

TWO CLASSES OF AMINOACYL-tRNA- SYNTHETASES

N. S. ENTELIS

Aminoacylation of tRNA is a key step during the process of translation of the genetic information. This reaction is performed by a family of enzymes called aminoacyl-tRNA-synthetases. The paper deals with new data on these enzymes: their partition into two classes, structure and interaction with tRNA. A hypothetical pathway of the aminoacyl-tRNA-synthetases evolution and independent origin of the two classes are discussed.

Аминоацил-тРНК-синтетазы осуществляют присоединение аминокислоты к молекуле транспортной РНК, что является ключевым моментом в реализации генетической информации. Приведены современные данные о классификации и строении этих ферментов и их взаимодействии с тРНК. Обсуждаются гипотезы о происхождении двух классов аминоацил-тРНК-сингтетаз.

© Энтелис Н.С., 1998

АМИНОАЦИЛ-тРНК-СИНТЕТАЗЫ: ДВА КЛАССА ФЕРМЕНТОВ

Н. С. ЭНТЕЛИС

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Один из центральных и самых интересных процессов, происходящих в живой клетке, — это процесс биосинтеза белка, называемый также трансляцией. В процессе биосинтеза белка осуществляется перевод (трансляция) генетической информации с языка нуклеиновых кислот, то есть последовательности нуклеотидов ДНК и РНК, на язык белков, то есть последовательности аминокислотных остатков в молекуле белка, которая и определяет все свойства и функции этой молекулы. Перевод происходит при помощи довольно простого алгоритма: трем последовательно расположенным нуклеотидам (так называемому кодону, или триплету) матричной РНК ставится в соответствие аминокислота [1]. Мы не будем обсуждать особенности генетического кода, а попытаемся коснуться механизма его реализации. Информация о последовательности аминокислот в белке закодирована в виде последовательности нуклеотидов матричной РНК (мРНК). Декодирование осуществляется при участии весьма сложного нуклеопротеидного комплекса — рибосомы — с помощью транспортных РНК (тРНК). Молекулы тРНК и служат собственно переводчиками, поскольку их антикодоновая область содержит триплет нуклеотидов, комплементарный кодону мРНК, а к аминоакцепторной части той же молекулы прикреплена аминокислота, соответствующая этому кодону. Таким образом, соответствие между триплетом нуклеотидов и аминокислотой устанавливается не во время биосинтеза белка на рибосоме, а в процессе присоединения аминокислоты к определенной молекуле тРНК. Если к тРНК ошибочно присоединилась другая аминокислота, то эта “неправильная” аминокислота войдет в состав белка вместо “правильной”, что может привести к изменению свойств или потере активности данной молекулы белка. Именно поэтому “дорибосомному” этапу биосинтеза белка, включающему реакцию аминоацилирования тРНК, уделяется в последние годы пристальное внимание.

АМИНОАЦИЛ-тРНК-СИНТЕТАЗЫ

Реакция аминоацилирования осуществляется ферментами аминоацил-тРНК-сингтетазами, способными узнавать три различных субстрата: АТФ, аминокислоту и тРНК. В активном центре молекулы фермента осуществляются активация аминокислоты

и присоединение ее к концевому остатку рибозы тРНК. Для каждой аминокислоты в клетке имеется аминоацил-тРНК-сингтетаза (АРСаза), способная отличать свою аминокислоту от остальных, часто очень похожих по структуре [2]. Механизмы, обеспечивающие высокую точность при отборе АРСазами аминокислот, были рассмотрены в [3]. Фермент должен также уметь узнавать тРНК, антикодон которой соответствует данной аминокислоте, причем не одну, поскольку в клетке имеется, как правило, несколько так называемых изоакцепторных тРНК, способных аминоцилироваться одной и той же аминокислотой. Между тем все молекулы тРНК очень похожи между собой по вторичной и третичной структуре — характерная шпилечная организация типа клеверного листа складывается в структуру, напоминающую латинскую букву L [2]. Следовательно, АРСазы должны обладать способностью распознавать не только свою аминокислоту, но и набор своих тРНК среди большого количества (около 65 в эукариотической клетке) сходных по строению чужих тРНК. От точности этого распознавания зависит в конечном итоге правильность реализации генетической информации в процессе биосинтеза белка. Все изложенное выше подчеркивает важность изучения этой группы ферментов. Кроме того, имеющиеся к настоящему времени сведения о строении различных АРСаз интересны с точки зрения сходства и различия ферментов, выполняющих

сходные функции, и позволяют выдвигнуть несколько эволюционных гипотез.

КЛАССИФИКАЦИЯ АМИНОАЦИЛ-тРНК-СИНТЕТАЗ

В течение долгого времени единственной чертой АРСаз как группы ферментов считалось их удивительное разнообразие. Несмотря на то что эти белки катализируют одну и ту же реакцию, они оказались чрезвычайно разнообразными по размеру, субъединичному строению и последовательности аминокислот. Например, молекулярные массы АРСаз кишечной палочки варьируют от 51 000 до 384 000, при этом часть ферментов функционирует в виде мономеров, часть — в виде димеров, встречаются также и тетramerы. Даже при помощи современных компьютерных программ не удавалось обнаружить сходства между всеми 20 АРСазами ни на уровне первичной последовательности, ни по элементам пространственной структуры. Эта загадка была решена только в 1990 году французскими исследователями (Ж. Эриани и др.). Оказалось, что между всеми АРСазами действительно нет сходства, но их можно разделить на два класса и внутри каждого из классов обнаруживаются характерные последовательности аминокислот (так называемые мотивы) и сходные элементы третичной структуры.

Первоначально классификация АРСаз была основана на наличии взаимоисключающих мотивов

Таблица 1. Классификация аминоацил-тРНК-сингтетаз

	Класс 1	Класс 2
Группа рибозы концевого нуклеотида тРНК, к которой присоединяется аминокислота	2'-ОН	3'-ОН
Характерные для данного класса АРСаз аминокислотные последовательности (названия аминокислот даны в трехбуквенном обозначении*, X — остаток любой аминокислоты, Ф — остаток аминокислоты с гидрофобным радикалом)	1) одиннадцать аминокислот, заканчивающиеся тетрапептидом Гис-Иле-Гли-Гис 2) консервативный пентапептид Лиз-Мет-Сер-Лиз-Сер	Три мотива с характерным чередованием гидрофобных и гидрофильных радиkalов аминокислот 1) Гли-Фен-Х-Х-Вал-Х-Х-Про-Ф-Ф 2) Ф-Ф-Х-Ф-Х-Х-Х-Фен-Арг-Асн-Глу 3) Ф-Гли-Ф-Гли-Ф-Гли-Лей-Глу-Арг
Число полипептидных субъединиц в нативном белке	Как правило, одна (α)	Две или четыре ($\alpha_2, \alpha_4, \alpha_2\beta_2$)
Распределение АРСаз кишечной палочки по классам (греческими буквами обозначено их субъединичное строение)	ЛейPC α ИлеPC α ВалPC α ЦисPC α МетPC α_2 ГлуPC α ГлиPC α АргPC α ТирPC α_2 ТриPC α_2	ГисPC α_2 ПроPC α_2 СерPC α_2 ТреPC α_2 ФенPC $\alpha_2\beta_2$ (2'-ОН) АспPC α_2 АснPC α_2 ЛизPC α_2 ГлиPC $\alpha_2\beta_2$ АлаPC α_4

* Общепринятые трехбуквенные сокращения названий аминокислот приведены в учебнике "Общая биология" для 10–11-х классов средней школы.

(табл. 1). Десять из двадцати АРСаз кишечной палочки содержат два характерных мотива: первый состоит из 11 аминокислот, заканчивающихся на общую для всех АРСаз 1-го класса последовательность Гис-Иле-Гли-Гис; второй представляет собой консервативный пентапептид Лиз-Мет-Сер-Лиз-Сер. В структуре остальных 10 АРСаз, отнесенных ко 2-му классу, подобные последовательности не обнаруживаются, но можно выявить три других мотива, характеризующихся не столько определенной последовательностью, сколько порядком чередования аминокислот с гидрофобными и гидрофильными радикалами (табл. 1). На первый взгляд такое весьма приблизительное сходство вряд ли могло быть положено в основу классификации, однако оно подкреплялось функциональным критерием: оказалось, что все АРСазы 1-го класса присоединяют аминокислоту к 2'-гидроксильной группе рибозного остатка концевого нуклеотида тРНК, а АРСазы 2-го класса — к 3'-гидроксильной группе (исключением является фенилаланиновая АРСаза). Кроме того, оказалось, что указанные мотивы действительно взаимоисключающие, то есть не обнаружено белков, в которых бы присутствовали, скажем, последовательности, характерные для 1-го класса АРСаз, и один из мотивов 2-го класса. Не обнаружено также примеров перемещения АРСаз определенной аминокислотной специфичности из одного класса в другой у представителей различных групп организмов, то есть, например, метиониновые АРСазы кишечной палочки, дрожжей, высших растений и млекопитающих содержат одинаковые мотивы и могут быть отнесены к 1-му классу, а лизиновые АРСазы всех тех же организмов относятся ко 2-му классу АРСаз.

Из представленной в табл. 1 классификации АРСаз можно вывести следующие закономерности.

1. Ферменты 1-го класса в основном мономеры, 2-го класса обязательно олигомеры, то есть состоят из нескольких субъединиц.

2. АРСазы 1-го класса ациклируют тРНК в основном аминокислотами с объемным гидрофобным радикалом, например: тирозином, триптофаном, лейцином (исключение составляет фенилаланин), в то время как аминокислоты с небольшими нейтральными остатками (глицин, аланин) распознаются АРСазами 2-го класса.

3. Из двух аминокислот со сходными заряженными радикалами (например, аспартат-глутамат, лизин-аргинин) аминокислота с более крупным радикалом активируется АРСазой 1-го класса, с более мелким — АРСазой 2-го класса.

Эту закономерность можно объяснить при помощи данных рентгеноструктурного анализа: показано, что активный центр АРСаз 1-го класса представляет собой неглубокую выемку на поверхности молекулы белка, а АРСаз 2-го класса — глубокий узкий карман. Карман удобен для селекции мелких

аминокислотных остатков, в то время как крупным радикалам легче связаться с неглубокой впадиной, при этом различные группы активируемой аминокислоты взаимодействуют с аминокислотами, формирующими активный центр фермента, что облегчает контроль и коррекцию связывания.

СТРУКТУРА АКТИВНОГО ЦЕНТРА АРСАЗ

После расшифровки первичных последовательностей всех АРСаз кишечной палочки и получения данных рентгеноструктурного анализа для пяти из них оказалось, что все АРСазы 1-го класса содержат так называемую укладку Россмана (Rossmann fold). Основными элементами вторичной структуры любой молекулы белка являются спиральные участки, или α -спирали, и относительно плоские тяжи, называемые β -структурными [4]. “Укладка Россмана” представляет собой шесть параллельных β -тяжей, чередующихся с α -спиральными участками и расположенных таким образом, что плоские поверхности β -структур напоминают веер (рис. 1, а). Подобные структуры обнаружены в некоторых других ферментах, связывающих нуклеотиды, например НАДН-кофактор дегидрогеназ или АТФ-субстрат различных киназ, переносящих фосфатную группу АТФ на молекулы белков или нуклеиновых кислот. Показано, что пептидные мотивы, характерные для АРСаз 1-го класса, располагаются именно в структуре Россмана и образуют часть АТФ-связывающего центра, причем положительно заряженные остатки гистидина консервативного тетрапептида Гис-Иле-Гли-Гис взаимодействуют с фосфатными группами АТФ.

Для АРСаз 2-го класса характерна совершенно другая структура активного центра: это семь антипараллельных β -тяжей (рис. 1, б). Характерные пептидные мотивы также локализованы в составе этой структуры, и консервативный остаток аргинина второго мотива участвует в связывании АТФ. Таким образом, данные рентгеноструктурного анализа подтверждают, что последовательности, на которых первоначально была основана классификация АРСаз, не являются случайными, а входят в состав активного центра ферментов и непосредственно участвуют в связывании одного из субстратов (АТФ). При этом для связывания одного и того же субстрата АРСазы разных классов используют по-разному организованные домены, что может указывать на чрезвычайно раннее разделение этих ферментов на два различных класса либо даже на их независимое происхождение.

МОДУЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АРСАЗ

Почему же при наличии в структуре АРСаз таких характерных участков их так долго не могли обнаружить, соотнести один с другим? Дело в том, что эти ферменты имеют так называемую мозаичную, или модульную, структуру. Они состоят из отдельных

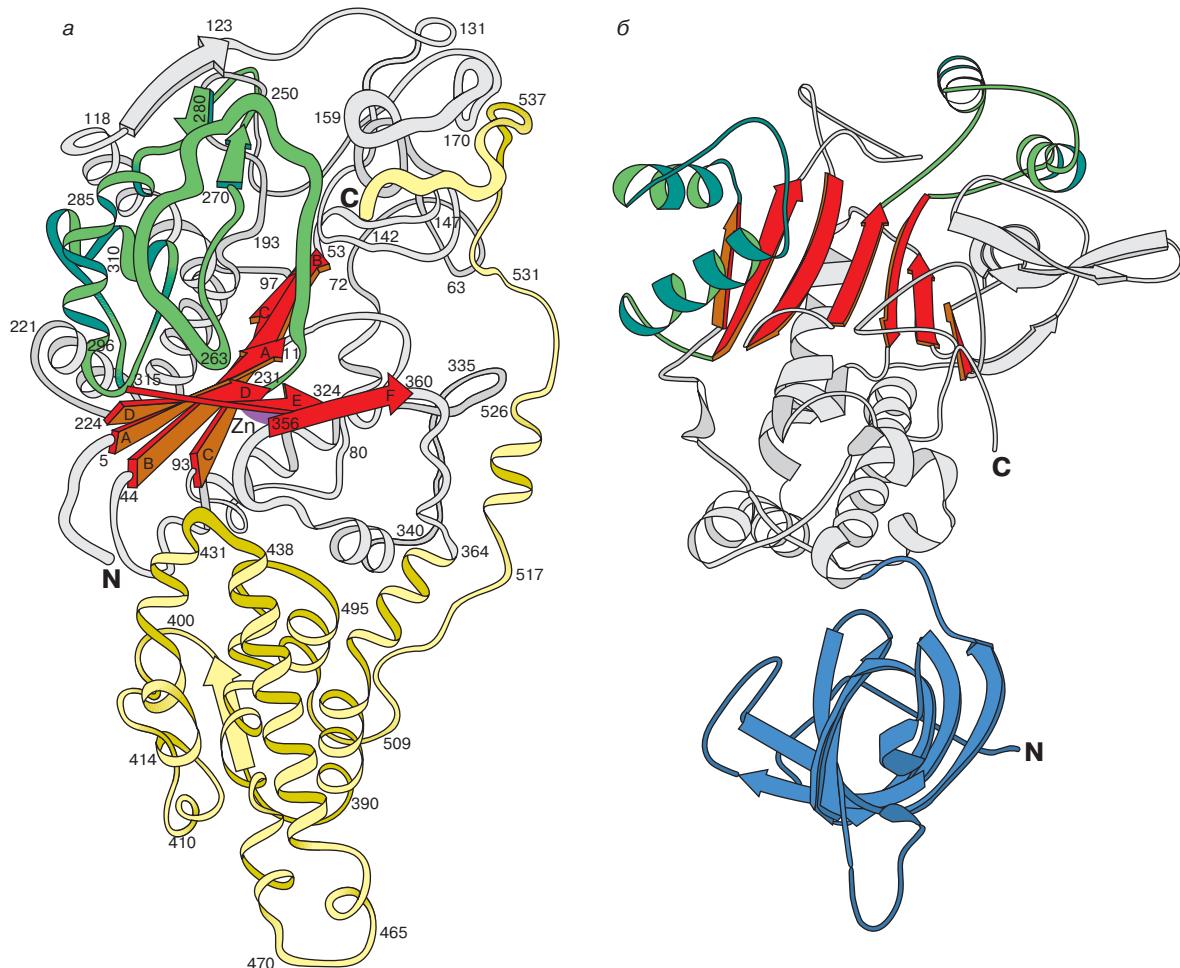


Рис. 1. Модель пространственной структуры АРСаз 1-го и 2-го класса на примере субъединиц: а – метиониновой АРСазы кишечной палочки (1-й класс); б – аспартиловой АРСазы дрожжей (2-й класс); β -структуры изображены в виде плоских стрелок. Красным цветом выделен каталитический домен, зеленым – домены, расположенные во вставках, желтым – С-концевой домен, синим – N-концевой (по [6], с изменениями)

доменов, или модулей, как бы перетасованных между собой. Разнообразные по длине и структуре модули располагаются не только на концах белковой молекулы, но и внутри центральной, так называемой сердцевинной части, содержащей активный центр фермента. Такие вставки различной протяженности обнаружены между элементами, формирующими активный центр (например, между отдельными β -тяжами), и даже внутри консервативных мотивов (рис. 1). При формировании пространственной структуры белка эти дополнительные модули как бы “выпетливаются”, образуя отдельные домены белковой молекулы и не препятствуя правильной укладке активного центра. Однако при рассмотрении аминокислотной последовательности молекулы белка создается ложное впечатление, что АРСазы чрезвычайно разнообразны и не имеют ничего общего между собой.

Таким образом, общая закономерность строения АРСаз – это наличие центральной части, содержащей активный центр, и дополнительных модулей, образованных концевыми удлинениями и вставками между элементами сердцевинной структуры. Дополнительные модули и определяют большое разнообразие размеров и свойств этих ферментов. Например, АРСазы, присоединяющие одну и ту же аминокислоту, у прокариот и эукариот могут иметь сходную молекулярную массу, но различные дополнительные модули, причем для АРСаз эукариот характерно N-концевое удлинение, а для АРСаз прокариот – С-концевое удлинение и вставки между мотивами.

Модульное строение АРСаз отражает их разнообразные функции: связывание трех субстратов, катализ, образование олигомеров. Функции связывания АТФ и аминокислоты локализованы

в катализическом центральном домене. Для олигомерных АРСаз характерен специальный домен, ответственный за взаимодействие субъединиц. Функция связывания тРНК распределена между двумя доменами белка, осуществляющими по отдельности связывание различных участков молекулы тРНК (рис. 2, а). В L-образной пространственной структуре тРНК можно выделить два основных домена, или две ветви, расположенные под углом 90° (рис. 2, б) [2]. Первый представляет собой аминоакцепторный стебель, к последовательности нуклеотидов ССА на 3'-конце которого присоединяется аминокислота, и являющуюся его продолжением Т-ветвь тРНК. Второй домен состоит из антикодоновой и дигидро-

уридиловой шпилек. При этом петлевые участки Т- и Д-шпилек взаимодействуют, формируя угол L-образной структуры (рис. 2, б). Оказалось, что связывание аминоакцепторной части тРНК осуществляется у всех АРСаз доменом, расположенным внутри центральной каталитической части фермента в одной из вставок между консервативными мотивами (рис. 2, а). Домен, связывающий антикодоновую ветвь тРНК, всегда располагается отдельно от каталитического в С- или N-концевом удлинении, причем структура этих доменов очень разнообразна у различных АРСаз.

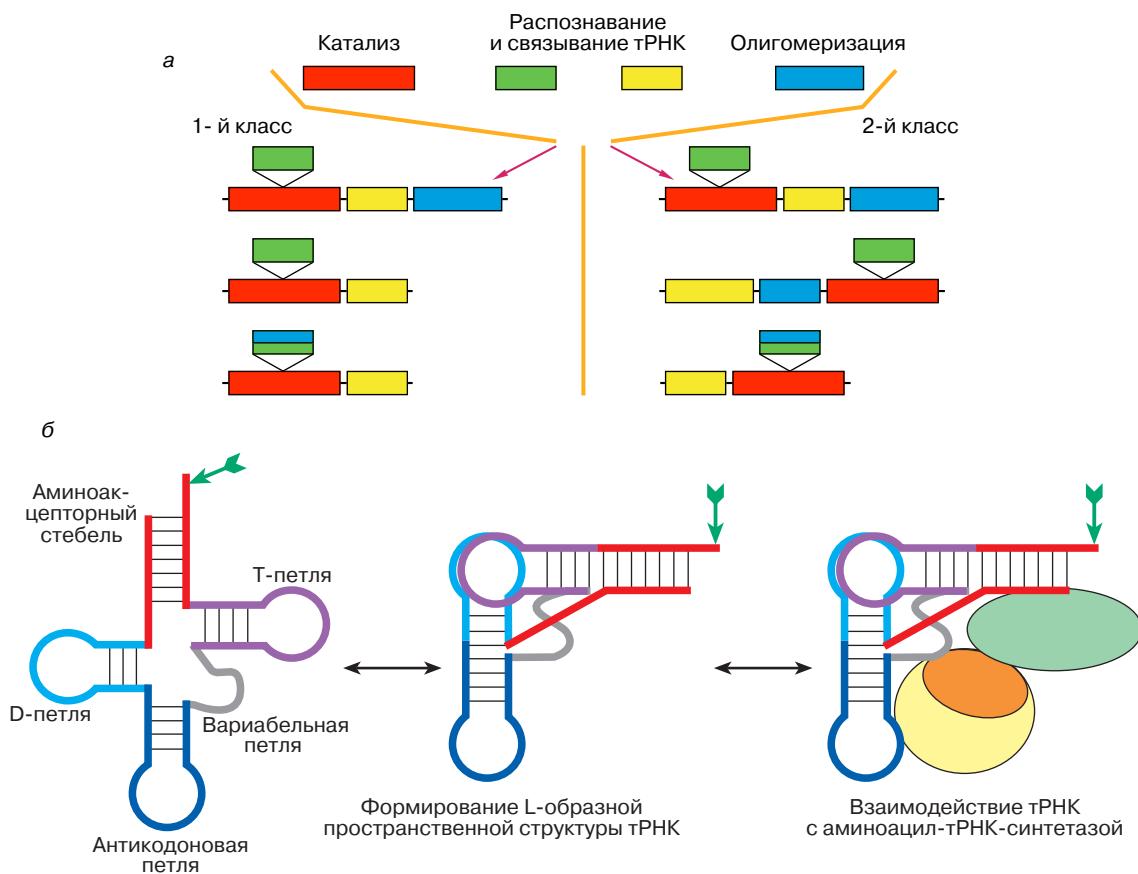


Рис. 2. а – схема различных вариантов взаимного расположения основных доменов АРСаз 1-го и 2-го класса. Красным цветом обозначен катализический домен, осуществляющий связывание АТФ и аминокислоты; синим – домен, ответственный за взаимодействие субъединиц в олигомерных ферментах; зеленым и желтым – домены, участвующие в акцепторную и антикодоновую областях тРНК соответственно (по [7]). Домены всех АРСаз, ответственные за связывание аминоакцепторной части тРНК (зеленый прямоугольник), располагаются всегда внутри сердцевинного каталитического домена (красный прямоугольник). Взаимное положение остальных доменов варьирует, однако модули, распознающие нуклеотиды антикодоновой области тРНК (обозначены желтым цветом), во всех известных случаях расположены отдельно от катализического домена АРСаз; б – схема формирования пространственной L-образной структуры молекулы тРНК и взаимодействия ее с АРСазой. Стрелкой обозначено место присоединения аминокислоты при аминоацилировании (ССА-3'-ОН конец тРНК). Красным выделен акцепторный домен тРНК, синим – антикодоновый домен. Овалами обозначены домены АРСазы: зеленый – катализический, в состав которого входит домен связывания акцепторной области тРНК; желто-оранжевый – вариабельный домен, в зависимости от его протяженности АРСаза распознает (желтый овал) или не распознает (оранжевый овал) нуклеотиды антикодона (по [7] с изменениями)

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АРСАЗ С тРНК, ЭЛЕМЕНТЫ РАСПОЗНАВАНИЯ

Как же осуществляется взаимодействие АРСазы с тРНК? Можно ответить на этот вопрос на основании данных рентгеноструктурного анализа комплексов двух АРСаз со своими тРНК (рис. 3). На представленной модели видно, что молекула тРНК сравнима по величине с молекулой (или субъединицей) фермента и взаимодействует с ним в основном в области антикодона и акцепторного участка тРНК. Обратите внимание, что тРНК контактируют с АРСазами разных классов, приближаясь к ним разными сторонами, как бы разными боками, что, несомненно, важно для правильной ориентации в активном центре фермента либо 2'-, либо 3'-гидроксильной группы рибозы. При взаимодействии с ферментом молекула тРНК претерпевает конформационные изменения: меняется характерная пространственная организация антикодоновой петли, в результате чего азотистые основания нуклеотидов антикодона как бы вдвигаются в отдельные карманчики, сформированные соответствующим доменом АРСазы. При взаимодействии с АРСазами 1-го класса наблюдается также значительное изгибание аминоакцепторного участка тРНК в области концевых неспаренных нуклеотидов (рис. 3). Подобные изменения нельзя считать универсальными для всех тРНК, поскольку рентгеноструктурный анализ сделан пока только для нескольких комплексов тРНК–АРСаза. Однако за последние годы накоплен большой объем фактического материала о том, какие нуклеотиды тРНК важны для правильного взаимодействия с АРСазой. Эти данные получены на основании экспериментов по аминоацилированию мутантных тРНК, в которых произведена направленная замена одного или нескольких нуклеотидов. Оказалось, что замена двух-трех нуклеотидов может привести к полной потере аминоакцептирующей способности тРНК. И наоборот, введение такого же сочетания нуклеотидов в аналогичные участки другой тРНК может вызвать переключение ее специфичности, при котором мутантная тРНК

приобретает способность взаимодействовать с другой АРСазой и, следовательно, аминоацилироваться другой аминокислотой. Путем искусственной перестановки таких ключевых нуклеотидов можно получить химерную тРНК. Например, из аспартиловой тРНК удалось при помощи направленного мутагенеза получить тРНК, способную акцептировать аланин, фенилаланин и валин, но не аспартат. Конечно, такое возможно только в пробирке, в условиях избытка ферментов, поскольку в клетке АРСазы конкурируют между собой за тРНК и осуществляются только взаимодействия, максимально выгодные кинетически. Подобные сочетания нуклеотидов получили название "Identity elements", или элементы идентификации, поскольку они, по-видимому, обеспечивают распознавание АРСазой своих тРНК. Будем называть их элементами узнавания, или распознавания. К настоящему времени известны элементы узнавания для многих АРСаз кишечной палочки и пекарских дрожжей, и можно выделить следующие закономерности их локализации в тРНК.

1. Элементы распознавания могут располагаться в различных участках молекулы тРНК, для каждой АРСазы характерен свой набор элементов.

2. Нуклеотиды антикодона бывают необходимы для точного аминоацилирования, но не для всех АРСаз.

3. Аминоакцепторный участок тРНК всегда содержит хотя бы один нуклеотид, важный для распознавания тРНК соответствующей АРСазой.

Обнаружены также антидетерминанты аминоацилирования, препятствующие взаимодействию тРНК с чужой АРСазой. Как правило, это модифицированные нуклеотиды. Например, аспартиловая тРНК дрожжей, лишенная модифицированных нуклеотидов, приобретает способность аминоацилироваться также аргинином.

ВТОРОЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД, ИЛИ РАБОЧИЙ КОД АМИНОАЦИЛИРОВАНИЯ

Чрезвычайно важным и интересным представляется вывод о том, что взаимодействие АРСазы с антикодоном тРНК не является обязательным условием аминоацилирования. Наиболее изученным примером такого рода является аланиновая АРСаза, для которой основным элементом узнавания служит неканоническая пара G–U в аминоакцепторном стебле. При замене этой пары на G–C, A–U и даже на U–G аланиновая тРНК теряет способность аминоацилироваться аланином. Если же в любой другой тРНК заменить третью пару аминоакцепторного стебля на G–U, то эта тРНК приобретает сродство к аланиновой АРСазе и способность присоединять аланин. Таким образом, для распознавания своей тРНК аланиновой АРСазе достаточно небольшого участка аминоакцепторного стебля. Возможно ли присоединение аминокислоты к такому

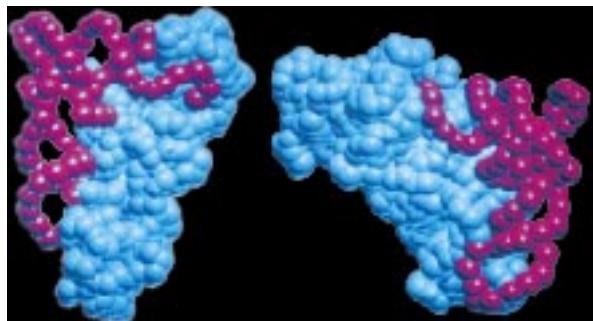


Рис. 3. Пространственная модель комплекса тРНК с АРСазами 1-го (слева) и 2-го (справа) классов (из: D. Moras // TIBS. 1992. Vol. 17. P. 159)

укороченному субстрату? Показано [7, 8], что девять АРСаз, в том числе аланиновая, способны аминоацилировать так называемые мини-спирали, представляющие собой аминоакцепторный домен тРНК, и даже микроспирали, состоящие из нескольких пар акцепторного стебля тРНК, неспаренных нуклеотидов ССА на 3'-конце и петли из произвольных нуклеотидов (рис. 4). Аминоацилирование подобных укороченных субстратов осуществляется со значительно меньшей эффективностью, чем полной тРНК, но специфично, причем значимыми для распознавания являются три-четыре нуклеотида. На основании этих данных была предложена концепция второго генетического кода, или рабочего кода аминоацилирования, согласно которой каждой аминокислоте ставится в соответствие сочетание нескольких нуклеотидов в акцепторном участке тРНК, обеспечивающее аминоацилирование этой тРНК только данной и никакой другой аминокислотой.

ГИПОТЕЗЫ О ПРОИСХОЖДЕНИИ АРСАЗ

Современные методы генной и белковой инженерии позволяют получать не только укороченные и измененные тРНК-подобные молекулы, но и конструировать различные варианты АРСаз, в частности можно получать кусочки белковой молекулы различной длины и исследовать их активность. Оказалось, что N-концевой участок аланиновой АРСазы длиной 368 аминокислот (каждая субъединица этого тетрамерного белка кишечной палочки содержит 875 аминокислот) способен синтезировать аминоацайденилат; фрагмент длиной 385 аминокислот связывает, но не аминоацилирует тРНК, а фрагмент длиной в 461 аминокислоту успешно аминоацилирует не только тРНК, но и мини- и микроспирали. При этом урезанный фермент, представляющий собой собственно центральный катализитический домен АРСазы (обозначен зеленым

цветом на рис. 2, б), аминоацилирует тРНК хуже, чем полный фермент, а аминоацилирование мини-спиралей осуществляется с одинаковой эффективностью как целой АРСазой, так и ее N-концевым доменом. П. Шиммель выдвинул гипотезу, согласно которой и антикодоновый домен тРНК, и ответственный за взаимодействие с ним домен АРСазы являются более поздним эволюционным приобретением. Исходная, предковая тРНК представляла собой короткую шпильку типа микроспирали (рис. 4), к которой присоединялись аминокислоты при помощи предков современных АРСаз – коротких полипептидов, содержащих нуклеотидсвязывающие мотивы. Д. Морас предложил следующую интересную концепцию, объясняющую существование двух классов АРСаз: в “дорибосомную” эпоху синтез коротких полипептидов осуществлялся непосредственно на молекуле предковой тРНК путем переноса аминокислоты, присоединенной к 3'-гидроксильной группе концевого рибозного остатка, на аминогруппу аминокислоты, присоединенной к 2'-гидрокисилю того же остатка рибозы (рис. 5). Аналогичным образом происходит современный биосинтез белка на рибосоме, за исключением того, что растущий пептид переносится с одной молекулы тРНК на другую. Тогда становится понятным, что для обеспечения такого древнего синтеза пептидов необходимы были по крайней мере два фермента, способные присоединять аминокислоты к 2'- и к 3'-ОН рибозы, поскольку для этих реакций требуется совершенно различная пространственная организация субстратов в активном центре. Эти ферменты и стали родоначальниками двух классов современных АРСаз. В дальнейшем белоксинтезирующий аппарат стал более сложным, для хранения информации о большом количестве разнообразных белков возник генетический код, и для обеспечения запрограммированного синтеза белка на РНК-матрице к предковым тРНК присоединился антикодоновый домен, а к АРСазам – дополнительные модули,

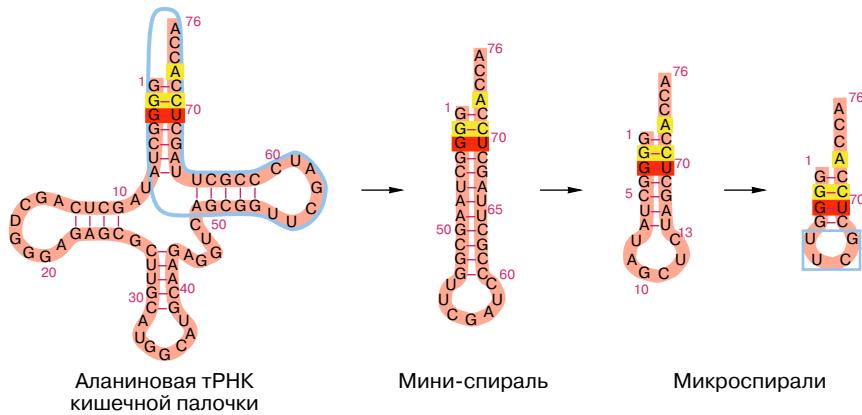


Рис. 4. Искусственные субстраты, узнаваемые аланиновой АРСазой. Красным обозначен основной элемент распознавания, желтым – дополнительные (по [8])

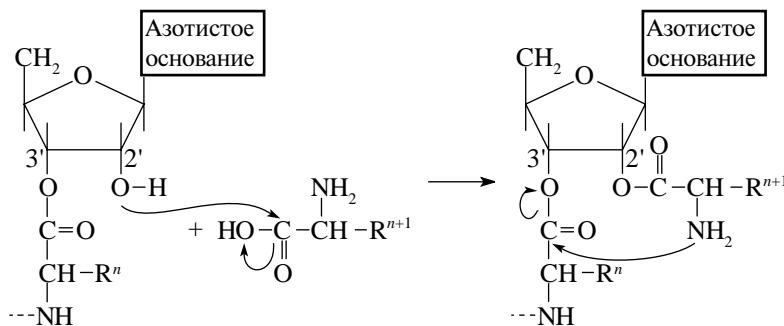


Рис. 5. Гипотетический примитивный механизм синтеза пептидов. Слева: к 3'-ОН рибозы присоединен пептид из n остатков аминокислот, R^n – радикал последней аминокислоты; по 2'-ОН происходит аминоацилирование следующей аминокислотой ($n + 1$). Справа: пептид переносится на NH_2 -группу ($n + 1$)-й аминокислоты, после чего 3'-ОН группа рибозы свободна для присоединения ($n + 2$)-й аминокислоты (по [6])

позволяющие узнавать антикодон тРНК и таким образом повысить специфичность и точность аминоацилирования. Конечно, все изложенное выше является лишь гипотезой, проверить которую не представляется возможным, поскольку ни в одном из живущих ныне организмов не обнаружено не только дорибосомного варианта биосинтеза белка, но даже каких-либо предковых форм рибосом, так что вопрос о происхождении белоксинтезирующего аппарата клетки окутан глубокой тайной.

НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ АРСАЗ

В заключение отметим, что дополнительные модули АРСаз могут нести и другие функции. У АРСаз эукариотических организмов N-концевой модуль имеет РНК-связывающие свойства, что способствует локализации АРСаз вблизи матричных РНК и рибосом. Другой N-концевой модуль АРСаз высших эукариот обеспечивает ассоциацию этих ферментов в высокомолекулярные комплексы, содержащие по одной-две молекулы АРСаз разной аминокислотной специфичности [5]. У прокариот известны примеры участия АРСаз в регуляции собственного биосинтеза на уровне транскрипции и трансляции. Для двух митохондриальных АРСаз грибов показано их участие в процессе созревания матричных РНК. Кроме того, анализ первичной структуры дополнительных модулей АРСаз выявляет области гомологии с самыми разными белками, так что можно ожидать, что список неканонических функций АРСаз будет пополняться.

Дальнейшее изучение АРСаз и элементов узнавания ими тРНК позволит понять тонкие механизмы регуляции процесса биосинтеза белка в современных организмах. Например, различный уровень аминоацилирования изоакцепторных тРНК приводит к различной скорости считывания рибосомой триплетов, кодирующих одну аминокислоту, но встречающихся с различной частотой. Кроме того, много тяжелых заболеваний человека вызвано мутациями в генах митохондриальных тРНК, приво-

дящими к ухудшению их аминоацилирования. Понимание принципов организации АРСаз и взаимодействия их с тРНК приблизит нас к возможности лечения подобных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Спирин А.С. Молекулярная биология: Структура рибосомы и биосинтез белка. М.: Выш. шк., 1986. С. 28–48.
2. Киселев Л.Л., Фаворова О.О., Лаврик О.И. Биосинтез белков от аминокислот до аминоацил-тРНК. М.: Наука, 1984. 407 с.
3. Лаврик О.И. Механизмы специфического отбора аминокислот в биосинтезе белка // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 4. С. 18–23.
4. Наградова Н.К. Внутриклеточная регуляция формирования нативной пространственной структуры белков // Там же. 1996. № 7. С. 10–18.
5. Киселев Л.Л., Вольфсон А.Д. Аминоацил-тРНК-синтетазы высших эукариот // Успехи биол. химии. 1995. Т. 35. С. 3–65.
6. Moras D. Structural Aspects and Evolutionary Implications of the Recognition between tRNAs and Aminoacyl-tRNA-synthetases // Biochimie. 1993. Vol. 75. P. 651–657.
7. Burbbaum J.J., Schimmel P. Structural Relationships and the Classification of Aminoacyl-tRNA-synthetases // J. Biol. Chem. 1991. Vol. 266. P. 16965–16968.
8. Buechler D.D., Schimmel P. Aminoacylation of RNA Minihelices: Implications for tRNA Synthetase Structural Design and Evolution // Crit. Rev. Biochem. and Mol. Biol. 1993. Vol. 28. P. 309–322.

* * *

Нина Сергеевна Энтелис, кандидат биологических наук, доцент кафедры молекулярной биологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: взаимодействие тРНК с аминоацил-тРНК-синтетазами, митохондриальные нуклеиновые кислоты, направленный транспорт РНК в митохондрии. Автор 23 научных работ.