

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА: РЕГУЛЯЦИЯ НА УРОВНЕ ТРАНСЛЯЦИИ

А. С. СПИРИН

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

PROTEIN BIOSYNTHESIS: REGULATION AT THE TRANSLATION LEVEL

A. S. SPIRIN

Three basic modes of protein biosynthesis regulation at the translation level are considered: 1) discrimination of mRNA due to differential affinity of initiating ribosomal particles for mRNAs during initiation of translation; 2) translational repression (and mRNA masking) by repressor proteins (or masking proteins, respectively); and 3) total regulation (inhibition) of initiation of translation by means of induced phosphorylation of initiation factor eIF2.

Рассмотрены три основных способа регуляции биосинтеза белка на уровне трансляции: 1) дискриминация мРНК за счет различного сродства иницирующих рибосомных частиц к мРНК при инициации трансляции; 2) трансляционная репрессия (и маскирование мРНК) белками-репрессорами (или соответственно маскирующими белками); 3) тотальная регуляция (подавление) инициации трансляции путем индуцируемого фосфорилирования фактора инициации eIF2.

www.issep.rssi.ru

ВВЕДЕНИЕ

Регуляция биосинтеза белка – принципиальный атрибут любой живой клетки. Регуляция необходима для поддержания баланса разнообразных белков в клетке или организме, для изменения этого баланса в меняющихся условиях окружающей или внутриорганизменной среды, для обеспечения смены белков в процессах клеточной дифференцировки и развития организма, для адекватного ответа на специфические внешние сигналы или неблагоприятные воздействия. Синтез белков в клетке регулируется на трех уровнях: 1) путем изменения активности генов, то есть через тотальную или избирательную модуляцию продукции мРНК на матрице ДНК (уровень транскрипции); 2) путем изменения активности мРНК в ее трансляции рибосомами (уровень трансляции); 3) путем деградации мРНК посредством ее тотального или избирательного расщепления рибонуклеазами.

В статье рассмотрена проблема регуляции биосинтеза белка на уровне трансляции. Живые клетки используют несколько различных способов или путей такой регуляции, но практически во всех случаях она осуществляется через регуляцию инициации трансляции (механизмы инициации трансляции см. [2]). Это означает, что регуляторные механизмы трансляции направлены на то, чтобы разрешить или не разрешить инициацию трансляции данной мРНК, и если разрешить, то с какой эффективностью (скоростью инициации).

Существуют три основных способа, как регулировать трансляцию. Первый способ – позитивная регуляция на основе сродства мРНК к иницирующей рибосоме и факторам инициации (дискриминация мРНК). Второй способ – негативная регуляция с помощью белков-репрессоров, которые, связываясь с мРНК, блокируют инициацию (трансляционная репрессия). Этими двумя способами регулируются индивидуальные мРНК, то есть трансляция каждой мРНК может специфически контролироваться независимо от других

мРНК клетки. Третий способ – тотальная регуляция трансляции всей совокупности мРНК клетки посредством модификации факторов инициации.

При наличии общих черт регуляции на уровне трансляции у прокариотических (бактерии) и эукариотических (животные, растения, грибы и простейшие) организмов эти два надцарства живых существ обладают также только им свойственными путями или способами регуляции, обусловленными спецификой их мРНК и их аппарата инициации трансляции. Так, тотальная регуляция за счет модификации факторов инициации характерна, по-видимому, только для эукариот. Другие особенности регуляции трансляции у прокариотических и эукариотических организмов будут указаны в дальнейшем изложении.

ДИСКРИМИНАЦИЯ мРНК

Скорость или частота инициации трансляции рибосомами может сильно различаться для разных мРНК. У прокариотических организмов это определяется тем, что иницирующие или рибосомосвязывающие участки разных мРНК (см. [2]) имеют разное сродство к рибосомам и, таким образом, с разной эффективностью связывают рибосомные частицы. На основании разницы в эффективности инициации можно говорить о «сильных» и «слабых» мРНК. На сильных мРНК инициация происходит часто, на них нанизывается много рибосом (образуются плотные полирибосомы) и соответственно продуцируется много молекул белка (рис. 1). Редкая инициация трансляции на слабых мРНК дает в результате редкую посадку рибосом на эти мРНК и, следовательно, низкую белковую продукцию.

Похожая ситуация наблюдается и в эукариотических клетках, но там дискриминация мРНК обусловлена скорее разным сродством факторов инициации, а не самих рибосом к разным 5'-проксимальным инициа-

торным структурам мРНК. Так как факторы инициации в любом случае локализуются на иницирующих малых рибосомных субчастицах, то они и определяют разную эффективность посадки рибосом на разные мРНК и, таким образом, дискриминируют их на сильные и слабые.

Различная сила мРНК в значительной мере определяет соотношение продукции различных белков в клетке. Так, структурные белки мембран, рибосомные белки, факторы элонгации, белки оболочки вирусов и другие белки, требуемые в большом количестве, кодируются сильными мРНК, а многие специализированные ферменты и регуляторные белки – слабыми мРНК. Как правило, если белок имеет четвертичную структуру, построенную из разных субъединиц в различном соотношении, то сила мРНК или ее отдельных участков (цистронов), кодирующих эти субъединицы, координирована с пропорцией субъединиц в структуре. Например, мембранный комплекс протонной АТФазы бактерий построен из трех типов субъединиц: a , b и c – в соотношении $1 : 2 : 10$ ($a_1b_2c_{10}$), и соответственно субъединица c кодируется очень сильным цистроном мРНК, субъединица a – слабым, а субъединица b – цистроном промежуточной силы. Таким образом, дискриминацию мРНК можно рассматривать как механизм конститутивного контроля надлежащего фиксированного соотношения продуктов белкового синтеза.

ТРАНСЛЯЦИОННОЕ СОПРЯЖЕНИЕ У ПРОКАРИОТ

В статье [2] отмечалось, что у прокариот одна длинная полинуклеотидная цепь мРНК может содержать несколько кодирующих последовательностей (цистронов) для различных белков и такие мРНК называются полицистронными. Пользуясь механизмом внутренней инициации, во многих случаях рибосомы могут

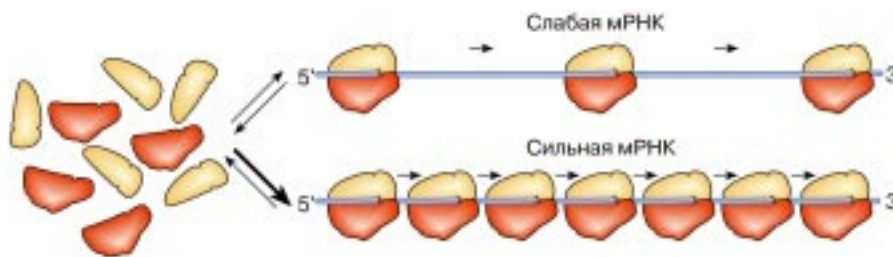


Рис. 1. Дискриминация мРНК рибосомными частицами. Различные мРНК обладают разным сродством к иницирующим рибосомным частицам. В случае слабого сродства (вверху) скорость инициации низка, вследствие чего образующиеся полирибосомы содержат немного транслирующих рибосом и соответственно продукция белка невысока. При сильном сродстве мРНК к иницирующим рибосомным частицам (внизу) скорость инициации высока, что дает в результате образование плотных полирибосом и, следовательно, высокую продукцию белка

инициировать трансляцию последовательных цистронов независимо друг от друга (рис. 2, а), и интенсивность инициации и, следовательно, продуктивность цистронов будут определяться их собственной силой (см. выше). В других случаях, однако, инициация трансляции внутренних цистронов зависит от трансляции предшествующего (5'-проксимального) цистрона: часто инициация трансляции внутреннего цистрона оказывается невозможной без трансляции предшествующего (рис. 2, б и в). Это и есть трансляционное сопряжение.

Различают два типа трансляционного сопряжения. Первый тип – когда рибосомы, транслирующие предшествующий цистрон, расплетают вторичную и/или третичную структуру мРНК, в которой участвует инициаторный участок последующего цистрона. В результате этот иницирующий участок освобождается и становится доступным для инициации свободными рибосомами (рис. 2, б). Другой тип трансляционного сопряжения – реинициация: сам по себе внутренний цистрон вообще недоступен для свободных иницирующих рибосомных частиц и его инициация может быть

осуществлена только частицами, терминировавшими на предыдущем цистроне (см. [3]) и еще не успевшими соскочить с мРНК (рис. 2, в).

ТРАНСЛЯЦИОННАЯ РЕПРЕССИЯ

Типичный механизм трансляционной репрессии состоит в том, что специальный белок, называемый репрессором, специфически связывается с участком мРНК, перекрывающимся, как правило, с участком связывания рибосомной частицы при инициации трансляции. Таким образом, связываемый белок-репрессор мешает связываться иницирующей рибосомной частице и тем самым либо уменьшает скорость инициации, либо полностью блокирует ее. Часто в месте связывания белка-репрессора имеется не очень стабильная двуспиральная структура – шпилька, которая легко расплетается иницирующей рибосомой. Белок-репрессор стабилизирует шпильку, превращая ее в плохо преодолимый барьер для иницирующей рибосомы (рис. 3).

В научной литературе описано много случаев, когда репрессором является сам белок, кодируемый данной мРНК. Другими словами, мРНК репрессируется

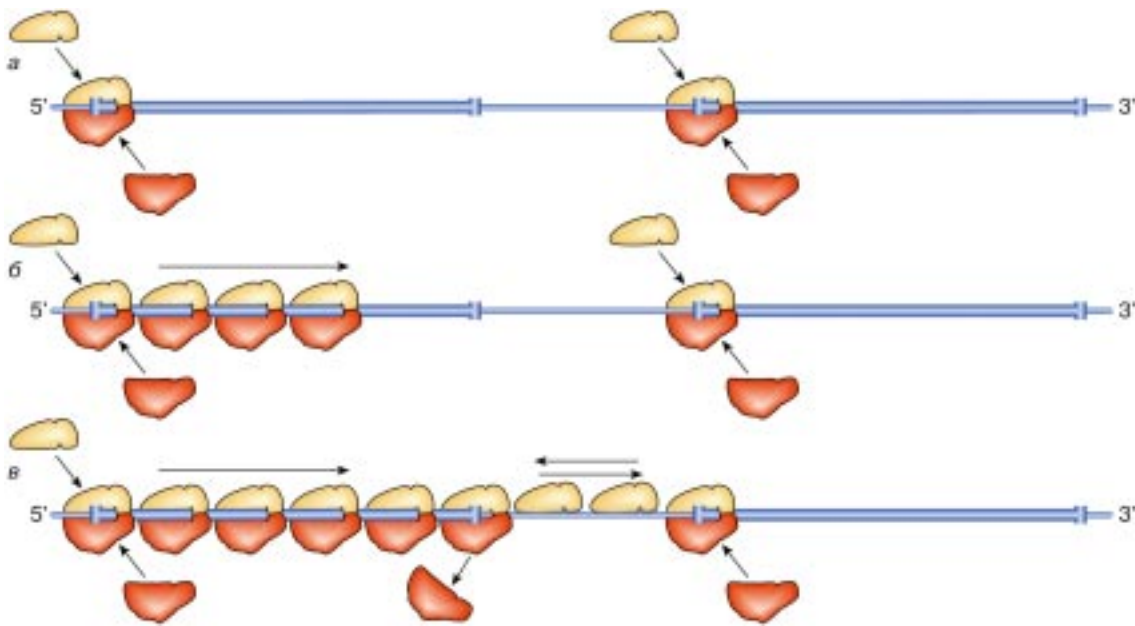


Рис. 2. Независимая и сопряженная инициация трансляции последовательных цистронов (белоккодирующих последовательностей) прокариотических мРНК: а – независимая инициация трансляции: свободные рибосомные частицы связываются с началом каждого цистрона независимо от трансляции другого цистрона; б – инициация трансляции, зависящая от трансляции предшествующего цистрона: инициаторный участок второго цистрона открывается для свободных рибосомных частиц только при трансляции первого цистрона; в – реинициация: инициаторный участок второго цистрона вообще недоступен для свободных иницирующих рибосомных частиц (30S субчастиц) и трансляцию второго цистрона иницируют лишь частицы, закончившие трансляцию первого цистрона и не успевшие диссоциировать от мРНК

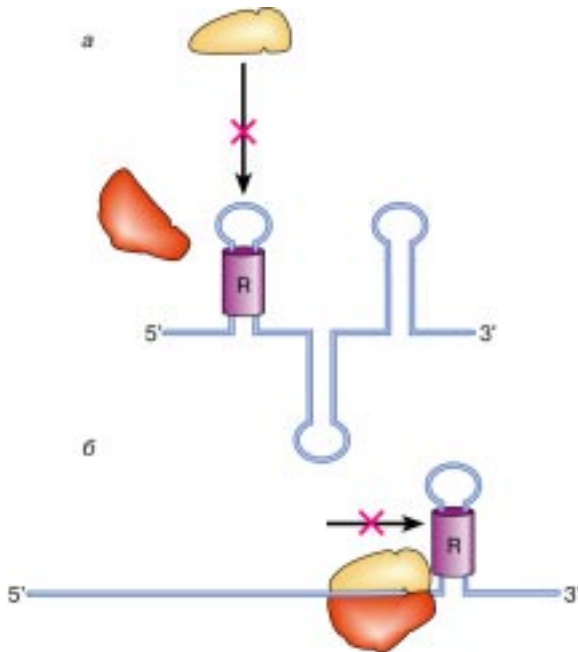


Рис. 3. Трансляционная репрессия. Белок-репрессор (R) имеет специфическое сродство к участку мРНК в районе инициации трансляции (часто к участку с нестабильной вторичной структурой) и, связываясь с ним (и стабилизируя его), создает барьер либо для посадки иницирующих рибосомных частиц (а), либо для движения рибосомы к месту инициации (б)

своим же продуктом. В результате получается регуляция по типу обратной связи: производство избыточного количества белка на данной мРНК приводит к связыванию этого белка с инициаторным участком своей мРНК и таким образом к репрессии собственного синтеза. Пример регуляции трансляции по типу обратной связи — репрессия синтеза фермента треонил-гРНК-синтетазы бактерии избыточным количеством этого фермента, связывающегося с инициаторным участком своей мРНК (подробнее см. [1]).

В других случаях репрессором является специальный белок, и его способность связываться с определенными мРНК зависит от присутствия того или иного низкомолекулярного компонента — эффектора. Яркий пример такого рода приведен в статье Л.П. Овчинникова [1]. Там описано, как в животных клетках белок-репрессор блокирует инициацию синтеза белка ферритина, а железо в качестве эффектора лишает репрессор его мРНК-связывающих свойств и дерепрессирует ферритиновую мРНК, тем самым разрешая ее трансляцию.

В целом механизмы трансляционной репрессии обеспечивают пути модуляции скоростей инициации трансляции в широких пределах либо в зависимости от

внешних сигналов (эффекторов), либо по типу обратной связи. Трансляционная репрессия используется для тонкой регуляции белкового синтеза как прокариотическими, так и эукариотическими организмами.

МАСКИРОВАНИЕ мРНК У ЭУКАРИОТ

Кроме типичной трансляционной репрессии эукариоты выработали интересный механизм маскирования мРНК, когда соответствующая мРНК становится недоступной не только для инициации трансляции, но и фактически выведена из всех других процессов ее возможных превращений или изменений — деградации нуклеазами, ферментативной модификации ее 3'-конца путем полиаденилирования. Маскирование, как и типичная трансляционная репрессия, тоже осуществляется белками и зависит от внешних сигналов (эффекторов). Маскирование и демаскирование мРНК являются особенно характерными для процессов гаметогенеза (оогенеза и сперматогенеза), раннего эмбрионального развития, клеточной дифференцировки, гормонального включения или выключения функций. Например, в оогенезе происходит запасание некоторых материнских мРНК в маскированной форме, и часть этих мРНК демаскируется в ответ на оплодотворение яйцеклетки, обеспечивая белковый синтез на самых ранних стадиях эмбриогенеза: дробления, бластулы и ранней гастролы.

Наиболее интересным моментом в маскировании мРНК является то, что маскирующий белок связывается не с 5'-проксимальным участком инициации трансляции на мРНК, а с нетранслируемым хвостом мРНК — с 3'-проксимальной некодирующей областью, так называемой 3'-UTR (3'-UnTranslated Region) или 3'-НТО (см. [1], рис. 5). В пределах 3'-НТО имеется специальная посадочная площадка для маскирующего белка — сегмент маскирования. Связывание маскирующего белка с сегментом маскирования 3'-НТО приводит не только к блокаде событий, развивающихся при 3'-конце мРНК, таких, как 3'-экзонуклеазная деградация и полиаденилирование, но и к репрессии — блокаде — инициации трансляции при 5'-конце мРНК (рис. 4).

Каким же образом воздействие на хвост мРНК может закрыть ей рот? Существуют два, необязательно взаимоисключающих объяснения этого явления. Первое состоит в допущении, что 5'- и 3'-проксимальные нетранслируемые области (5'-UTR и 3'-UTR) эукариотических мРНК пространственно сближены, образуя своего рода циклическую структуру, как показано на рис. 4. Тогда маскирующий белок, сидящий в 3'-НТО, может прямо или через сегмент маскирования блокировать участок инициации трансляции мРНК. Другое объяснение предполагает, что связывание маскирующего белка с 3'-НТО приводит к глобальной структурной пе-



Рис. 4. Маскирование мРНК у эукариот. Связывание маскирующего белка с сегментом маскирования в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) мРНК приводит к инактивации ее функций по всей длине, включая как 3'-концевую деградацию (и полиаденилирование), так и 5'-концевую инициацию трансляции

рестройке всей молекулы мРНК, делающей ее компактной и недоступной для взаимодействий с другими макромолекулами, включая рибосомные частицы, нуклеазы, ферменты полиаденилирования и деаденилирования. Действительно, маскирование требует не только посадки маскирующего белка на 3'-НТО, но и присутствия большого количества менее специфического РНК-связывающего белка на всей мРНК, с которым мРНК образует рибонуклеопротеидные комплексы, в свое время названные информосомами. Можно полагать, что маскирование мРНК есть компактизация информосом.

ТОТАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСЛЯЦИИ У ЭУКАРИОТ

Наиболее обычный путь тотальной регуляции белкового синтеза у эукариот, во всяком случае у животных и грибов, – это активация специальной фосфокиназы, которая фосфорилирует фактор инициации eIF2 (см. [2]), что приводит к подавлению инициации трансляции всех мРНК клетки. Сигналами для активации фосфокиназы в клетке являются тепловой шок и другие виды стрессовых воздействий, недостаток ростовых факторов, аминокислотное голодание, недостаток железа, вирусные инфекции. Сильное подавление синтеза белка в этих условиях есть следствие именно активации фосфокиназы и катализируемого ею фосфорилирования eIF2. Степень подавления белкового синтеза может варьировать в зависимости от уровня стресса.

Что же происходит в результате фосфорилирования eIF2? Как уже описывалось ранее (см. [2]), для связывания инициаторной аминоксил-тРНК (Met-tRNA_i) с малой рибосомной субчастицей в процессе инициации трансляции требуется eIF2 в комплексе с ГТФ (GTP); в ходе инициации ГТФ гидролизуется на ГДФ (GDP) и ортофосфат и eIF2 в комплексе с ГДФ (eIF2 : GDP) освобождается из рибосомы. На рис. 5 показано, что в норме дополнительный фактор eIF2B принимает участие в том, чтобы превратить отработанный (неактивный) eIF2 : GDP в необходимый для следующей инициации eIF2 : GTP. Этот фактор играет каталитическую роль в обмене ГДФ на ГТФ, и его в клетке мало. Когда eIF2 фосфорилируется фосфокиназой (eIF2P), он может обычным образом участвовать в инициации трансляции, но, освободившись из рибосомы с ГДФ (в форме eIF2P : GDP), он образует прочный комплекс с eIF2B (eIF2B : eIF2P : GDP) и тем самым связывает весь eIF2B клетки, лишая последнюю возможности катализировать регенерацию eIF2 : GTP из eIF2 : GDP.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Еще совсем недавно полагали, что регуляция на уровне трансляции играет лишь вспомогательную роль в общем регуляционном процессе реализации генетической информации в живой клетке. Основную роль отводили регуляции генной активности, то есть уровню транскрипции. Трансляционный контроль рассматри-

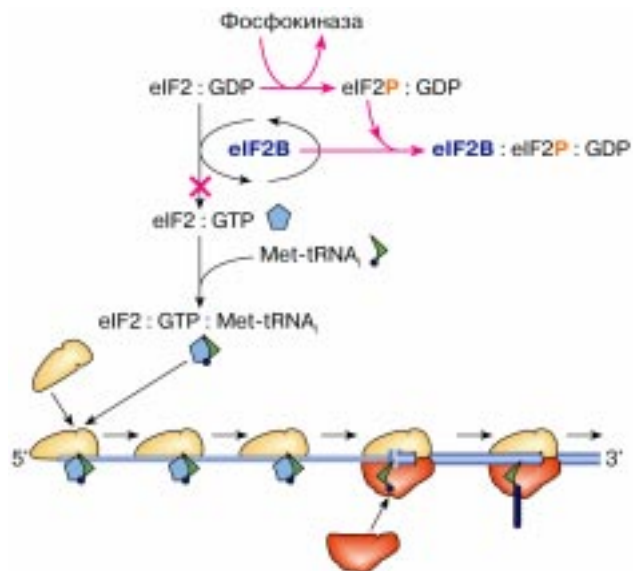


Рис. 5. Тотальная регуляция (подавление) трансляции у эукариот в результате индуцируемого фосфорилирования фактора инициации eIF2. Объяснения в тексте

вался лишь как способ тонкой подстройки биосинтеза белка к условиям внеклеточной и внутриклеточной среды. За последнее время, однако, исследователям открылась масса новых фактов, свидетельствующих о решающем вкладе трансляционной регуляции, особенно у эукариот, и в частности при действии ростовых факторов и гормонов, при смене фаз клеточного цикла, в процессах развития и клеточной дифференцировки, при старении. Не будет большим преувеличением сказать, что все развитие и активность многоклеточных организмов контролируются регуляторными механизмами на уровне трансляции, и без этих механизмов не может быть ни размножения, ни становления организма, ни поддержания его жизненных функций.

Интересно отметить, что живой мир в целом использует две стратегии регуляции биосинтеза белка. Одна базируется на немедленном использовании производимой генами мРНК и ее быстрой деградации (метаболически нестабильная мРНК), так что переключение с одной программы синтеза белка на другую осуществляется путем включения и выключения генов (уровень транскрипции). Новая мРНК сразу начинает транслироваться, а старая элиминируется деградацией. В этом случае на уровне трансляции устанавливаются фиксированные соотношения продуктивности разных мРНК и осуществляется тонкая подгонка уровня белкового продукта к потребностям клетки. В основном именно эту стратегию (транскрипция—деградация) используют прокариоты.

Альтернативная стратегия — это наработка мРНК не по потребности данного момента, а более или менее заранее, впрок. Такие метаболически стабильные мРНК необязательно сразу вступают в трансляцию, а их активность избирательно регулируется во времени и во внутриклеточном пространстве. Когда необходи-

мость в продукте трансляции исчезает, мРНК может быть инактивирована путем репрессии или маскирования. Указанная стратегия активации-инактивации мРНК типична для эукариот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Овчинников Л.П. Что и как закодировано в мРНК // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 4. С. 10–18.
2. Спири́н А.С. Биосинтез белка: Инициация трансляции // Там же. 1999. № 5. С. 2–7.
3. Спири́н А.С. Биосинтез белка: Элонгация полипептида и терминация трансляции // Там же. № 6. С. 2–7.
4. Спири́н А.С. Регуляция трансляции мРНК-связывающими факторами у высших эукариот // Успехи биол. химии. 1996. Т. 36. С. 3–48.
5. Translational Control / Ed. J.W.B. Hershey et al. Cold Spring Harbor (N.Y.): Cold Spring Harbor Labor. Press, 1996. 794 p.

Рецензент статьи А.А. Богданов

* * *

Александр Сергеевич Спири́н, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой молекулярной биологии МГУ, директор Института белка РАН, действительный член РАН и член Президиума РАН, действительный член РАЕН, Российской академии биотехнологии и многих международных и зарубежных академий и организаций. Область научных исследований — структура и функция белоксинтезирующего аппарата, регуляция биосинтеза белков, бесклеточные системы биосинтеза белков, котрансляционное сворачивание белков. Автор одного из томов (“Структура рибосомы и биосинтез белка”) трехтомного учебника для вузов “Молекулярная биология”, монографии “Рибосома” (два издания) на русском языке и трех монографий, изданных в США и Германии на английском языке, переведенных также на другие языки. Автор около 300 публикаций в российских и международных журналах.