

Тем самым, нитрит превращает Ц в У, Г в ксантин и А — в гипоксантин. После репликации ксантин и гипоксантин замещаются на Г. Следовательно, происходят замены Ц → У и А → Г. 64 триплетных кодона можно представить восьмью октетами (Виттман). На рис. 8.2 изображены эти октеты, стрелками показаны нитритные точечные мутации. Наблюдаемые замещения в белке вируса

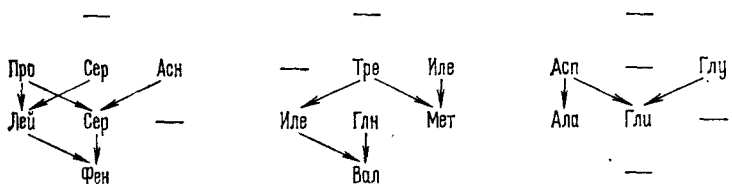


Рис. 8.3. Отнесение аминокислотных остатков к октетам на основании нитритных мутаций ВТМ

табачной мозаики (ВТМ) располагаются по тем же октетам. Виттман установил, что по крайней мере Сер или Иле (рис. 8.3) должны кодироваться несколькими триплетами, т. е. код вырожден. Эти данные одновременно показывают, что большая часть замещений в белке происходит в результате замены одного нуклеотида в кодоне.

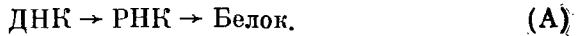
В дальнейшем эти положения были многократно подтверждены. Генетический код является триплетным, неперекрывающимся, лишенным запятых и вырожденным. Код универсален для всех организмов, начиная с вирусов и кончая человеком. (Впрочем, недавно установлено, что при синтезе цитохромоксидазы в митохондриях код несколько отличен от универсального — см. с. 279.) Полная расшифровка кода потребовала прямых биохимических опытов, ставших возможными лишь в результате раскрытия механизма биосинтеза белка.

§ 8.2. Биосинтез белка

Само существование фиксированной первичной структуры у белковой цепи доказывает, что в клетке должна быть заложена программа построения этой структуры. «Текст» не может возникнуть в результате случайных встреч аминокислот — подобно типографскому тексту он должен «набираться» на некоторой матрице. Это понимал уже Кольцов задолго до открытия роли нуклеиновых кислот. Он считал, что роль матрицы, ответственной за синтез белка, играет также белок. Сейчас мы знаем, что матрицами служат молекулы ДНК и РНК. Для «набора текста» необходим генетический код. Матричный принцип биосинтеза белка является основным для молекулярной биологии и молекулярной биофизики.

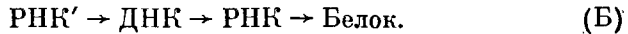
Информация, содержащаяся в генах, т. е. в ДНК, передается мРНК в процессе *транскрипции*. Синтез белка происходит

именно на мРНК. Так называемая «центральная догма» молекулярной биологии выражается схемой передачи генетической информации



Информация никогда не может быть передана от белка к нуклеиновой кислоте.

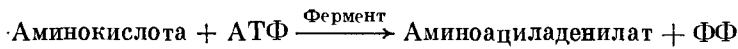
В 1970 г. была открыта *обратная транскрипция* — передача генетической информации от РНК к ДНК (Темин, Балтимор)



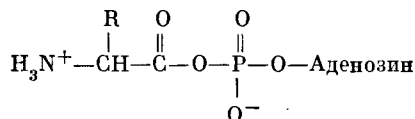
Существование обратной транскрипции (см. § 8.3) никак не противоречит «центральной догме». В действительности это, конечно, не догма, а закон природы.

Матричная, или информационная, РНК переносит генетическую информацию от *хромосом*, в которых она хранится, к *рибосомам*, на которых и реализуется биосинтез. Для биосинтеза необходим исходный материал — аминокислоты — и выполнение надлежащих термодинамических и кинетических условий.

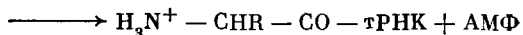
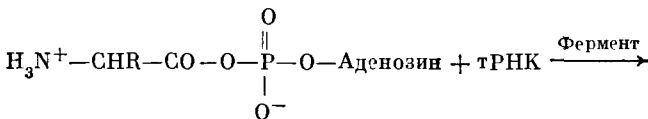
Аминокислоты фигурируют в клетке в свободном виде. Их прямая поликонденсация является эндергоническим процессом — она сопровождается увеличением свободной энергии примерно на 12 кДж/моль при образовании пептидной связи. В клетке поликонденсация аминокислот сопряжена с экзергонической реакцией дефосфорилирования АТФ (см. с. 40). Аминокислота вступает в реакцию биосинтеза в активированной форме:



(ФФ — пирофосфат). Аминоациладенилат, в котором аминокислота активирована, имеет строение



Фермент *аминоацил-тРНК-синтетаза* катализирует и реакцию образования аминоациладенилата, и перенос активированной таким образом аминокислоты на конец молекулы-адаптора тРНК. Схема этой второй реакции имеет вид



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

Для каждой аминокислоты существует одна или несколько специфических тРНК (см. § 8.4).

Биосинтез белка происходит на рибосомах. Рибосомы представляют собой нуклеопротеидные частицы, состоящие из белков и рибосомальных РНК (рРНК). Рибосомы обеспечивают надлежащее взаимодействие мРНК с тРНК, несущими аминокислоты, и поликонденсацию аминокислот в полипептидную цепь. Организующая роль рибосомы подобна ферментативной (см. § 8.5).

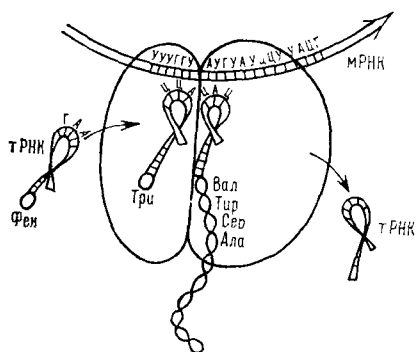


Рис. 8.4. Схема присоединения АК — тРНК к мРНК в рибосоме

Рибосома присоединяется к 5'-концу мРНК, кодирующему N-конец полипептидной цепи. Рибосома движется вдоль цепи мРНК, «читая текст» кодон за кодоном таким образом, что кодоны в комплексе мРНК — рибосома последовательно присоединяют тРНК, связанные с аминокислотами (тРНК — АК). Каждая тРНК, несущая аминокислоту, комплементарно взаимодействует с кодоном мРНК своим антикодомом. Антикодон — триплет, комплементарный кодону мРНК. Схема процесса показана на рис. 8.4. В данной рибосоме происходит последовательное присоединение двух тРНК — АК к n -му и $(n + 1)$ -му кодонам мРНК. Образуется пептидная связь между соответствующими аминокислотами, растущая белковая цепь переносится с n -й тРНК — АК на $(n + 1)$ -ю, n -я тРНК отделяется и рибосома, несущая $(n + 1)$ -ю тРНК с присоединенной к ней растущей цепью, перемещается на один кодон. В новом положении рибосома взаимодействует уже с $(n + 1)$ -м и $(n + 2)$ -м кодонами мРНК. 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 бусами, называется *полисомой*. Таким образом, на одной цепи мРНК синтезируется ряд одинаковых белковых цепей. Синтез белковой цепи на полисоме есть *трансляция* — перевод нуклеотидного текста в аминокислотный, происходящий с помощью генетического кода, т. е. кодоно-аминокислотного словаря. Общая схема синтеза белка показана на рис. 8.5.

Таким образом, белковая цепь синтезируется *de novo* из аминокислот, а не из заранее существующих полипептидных блоков. Далее из цепи (или из нескольких цепей) собирается биологически функциональная молекула белка.

Описанная последовательность событий при биосинтезе сложна, но все ее этапы характеризуются единым принципом, лежащим в основе молекулярной биофизики. Этот принцип — *молеку-*

лярное узнавание, реализуемое посредством слабых взаимодействий (см. с. 58). В биосинтезе участвуют четыре типа нуклеиновых кислот — ДНК, мРНК, рРНК и тРНК. «Узнают» друг друга нуклеотиды комплементарных цепей ДНК, нуклеотиды

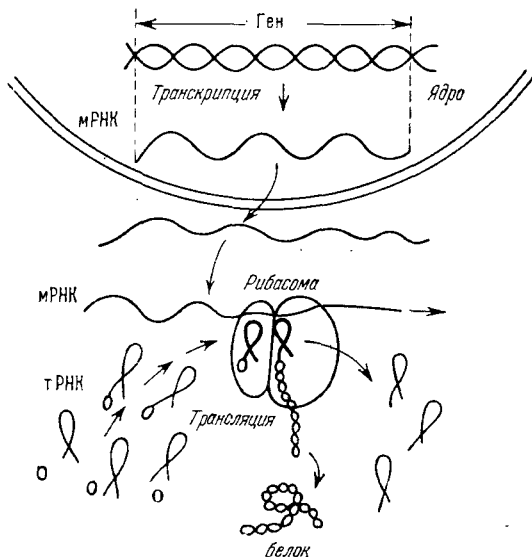


Рис. 8.5. Общая схема синтеза белка

ДНК и мРНК, кодоны мРНК и антикодоны тРНК. Узнавание реализуется и при взаимодействиях нуклеиновых кислот с ферментами и рибосомами.

Таблица 8.1. Константы ассоциации K (моль⁻¹) при спаривании оснований в неполярных растворителях C_6H_6 и CCl_4 при 25 °C

	У	А	Ц	Г
У	15 45	550	50	$<10^3$
А	150	8 22	50	$<10^3$
Ц	<28	<28	28 50	$>10^3$
Г	$<1,12 \cdot 10^3$	$<1,2 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^3 \sim 10^3$

Исследовались 2', 3', 5'-О-замещенные рибонуклеозиды; прямой шрифт — значения K в C_6H_6 , курсив — в CCl_4 .

Точность узнавания азотистых оснований демонстрируется табл. 8.1. Комплементарные пары АУ и ГЦ оказываются действительно наиболее прочными; так, АУ значительно прочнее АА или УУ. Однако возможно образование и некомплементар-

ных пар, что и является одной из важнейших причин возникновения мутаций.

Изучение ассоциации олигонуклеотидов показало, что наиболее благоприятно для биологической функции спаривание триплетов. Дублеты обладают слишком низкими значениями K , квартеты дают, напротив, слишком сильное связывание. Время жизни пары кодон — антикодон не должно превышать нескольких миллисекунд, так как в противном случае оно будет лимитировать скорость работы биосинтетической системы.

Таким образом, сложная игра слабых сил приводит к образованию сильных химических пептидных связей. Образование химических связей и механические процессы — перемещение фермента РНК-полимеразы вдоль цепи ДНК (см. § 8.3), работа рибосомы и ее перемещение вдоль цепи мРНК (см. § 8.5) требуют затраты энергии. Источниками энергии для этих процессов служат макроэргические нуклеозидтрифосфаты АТФ и ГТФ.

Далее стадии биосинтеза белка и их участники рассматриваются более подробно.

§ 8.3. Транскрипция и обратная транскрипция

Транскрипция текста ДНК в текст РНК, т. е. синтез РНК на матрице ДНК, происходит с помощью РНК-полимеразы. Транскрибируется текст лишь одной из двух цепей, образующих двойную спираль ДНК. РНК-полимераза имеет сложную структуру. Этот фермент выполняет ряд функций: узнавание начального локуса синтеза и специфическое связывание ДНК в этом локусе, инициацию синтеза РНК, синтез РНК, терминацию синтезируемой цепи и уход фермента с матрицы.

При малых ионных силах РНК-полимераза — димер с м. м. около 10^6 и константой седиментации 23 S. При ионных силах, больших 0,1 M, фермент обратимо распадается на два мономера 13 S. Мономер 13 S состоит из четырех субъединиц: β (м. м. 15 000), β' (165 000), двух α (по 40 000) и σ -фактора (80 000). Сложное строение полимеразы связано с многообразием функций этого фермента.

РНК-полимераза более активна с двуспиральной, чем с однонитчатой ДНК. Транскрипция *in vivo* происходит с двуспиральной ДНК, хотя, как уже сказано, «считывается» одна цепь. Соответственно в точке роста цепи РНК происходит локальное расплетание двойной спирали. С помощью формальдегидного метода, позволяющего обнаруживать дефекты в двойной спирали ДНК, действительно было обнаружено ее расплетание при взаимодействии с ферментом. Скорости синтеза РНК *in vivo* и в оптимальных условиях *in vitro* близки и составляют 20—30 нуклеотидов в секунду.

Таким образом, при транскрипции происходит конформационное превращение ДНК — расплетание. РНК-полимераза располагается на ДНК очень редко и эти превращения захватывают лишь малую часть длинной двойной спирали. Можно, однако,