

цательные максимумы при 296 нм ($\Delta\epsilon = -0,35$), 233 нм ($\Delta\epsilon = -1,0$), 210 нм ($\Delta\epsilon \sim -5,0$). Полосы эти конформационно чувствительны.

Исследование миграции энергии между люминесцирующим основанием, находящимся в антикодиновой петле молекулы Фен — тРНК, и хромофорами (акридиновые красители), ковалентно присоединенными к акцепторному концу, позволило оценить расстояние между ними в согласии со структурными данными.

§ 8.5. Трансляция

Трансляция, перевод полинуклеотидного текста ДНК и мРНК в аминокислотный, белковый текст происходит в комплексах рибосом с полирибонуклеотидными цепями, т. е. в полисомах.

Рибосомы наблюдаются с помощью электронного микроскопа (рис. 8.10) как округлые гранулы диаметром 15—25 нм. Характеристики рибосом приведены в табл. 8.2.

Рибосомы эукариот (клеток, содержащих ядра) характеризуются большим значением $S_{20,w}^0$ (80 S, а не 70 S), м. м. $(4,1-4,7) \cdot 10^6$ и несколько большими размерами (сухой объем $5 \cdot 10^3$ нм³). 70 S-рибосомы состоят из двух субъединиц 30 S и 50 S, на которые они распадаются при уменьшении концентрации двухвалентных ионов (Mg^{2+}) или при увеличении концентрации одновалентных ионов. М. м. 50 S-частиц $1,8 \cdot 10^6$, 30 S-частиц $(0,7-1,0) \cdot 10^6$.

Рибосомальные РНК составляют примерно 65% сухого веса рибосом, белки — 35%. Эти РНК разделяются на 3 класса:

23—28 S, м. м. $\geq 1 \cdot 10^6$; 16—18 S, м. м. $< 1 \cdot 10^6$, и низкомолекулярные РНК — 5 S, м. м. $\sim 40\,000$. Вероятно, молекулы белка взаимодействуют с неспирализованными участками рРНК, рибонуклеотейдный комплекс сворачивается в компактную структуру рибосомной субъединицы. В 70 S-рибосоме содержится примерно 65 полипептидных цепей со средней молекулярной массой 65 000. В 30 S-частицах имеется 19—20 сортов белков, в 50 S-частицах их более 50.

Полная «разборка» рибосом и их реконструкция из полученных белков и рРНК была осуществлена Номурой (1966—1969). Роль рРНК специфична, но не абсолютна — функциональные 30 S-частицы получаются из 16 S-рРНК одного вида бактерий и рибосомных 30 S-белков другого вида. Было выделено 19 бел-

Т а б л и ц а 8.2. Физические свойства рибосом *E. coli*

Константа седimentации $S_{20,w}^0$ (сведберги)	69,1—70,5
Характеристическая вязкость $[\eta]$, см ³ /г	6,1—6,8
Коэффициент поступательной диффузии $D_{20,w}^0 \cdot 10^7$	1,83
Удельный объем, см ³ /г	0,64—0,60
Молекулярная масса	~3·10 ⁶
Размеры в высушенном состоянии, нм	~20×17×17
Объем, нм ³	~3·10 ³
Размеры в водной среде, нм	~30×30×20
Объем, нм ³	~(3÷10)·10 ³
Количество удерживаемой воды, г/г	0,9

ков. Отсутствие любого из них сказывается на функции 30 S-частицы. Все белки действуют согласованно, что необходимо и для *самосборки*. Кинетика самосборки отвечает реакции первого порядка, что означает наличие медленной, лимитирующей процесс перестройки некоторой промежуточной системы. Сильная зависимость скорости самосборки от температуры показывает, что для этой перестройки требуется свободная энергия около 160 кДж/моль рибосом. Самосборка рибосом из всех компонент *in vitro* происходит примерно за 5 мин.

Электронно-микроскопические исследования дают богатую информацию о структуре рибосом (Васильев и др.). На рис. 8.10 показана одна из полученных картин. Оказалось, что имеется четыре типа рибосом — они различаются у эубактерий, архебактерий, эукариот и у группы бактерий, зависящих от серы, — у эоцитов. На рис. 8.11 показаны соответствующие схемы строения. Эти особенности позволяют рассмотреть эволюцию рибосом.

Рибосома выполняет несколько задач: трансляцию, т. е. перевод генетической информации в мРНК на язык первичной структуры белка, изготовление белка и его секрецию. Рибосомы всех организмов подразделяются на две функциональные области — домен трансляции и домен секреции. Для работы рибосомы требуются так называемые факторы элонгации EF—Tu и



Рис. 8.11. Типы рибосом: А — эубактерия, В — архебактерия, В — эоцит, Г — эукариот. Увеличение 250 000 (Лэйк)

EF—G. В трансляционном домене содержатся центры связывания фактора инициации цепи, расположенные в щели малой субъединицы, центры связывания мРНК — также в малой субъединице, и, кроме того, пептидилтрансфераза и 5 S РНК, расположенные в большой субъединице, и белок, — способствующие транзиции, зависящей от ГТФ. В результате электронно-микроскопических исследований с использованием антител к синтезируемому белку не только установлена структура рибосом, но показано, что этот белок покидает рибосому в несвернутой, неглобулярной форме. Иначе быть не может, так как лишь при этих условиях рибосома работает как универсальная машина, се-

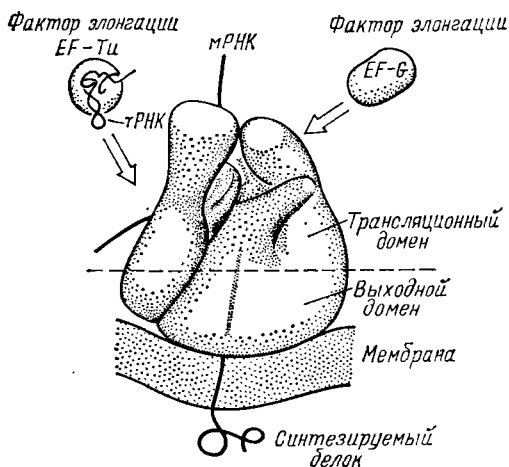
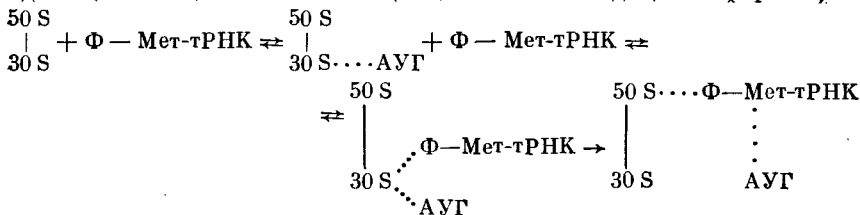


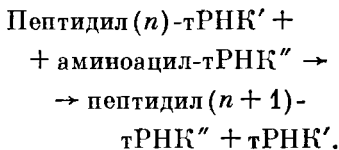
Рис. 8.12. Схема строения рибосомы (Лэйк)

кретирующая белок независимо от его структуры. Современная схема строения рибосомы показана на рис. 8.12. Рибосома прикрепляется к мембране эндоплазматического ретикулума. Для работы рибосом нужны двухвалентные ионы (Mg^{2+}). Каждая рибосома связывается лишь с одной полинуклеотидной цепью. В тройном комплексе рибосома — мРНК — аминоацил-тРНК последняя связывается своим антикодоном с кодоном мРНК.

Трансляция начинается с инициации, т. е. с синтеза первой пептидной связи. В инициацию вовлекаются одновременно два комплекса аминоацил-тРНК. Один из них является начальным. Установлено, что это всегда N-формилметионил-тРНК, обладающий повышенным сродством к пептидил-тРНК-связывающему участку рибосомы на 50 S-субъединице. Иницирующим кодоном мРНК служит АУГ, расположенный у 5'-конца полинуклеотида (см. далее, с. 278). По-видимому, этот кодон предварительно связывается аминоацил-тРНК-связывающим участком 30 S-субъединицы. Общая схема инициации имеет вид (Ф — формил)



Далее происходит последовательная поликонденсация аминокислот. На протяжении всей трансляции растущий полипептид удерживается на рибосоме. Присоединение каждого следующего аминокислота идет на С-конце полипептида. Транспортная РНК, принеся очередную аминокислоту, остается с ним связанной. Этот аминокислотный остаток пристраивается путем замещения тРНК на комплексе аминокислот-тРНК. Получаем схему



Этот процесс повторяется многократно в каждой рибосоме. Спирин предложил наглядную модель работы рибосомы (рис. 8.13). Предполагается, что аминокислот-тРНК-связывающий и пептидил-тРНК-связывающий участки локализованы на различных субъединицах, соответ-

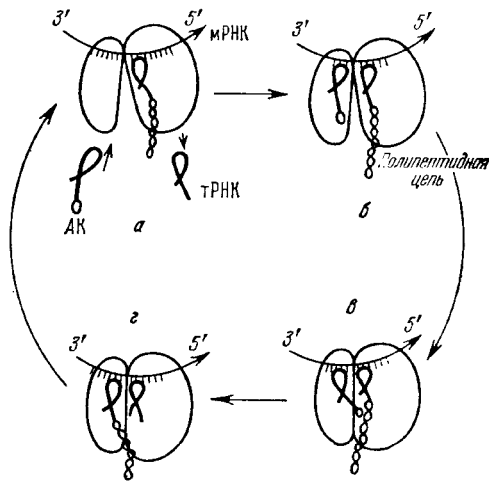


Рис. 8.13. Схема рабочего цикла рибосомы по Спирину

ственно на 30 S и 50 S (рис. 8.13, б). На 50 S-частице находится пептидилтрансферазный центр, обеспечивающий перенос пептидила. Происходит периодическое размыкание и смыкание рибосомы. На рис. 8.13, в рибосома сомкнута, аминокислотный конец комплекса аминокислот-тРНК располагается вплотную к этерифицированной карбоксилу пептидила. Смыкание субъединиц рибосомы (б → в) сопровождается образованием пептидной связи. Карбоксил переносится на аминогруппу комплекса аминокислот-тРНК и на 50 S-частице остается деацелированная тРНК (рис. 8.13, г). Затем происходит транслокация — тРНК переходит от пептидил-тРНК с 30 S- на 50 S-частицу, увлекая за собой связанный с ней кодон мРНК и вытесняя деацелированную тРНК из пептидил-тРНК-связывающего участка. Рибосома вновь размыкается (рис. 8.13, а). Затем на расположенный в 30 S-частице новый кодон поступает новый комплекс аминокислот-тРНК и цикл начинается сначала. Периодическое размыкание и смыкание рибосомы есть, по Спирину, приводной механизм, обеспечивающий пространственные перемещения тРНК и мРНК в процессе трансляции. Периодическое изменение четвертичной структуры рибосомы преобразуется в поступательное движение цепи мРНК. Это механохимический процесс — механическая работа совершается за счет энергии, выделяемой при связывании слабыми силами и за счет химической энергии ГТФ.

Смыкание рибосомы индуцируется поступлением в рибосому аминоксил-тРНК, размыкание требует энергии ГТФ. Гаврилова и Спирин показали, однако, что рибосома может работать *in vitro* и без ГТФ. По-видимому, способность к такой *неэнзиматической трансляции* заложена в самой структурной организации рибосомы.

Количественная физическая теория всех этих событий пока не построена. Экспериментально показано, что трансляция зависит от конформации мРНК и что активный рибосомный комплекс действительно испытывает при трансляции периодические конформационные изменения.

Как уже говорилось, одна цепь мРНК сочетается с рядом рибосом, образуя полисому. Размеры полисомы зависят от длины цепей мРНК. Одна рибосома приходится примерно на 80—90 нуклеотидов цепи. При синтезе белков, содержащих примерно 150 аминокислотных остатков, в полисоме имеется 4—6 рибосом, при синтезе более длинных белковых цепей — 12—20 и более рибосом. Одна цепь мРНК обеспечивает, таким образом, синтез ряда белковых цепей. Матричная РНК в дальнейшем деградирует под действием фермента *экзонуклеазы*, еще недостаточно изученного. Рибосома, присоединяясь к 5'-концу мРНК, защищает его от деградации. При перемещении рибосомы 5'-конечный участок либо деградирует, либо присоединяет новую рибосому. Деградировавший конец уже не может присоединять рибосому, но ранее присоединенные рибосомы продолжают двигаться, синтезируя белковые цепи. Время, необходимое для синтеза цепи, содержащей 400 остатков, составляет примерно 30 с. Время τ прохождения рибосомой среднего расстояния δ между двумя рибосомами в полисоме составляет около 3 с, что отвечает линейной скорости порядка 10^{-6} м/с.

Математическая модель, описывающая эти процессы, позволяет вычислить распределение размеров мРНК в согласии с опытом.

В целом биосинтез белка определяется скоростями транскрипции и трансляции. По-видимому, эти скорости соизмеримы, так как при мечении мРНК радиоактивными атомами наблюдается корреляция между длинами меченых мРНК и полисом и свободные меченые мРНК отсутствуют.

§ 8.6. Расшифровка генетического кода и его смысл

Прямой путь к решению проблемы был проложен Ниренбергом и Маттеи (1961). При введении синтетических полирибонуклеотидов в бесклеточную систему аминокислоты включаются в полипептидную цепь. Бесклеточная система содержала рибосомы, набор тРНК, АТФ, все необходимые ферменты, но не содержала ДНК и мРНК. Система приготовлялась из разрушенных клеток *E. coli*. Центрифугированием выделялись рибосомная и надосадочная фракции. Рибосомы отмывались, надосадочная