

лишь 12, определяемых изменениями трех нуклеотидов. Такое распределение согласуется как с двойным (40 кодонов), так и с тройным (60 кодонов) равномерным вырождением [13].

Итак, генетический код является *триплетным, непрерывающимся, лишенным запятых и вырожденным*. Полная расшифровка кода потребовала прямых биохимических опытов, ставших возможными лишь после раскрытия механизма биосинтеза белка.

§ 9.2. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Современная молекулярная биология белкового синтеза изложена в монографии [14] (см. также [2]). Здесь мы ограничимся краткими сведениями, уделив в последующем изложении главное внимание физическим вопросам.

Информация, содержащаяся в ДНК, передается мРНК в процессе *транскрипции*. Белок синтезируется на мРНК и, таким образом, в этом процессе реализуется информационная цепь ДНК → РНК → Белок.

Первые экспериментальные доказательства существования мРНК получили Белозерский, Спирин и их сотрудники [15, 16]. Они показали, что состав тотальной РНК бактерий коррелирует с составом их ДНК и пришли к заключению о наличии по крайней мере двух типов РНК, один из которых (большая фракция) имеет состав, не отражающий состава ДНК, а второй воспроизводит состав ДНК. В дальнейшем выяснилось, что первая фракция это рибосомальная РНК (рРНК), а вторая — мРНК. Матричная функциональность РНК следовала из опытов с растительными вирусами. Было установлено, что РНК, выделенная из ВТМ, обладает инфицирующим действием. Это значит, что молекулы вирусной РНК, попадая в клетки растения, организуют синтез новых частиц ВТМ, т. е. синтез их белков [17, 18]. Френкель-Конрат восстановил инфицирующие свойства частиц ВТМ, смешивая РНК ВТМ с белком, и получил гибридные вирусы, комбинируя РНК одного штамма ВТМ с белком другого штамма [19].

Волкин и Астрахан изучали события, происходящие в клетке *E. coli* после заражения фагом Т2. При размножении фага синтезируется некоторое количество РНК, обладающей повышенной метаболической активностью: она быстро включает Р³². Состав синтезируемой РНК сходен с составом фаговой ДНК [20, 21].

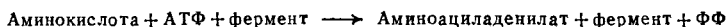
В дальнейшем мРНК была обнаружена и в незараженных бактериальных клетках [22]. Ее состав аналогичен составу бактериальной ДНК. Было показано, что мРНК непосредственно синтезируется на ДНК как на матрице. Это доказывается, во-первых, наличием специального фермента — РНК-полимеразы

[23]. Во-вторых, установлена гибридизация ДНК с комплементарной ей мРНК [24—26].

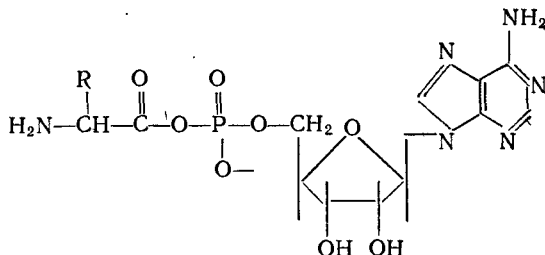
Можно подвергнуть критике утверждение о том, что эта мРНК выполняет функцию переноса генетической информации от ДНК к белку (см. [5]). Строго установлено, что лишь некоторая доля клеточной РНК действительно кодирует белок. Тем не менее вся совокупность экспериментальных данных согласуется с представлением о транскрипции и нет оснований сомневаться в его правильности.

Таким образом, мРНК — переносчик информации от ДНК к *рибосомам*, т. е. синтезирующему белок аппарату клеток. мРНК обеспечивает программу биосинтеза. Но для биосинтеза необходимы аминокислоты и реализация надлежащих термодинамических и кинетических условий.

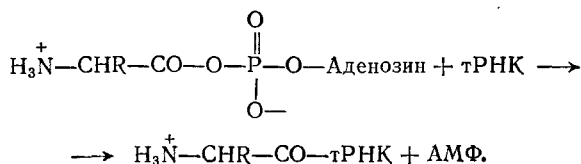
Аминокислоты фигурируют в клетке в свободном виде. Их прямая поликонденсация является эндергоническим процессом и сопровождается увеличением свободной энергии примерно на 3 ккал/моль при образовании пептидной связи. В клетке поликонденсация аминокислот сопряжена с экзергонической реакцией дефосфорилирования АТФ (см. стр. 103). Аминокислота вступает в реакцию биосинтеза в активированной форме [26—28]:



(ФФ — пирофосфат) Аминоациладенилат представляет собой активированную аминокислоту. Его строение



Фермент аминоксил — тРНК-синтетаза бифункционален. Он катализирует реакцию образования аминоксиладенилата и перенос активированной аминокислоты на конец молекулы-адаптора тРНК. Схема этой второй реакции записывается следующим образом:



Энергия, необходимая для биосинтеза, запасается в химической связи между аминокислотой и тРНК.

Для каждой аминокислоты существует по крайней мере одна специфическая тРНК. Таким образом, число различных тРНК должно быть не менее 20 и соответственно должно существовать не менее 20 различных аминоацилсинтетаз. В действительности число тРНК больше 20. Относительно ферментов это еще не установлено.

Биосинтез белка происходит на рибосомах. Рибосомы представляют собой нуклеопротеидные частицы, состоящие из белков и рибосомальной РНК (рРНК). В растущей клетке *E. coli* содержится примерно 15 000 рибосом с молекулярным весом около $3 \cdot 10^6$. Они составляют до 0,25 всей массы клетки. Рибосомы обеспечивают надлежащее взаимодействие мРНК с комплексом аминокислоты с тРНК. В этом смысле рибосома подобна ферменту.

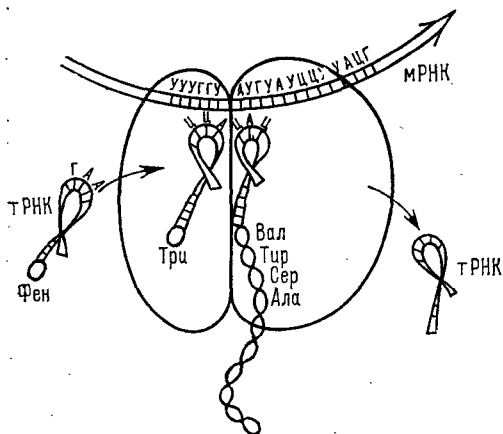


Рис. 9.4. Схема присоединения АК~тРНК к мРНК с участием рибосомы.

Рибосома присоединяется к 5'-концу мРНК, кодирующему начало полипептидной цепи — ее N-конец. Рибосома движется вдоль цепи мРНК, «читая текст» таким образом, что кодоны в комплексе мРНК — рибосома последовательно присоединяют АК ~ тРНК. тРНК, несущая аминокислоту, комплементарно взаимодействует с кодоном мРНК своим *антикодоном*. Специфическая для данной аминокислоты тРНК содержит антикодон — триплет, комплементарный кодону мРНК. В данной рибосоме, в данном локусе мРНК происходит последовательное присоединение двух АК ~ тРНК к n -му и $(n + 1)$ -му кодонам мРНК. При этом образуется пептидная связь между n -й и $(n + 1)$ -й аминокислотами, n -я тРНК отделяется и рибосома, несущая $(n + 1)$ -ю тРНК с присоединенной к ней растущей полипептидной цепью, перемещается вдоль мРНК на один кодон. В новом положении рибосома взаимодействует уже с $(n + 1)$ -м и $(n + 2)$ -м кодонами мРНК. Этот процесс изображен схематически на рис. 9.4. Вдоль одной цепи мРНК перемещается не одна, а ряд рибосом, на каждой из которых растет своя белковая цепь. Система мРНК — рибосомы, похожая на нитку с бу-

сами, называется *полисомой*. Таким образом, на одной цепи мРНК синтезируется ряд одинаковых белковых цепей. Общая схема синтеза белка представлена на рис. 9.5.

Образование пептидной связи требует участия макроэргических молекул ГТФ.

Таким образом, белок синтезируется *de novo* из аминокислот, а не путем сборки заранее изготовленных полипептидных блоков. Описанная последовательность событий при биосинтезе достаточно сложна, но характеризуется едиными принципами.

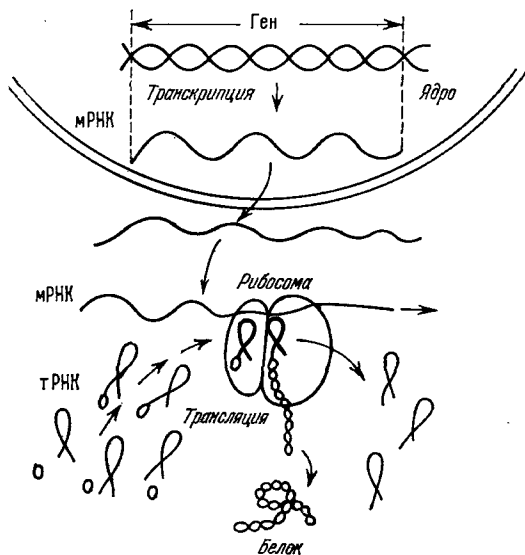


Рис. 9.5. Общая схема синтеза белка.

Четыре типа нуклеиновых кислот участвуют в биосинтезе — ДНК, мРНК, рРНК и тРНК. Функции их различны, но структурные особенности имеют много общего. В биосинтезе вновь реализуется фундаментальный для биологии и биофизики принцип структурного соответствия, комплементарности взаимодействующих молекул. Комплементарны две цепи в двойной спирали ДНК, цепь ДНК и цепь мРНК, антикодоны тРНК и кодоны мРНК. Комплементарны ДНК и тРНК, ДНК и рРНК, так как эти РНК также синтезируются на ДНК как на матрице. В этом смысле ДНК содержит гены двух типов — структурные гены, ответственные за синтез мРНК и соответствующих белков, и гены, ответственные за синтез тРНК и рРНК.

Взаимодействия между комплементарными молекулами — слабые взаимодействия. Но сложная игра этих слабых сил

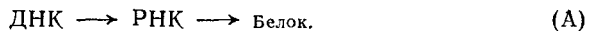
приводит к образованию сильных химических пептидных связей.

Биосинтез белка — матричный синтез. Здесь мы встречаемся с двумя типами чтения линейной матрицы. Синтез мРНК, тРНК и рРНК на ДНК, подобно редупликации ДНК, происходит путем непосредственного роста новой цепи вдоль исходной цепи ДНК с участием фермента РНК-полимеразы, молекула которой перемещается вдоль исходной матрицы. Синтез белковой цепи более сложен, в нем участвуют молекулы тРНК, а вдоль матрицы перемещаются рибосомы. Сама белковая цепь не находится в комплементарном соответствии с мРНК. Здесь происходит не транскрипция нуклеотидного текста ДНК в текст мРНК, а *трансляция* нуклеотидного текста в аминокислотный.

Все эти процессы требуют затраты энергии, расходуемой прежде всего на образование химических связей — пептидных и межнуклеотидных. В то же время перемещение РНК-полимеразы вдоль цепи ДНК или перемещение рибосомы вдоль цепи мРНК — механические процессы, в которых химическая энергия превращается в механическую работу. Источником энергии для всех этих процессов служат макроэргические нуклеозидтрифосфаты.

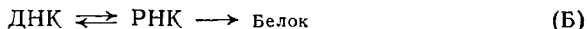
Исследование биосинтеза белка выдвигает ряд физических проблем. Необходимо построить теорию матричного синтеза, необходимо понять структурные и динамические особенности РНК-полимеразы, рибосом и ферментов, участвующих в биосинтезе. Необходимо исследовать структурные основы биоэнергетических процессов, определяющих биосинтез.

Новые задачи возникают в связи с открытием синтеза ДНК на РНК. «Центральная догма» молекулярной биологии выражается схемой (см. стр. 560)

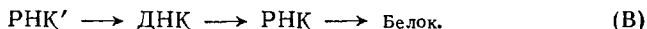


В действительности это не «догма», а закон природы. Однако у некоторых онкогенных вирусов была установлена передача информации от РНК к ДНК (см. [29—32]). Это означает существование РНК-зависимой ДНК-полимеразы. ДНК из зараженного вирусом клеток гибридизуется с вирусной РНК. По-видимому, в системе действует несколько ферментов — «обратных транскриптаз». Позднее РНК-зависимая ДНК-полимераза была открыта и в неинфицированных клетках мыши и человека [33]. Этот фермент может копировать синтетические матрицы РНК — РНК и РНК — ДНК. Еще в 1960 г. Гершензон обнаружил, что вирус ДНК-типа, вызывающий ядерный полиэдроз у насекомых, создает в клетках хозяина мРНК. Инъекция этой мРНК здоровым насекомым вновь вызывает полиэдроз (см. [34]). Все пере-

численные факты не нарушают «догму», но требуют ее дополнения. Вместо схемы А следует пользоваться схемой



или



Основное положение молекулярной биологии, согласно которому происходит передача информации от нуклеиновой кислоты к белку, но не обратно, естественно, остается справедливым. Нуклеиновые кислоты обладают «законодательной», а белки «исполнительной» функцией. Причины этого подробно рассмотрены Эйгеном [57].

§ 9.3. ТРАНСКРИПЦИЯ

Синтез РНК на матрице ДНК происходит с помощью РНК-полимеразы. Большинство исследований проведено на РНК-полимеразе из *E. coli* или из бактерии *Azotobacter vinelandii*. Эти ферменты являются своего рода молекулярными машинами — они имеют сложную четвертичную структуру и выполняют ряд функций: узнавание начального локуса синтеза и специфическое связывание в этом локусе ДНК, инициацию синтеза РНК (образование первой межнуклеотидной связи), непосредственно синтез РНК и терминацию — обрыв синтезируемой цепи РНК в конце гена или линейной последовательности генов (при синтезе полицистронной РНК) и «сваливание» фермента с матрицы.

При низких ионных силах РНК-полимеразы является димерным ферментом с молекулярным весом, несколько меньшим 10^6 и константой седиментации 23 S. При ионных силах, больших 0,1 M, фермент обратимо распадается на два мономера; $21\text{ S} \rightleftharpoons 2 \cdot 13\text{ S}$. Показано, что мономер 13 S является ферментативно активной формой [35], но относительно димера 21 S мнения расходятся (см. [14]).

Мономерный фермент 13 S в свою очередь состоит из субъединиц: двух больших субъединиц β и β' (м.в. 150 000 и 165 000 соответственно), двух одинаковых меньших субъединиц α (м.в. каждой около 40 000), и так называемого σ -фактора (м.в. 80 000). Таким образом, РНК-полимераза 13 S может быть символически представлена в виде $\sigma\alpha_2\beta\beta'$ [36].

Вопрос о роли субъединиц не решен, но известно, что σ -фактор обеспечивает специфическое «считывание» определенной системы генов. Если от РНК-полимеразы отделить σ -фактор, то эффективность транскрипции так называемых предранних генов фага T4 понижается на два порядка, тогда как на неспецифической для этого фермента матрице (тимусной ДНК) влияние σ -фактора незначительно. В самом синтезе РНК σ -фактор не