

В. С. ШВАРЦ, В. Н. ЛЫСИКОВ

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ «РИБОСОМАЛЬНОГО СИТА»

(Представлено академиком А. С. Спириным 22 V 1974)

Транслирующая рибосома с той или иной частотой совершает ошибки при декодировании РНК-матрицы (¹⁻⁷). Частота ошибок кодирования повышается под влиянием аминогликозидных антибиотиков (^{2, 7}), ряда химических и физических факторов (³⁻⁶), а также при некоторых мутациях в генах, ответственных за синтез определенных рибосомных белков (^{8, 9}). Горини высказал предположение о том, что высокая частота ошибок кодирования есть результат повреждения «рибосомального сита» — некоего внутреннего присущего самой рибосоме (выходящего за рамки кодон-антикодонных взаимодействий) механизма, который обеспечивает необходимую для нормальной жизнедеятельности степень точности отбора аминоацил-тРНК, соответствующей считываемому кодону (¹⁰).

Механизм «рибосомального сита» неясен. Между тем, по крайней мере один обязательный элемент этого механизма необходимым образом вытекает из следующих двух постулатов.

1. Вероятности образования специфического и неспецифического аминоацил-тРНК·кодон·рибосомных комплексов сопоставимы.

2. Время жизни (величина, обратная вероятности распада) специфического аминоацил-тРНК·рибосомного комплекса существенно больше времени жизни неспецифических аминоацил-тРНК·кодон·рибосомных комплексов.

Из первого постулата следует, что при считывании каждого очередного кодона транслируемой РНК-матрицы между различными аминоацил-тРНК происходит конкуренция за связывание с рибосомой. Из второго постулата следует, что специфическая для считываемого кодона аминоацил-тРНК побеждает в этой конкуренции (т. е. происходит правильное считывание кодона) только при условии, что акцепторный тРНК-связывающий участок рибосомы, несущий подлежащий считыванию кодон, остается доступным для взаимодействий с конкурирующими за него аминоацил-тРНК в течение времени, достаточного для реализации различий во временах жизни специфического и неспецифических аминоацил-тРНК·кодон·рибосомных комплексов. Для того чтобы это время могло быть в указанном смысле достаточным, оно должно быть независимым от самого акта связывания какой-либо аминоацил-тРНК с акцепторным тРНК-связывающим участком рибосомы. Эта ситуация может быть описана стандартными кинетическими уравнениями, решения которых графически представлены на рис. 1.

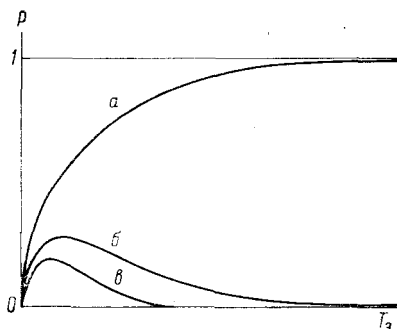
Из сказанного вытекает необходимость введения нерассматривавшегося до сих пор физического параметра функционирующей рибосомы — времени экспонирования кодона (T_0), т. е. времени, в течение которого каждый очередной кодон транслируемой РНК-матрицы доступен для взаимодействий с конкурирующим за него аминоацил-тРНК.

При достаточно большом времени экспонирования кодона различия во временах жизни специфического и неспецифических аминоацил-тРНК·кодон·рибосомных комплексов будут реализованы, и акцепторный тРНК-связывающий участок рибосомы с вероятностью, близкой к единице,

будет связан со специфической для считываемого кодона аминоксил-тРНК (см. правую часть рис. 1). Напротив, при малом времени экспонирования кодона различия во временах жизни специфического и неспецифических аминоксил-тРНК·кодон·рибосомных комплексов не успевают реализоваться, и акцепторный тРНК-связывающий участок рибосомы с сопоставимыми вероятностями будет связан как со специфической, так и с неспецифическими для считываемого кодона аминоксил-тРНК (см. левую часть рис. 1), т. е. будут наблюдаться ошибки кодирования.

Таким образом, исходя из сформулированных выше постулатов, можно утверждать, что независимо от устройства рибосомы и происходящих в ней в течение рабочего цикла структурных изменений, достаточное время

Рис. 1. Изменение вероятности (P) существования рибосомы в связанном со специфической (a) и наиболее конкурентоспособными неспецифическими ($b, в$) для считываемого кодона тРНК в зависимости от времени экспонирования кодона



экспонирования кодона есть необходимое условие правильного декодирования РНК-матрицы.

Из этого следует, что должен существовать специальный механизм, обеспечивающий достаточное время экспонирования кодона, и что этот механизм есть необходимый элемент «рибосомального сита».

Несмотря на то что необходимость существования такого механизма впервые отмечается в настоящей работе, уже имеющиеся данные позволяют предположить его возможное устройство. Так, например, предложенная А. С. Спириным (¹¹, ¹²) модель смыкания — размыкания рибосомных субчастиц в рабочем цикле рибосомы (переход рибосомы из претранслокационного плотно-ассоциированного в посттранслокационное рыхло-ассоциированное состояние и обратно) прекрасно удовлетворяет требованиям, которые можно предъявить к механизму, обеспечивающему достаточное время экспонирования кодона. Во-первых, смыкание и размыкание субчастиц рибосомы создают необходимую для экспонирования последовательного ряда кодонов периодичность. Во-вторых, поскольку время экспонирования кодона, по-видимому, тождественно времени нахождения рибосомы в рыхло-ассоциированном состоянии, достаточное по величине и постоянству его значение может быть обеспечено, если переход рибосомы из рыхло-ассоциированного (р.а.) в плотно-ассоциированное (п.а.) состояние и обратно является равновесным. В этом случае р.а.—п.а.-переход характеризуется определенной константой равновесия K_p , связанной с временами нахождения рибосомы в р.а.- и п.а.-состояниях отношением $K_p = T_{п.а.} / T_{р.а.}$. Возможный периодический сдвиг константы равновесия р.а.—п.а.-перехода факторами элонгации и ГТФ не затрагивает саму идею о равновесном характере смыкания — размыкания субчастиц рибосомы и связанную с ней возможность обеспечения достаточного по величине и постоянству значения времени экспонирования кодона.

Как было показано А. С. Спириным (¹³, ¹⁴), факторы, индуцирующие ошибки кодирования в бесклеточной системе синтеза белка, увеличивают стабильность ассоциации объединенных в рибосому рибосомальных субчастиц. В рамках развиваемой модели это означает, что указанные факторы сдвигают константу равновесия р.а.—п.а. перехода в сторону р.а. состояния; при этом уменьшается время нахождения рибосомы в р.а.-состоянии,

т. е. время экспонирования кодона, что и является причиной увеличения частоты ошибок кодирования.

Таким образом, механизм «рибосомального сита» и высокая частота ошибок кодирования, как результат повреждения этого механизма, могут быть объяснены на основе простых физических представлений.

Авторы выражают глубокую благодарность А. А. Баеву, И. Б. Берсу-керу, И. А. Вайнтраубу, В. И. Иванову, В. А. Коварскому, В. И. Лиму, В. Э. Полингеру, М. Л. Рафаловичу, Ю. Б. Розенфельду, А. С. Спирину и Б. С. Цукерблату за плодотворное обсуждение и помощь в разработке модели.

Отдел генетики Академии наук МССР
Кишиневский сельскохозяйственный институт
им. М. В. Фрунзе

Поступило
29 IV 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. B. Loftfield, *Federat. Proc.*, v. 22, 644 (1963). ² J. Davies, W. Gilbert, L. Gorini, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 51, 883 (1964). ³ A. G. So, E. W. Davie, *Biochemistry*, v. 3, 1165 (1964). ⁴ S. M. Friedman, I. B. Weinstein, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 52, 988 (1964). ⁵ W. Szer, S. Ochoa, *Mol. Biol.*, v. 8, 823 (1964). ⁶ M. Grunberg-Manago, J. Dondon, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 18, 517 (1965). ⁷ Б. М. Медников, Л. М. Галимова, А. Н. Белозерский, *Биохимия*, т. 35, в. 2, 216 (1970). ⁸ L. Gorini, E. Kataja, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 51, 487 (1964). ⁹ L. Gorini, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, v. 34, 101 (1969). ¹⁰ L. Gorini, *Nature, New Biol.*, v. 234, 261 (1971). ¹¹ A. S. Spirin, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, v. 34, 197 (1969). ¹² А. С. Спирин, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, № 2, 169 (1970). ¹³ A. S. Spirin, *Proc. Symposium of Molecular Mechanisms of Antibiotic Action on Protein Biosynthesis and Membrans, Granada, Spain, 1-4 June, 1971, Amsterdam - London - N. Y.*, 1972, p. 11. ¹⁴ A. S. Spirin, *Proc. of the VII FEBS Meeting, Varna, Boulgaria*, 20-25 September, 1971, London, 1972, p. 197.