участка РНК в большой (глубокий) желобок двуспирального участка