

PRINCIPLES OF RIBOSOME STRUCTURE

A. S. SPIRIN

Several basic principles of structural organization of the ribosome are formulated: 1) the ribosome is constructed of two unequal subparticles (ribosomal subunits); 2) the core of each ribosomal subparticle is formed by high-polymer ribosomal RNA self-folded into a compact body of specific conformation; 3) diverse ribosomal proteins are assembled on the RNA core, each protein recognizing its specific binding site.

Сформулированы основные принципы структурной организации рибосомы: 1) рибосома построена из двух неравных субчастиц; 2) высокополимерная РНК каждой рибосомной субчастицы компактно свернута специфическим образом, формируя структурное ядро рибосомной субчастицы; 3) разнообразные рибосомные белки собраны на ядре РНК как на каркасе, так что каждый белок узнает свою посадочную площадку.

© Спирин А.С., 1998

ПРИНЦИПЫ СТРУКТУРЫ РИБОСОМ

А. С. СПИРИН

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Генетическая информация, находящаяся в клетке в виде ДНК и воспроизводящаяся в клеточных поколениях путем редупликации ДНК, реализуется через биосинтез белка. Для этого отдельные участки ДНК — гены — сначала транскрибируются (переписываются) в виде многочисленных копий РНК (информационной РНК, или мРНК), а затем эти копии транслируются (прочитываются) белоксинтезирующими частицами клетки — рибосомами, результатом чего является продукция белков, определяющих всю совокупность свойств и признаков организма (рис. 1). Таким образом, биосинтез белка — это центральный процесс живой клетки: именно через него “мертвые” молекулы нуклеиновых кислот обретают жизнь, химия превращается в биологию.

Итак, процесс создания химической структуры белка (синтез полипептидной цепи) и в значительной мере ее физическое сворачивание в функционально активную белковую глобулу осуществляются рибосомой. Количество рибосом в клетке сильно варьирует — от тысяч до десятков тысяч на клетку — в зависимости от интенсивности белкового синтеза в данном типе клеток. Каждая рибосома полностью прочитывает одну молекулу мРНК и в соответствии с ее программой синтезирует одну молекулу белка, после чего может быть запрограммирована другой молекулой мРНК и произвести другую молекулу белка и т.д. Обычно одна молекула мРНК читается сразу несколькими рибосомами, двигающимися вдоль мРНК друг за другом и, таким образом, независимо синтезирующими идентичные молекулы белка, но с соответствующим отставанием. Такой динамический комплекс одной мРНК с несколькими рибосомами называется полирибосомой.

Химически рибосома есть рибонуклеопротеид: она состоит из специальной рибосомной РНК и специальных рибосомных белков, находящихся в комплексе друг с другом. Физически рибосома представляет собой компактную частицу специфической формы, лишенную внутренней и внешней симметрии, грубо аппроксимируемую сферой с диаметром около 30 нм. Функционально это молекуллярная машина, протягивающая вдоль себя цепь мРНК,читывающая закодированную в мРНК генетическую информацию и параллельно, в соответствии с кодом, синтезирующую полипептидную цепь белка из поступающих в нее аминокислотных

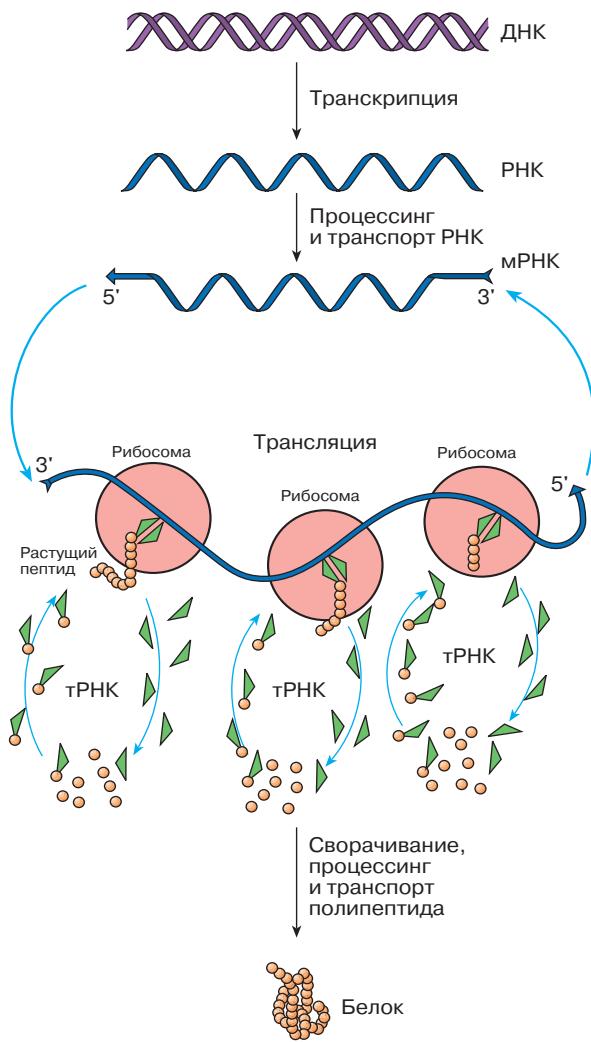


Рис. 1. Общая схема биосинтеза белков в клетке (ДНК —> РНК —> белок)

Транскрипция. Отдельные участки двутяжевой ДНК, называемые генами, являются матрицами для синтеза на них однотяжевых цепей РНК. Синтезированные цепи РНК комплементарны одной из цепей ДНК и, таким образом, точно воспроизводят дезоксирибонуклеотидную последовательность другой цепи ДНК в своей рибонуклеотидной последовательности.

Процессинг и транспорт. РНК в течение синтеза и после него, особенно в эукариотических клетках, может подвергаться ряду дополнительных изменений (добавление концевых групп, модификации нуклеотидов, вырезание определенных кусков нуклеотидной последовательности и др.). Получающаяся информационная, или мессенджер, РНК (мРНК) поступает далее к рибосомам (у эукариот транспортируется из ядра в цитоплазму) в качестве программы, определяющей аминокислотную последовательность в синтезируемом белке.

Активация и акцептирование аминокислот. Исходным материалом, из которого строится белок, являются аминокислоты, однако свободные аминокислоты клетки не могут быть непосредственно использованы рибосомой. Каждая аминокислота сначала активируется с помощью АТФ, а затем присоединяется к специальной молекуле РНК, называемой трансферной РНК (тРНК), вне рибосомы. Получающаяся аминоацил-тРНК поступает в рибосому в качестве субстрата для синтеза белка.

Трансляция. Поток информации в виде мРНК и поток материала в виде аминоацил-тРНК поступают в рибосомы, которые являются молекулярными машинами, осуществляющими перевод, или трансляцию, генетической информации с языка нуклеотидной последовательности мРНК на язык аминокислотной последовательности синтезируемой полипептидной цепи белка. Каждая рибосома последовательно сканирует цепь мРНК (двигается вдоль нее от одного конца к другому) и соответственно выбирает из среды те аминоацил-тРНК, которые соответствуют (комплементарны) триплетным комбинациям нуклеотидов, находящимся в данный момент в рибосоме. Таким образом, движение рибосомы вдоль мРНК задает строгий временной порядок входления в рибосому разных аминоацил-тРНК в соответствии с порядком расположения кодирующих нуклеотидных комбинаций (кодонов) вдоль мРНК. Аминокислотный остаток выбранной аминоацил-тРНК каждый раз ковалентно присоединяется рибосомой к растущей полипептидной цепи, а деацетилированная тРНК освобождается из рибосомы в раствор. Так последовательно остаток за остатком строится полипептидная цепь.

Формирование функционального белка. По мере синтеза полипептидная цепь частично высвобождается из рибосомы и начинает сворачиваться в глобулу (котрансляционный фолдинг), а по завершении синтеза, то есть по прочтении всей мРНК, она освобождается из рибосомы и окончательно сворачивается (посттрансляционный фолдинг). Синтезируемый белок может транспортироваться через клеточные мембранны, что характерно для белков, производимых клеткой для общих нужд организма или клеточной популяции (секретируемые белки). Сворачивание белка и его транспорт через мембранны может сопровождаться различными ковалентными модификациями с помощью ферментов (процессинг белка)

остатков. В процессе работы рибосома потребляет энергию гидролиза гуанозинтрифосфата (ГТФ). Очевидно, что детальное знание структуры рибосомы является необходимой базой для понимания механизмов работы этой молекулярной машины.

В настоящее время полная структура рибосомы на молекулярном уровне еще неизвестна, хотя известно много деталей ее строения. В этой статье делается попытка обобщить многочисленные разрозненные сведения о структуре рибосом и сформулировать основные принципы, лежащие в основе ее молекулярной организации.

ПРИНЦИП № 1: ДВЕ НЕРАВНЫЕ СУБЧАСТИЦЫ

Электронно-микроскопические изображения рибосом ясно показывают, что эти округлые частицы подразделяются на две неравные части (рис. 2). Действительно, если в среде, окружающей рибосомы, понизить концентрацию ионов магния или каким-либо еще образом увеличить электростатическое

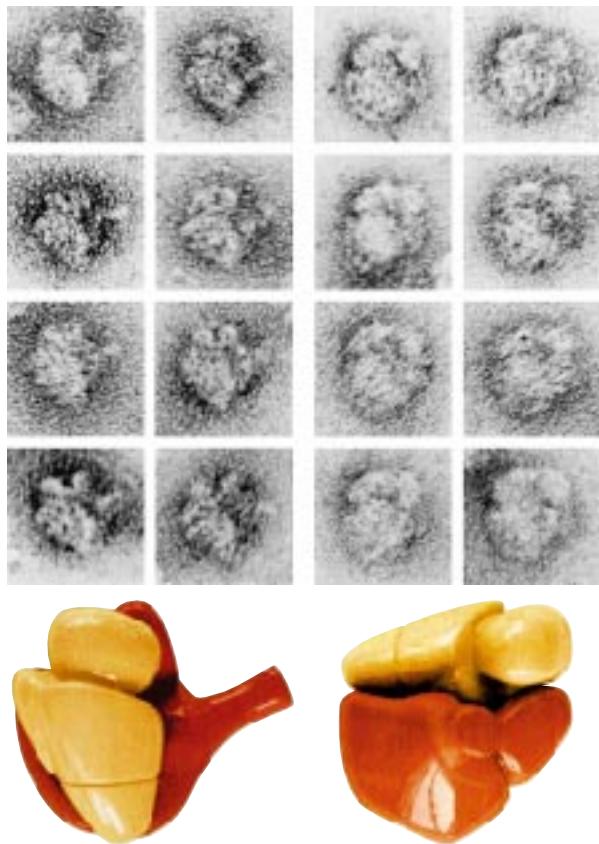
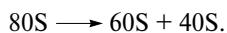
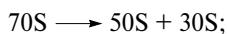


Рис. 2. Электронные микрофотографии индивидуальных рибосом *Escherichia coli* и их модель (внизу) в двух различных проекциях: слева – в так называемой перекрывающейся проекции, когда малая (30S) субчастица обращена к зрителю и закрывает собой часть большой (50S) субчастицы; справа – в боковой проекции, когда к зрителю обращен боковой палочкообразный выступ большой (50S) субчастицы, а малая (30S) субчастица расположена вверху (фотографии и модель В.Д. Вансильева, Институт белка РАН, Пущино)

отталкивание фосфатных групп рибосомной РНК, то рибосомная частица диссоциирует на две неравные субчастицы с соотношением их масс около 2 : 1. Полные рибосомные частицы и их субчастицы принято обозначать в соответствии с их коэффициентами седиментации (скоростями осаждения) в ультрацентрифуге, выражаемыми в единицах Сvedberga (S). Бактериальная рибосома с молекулярной массой около $3 \cdot 10^6$ имеет коэффициент седиментации 70S и обозначается как 70S-частица, а несколько более крупная рибосома эукариотических организмов (животные, растения и грибы) предстает как 80S-частица. Их диссоциация на субчастицы описывается следующим образом:



Эта диссоциация обратима, и при восстановлении условий субчастицы реассоциируют в полные рибосомные частицы.

В целом и электронно-микроскопические наблюдения, и эксперименты по диссоциации рибосом, и более изощренные подходы в изучении этих частиц показывают, что рибосома всегда построена из двух неравных блоков – большой и малой субчастиц и что блоки (субчастицы) рибосомы довольно лабильно ассоциированы друг с другом.

ПРИНЦИП № 2: САМОСВОРАЧИВАНИЕ РИБОСОМНОЙ РНК В КОМПАКТНОЕ ЯДРО

Каждая рибосомная субчастица содержит одну молекулу высокополимерной рибосомной РНК, составляющую от половины до двух третей всей массы субчастицы. Соответственно большая субчастица содержит в два раза более длинную рибосомную РНК, чем малая субчастица рибосомы. У бактерий это 23S РНК (около 3000 нуклеотидов) и 16S РНК (около 1500 нуклеотидов), а у животных 28S РНК (4700–4800 нуклеотидов) и 18S РНК (около 1900 нуклеотидов). Изолированные цепи высокополимерной рибосомной РНК в условиях, гасящих электростатическое отталкивание их фосфатных групп (высокие концентрации солей, особенно ионов магния), способны сворачиваться в компактные частицы характерной формы, причем компактно свернутая 23S РНК напоминает по форме полусферическую большую субчастицу рибосомы, а 16S РНК – удлиненную малую субчастицу (рис. 3). Аналогичное сворачивание и компактизация наблюдаются в присутствии рибосомных белков. Это позволяет предполагать, что, во-первых, при формировании рибосомных частиц в клетке цепи соответствующих рибосомных РНК (большой или малой) сами сворачиваются специфическим для них образом (подобно специфическому самосворачиванию полипептидных цепей в глобулярные белки) и, во-вторых, именно компактная специфическая структура рибосомной РНК во многом задает конечную морфологию соответствующей рибосомной субчастицы.

Физические исследования пространственного распределения РНК и белка в рибосомных субчастицах, проведенные с помощью рассеяния нейтронов, показали, что рибосомная РНК концентрируется в основном ближе к центру частиц, тогда как масса рибосомных белков занимает в среднем более периферическое положение. Можно сделать вывод, что свернутая молекула высокополимерной рибосомной РНК – это структурное ядро рибосомной субчастицы, определяющее и ее компактность, и ее форму, и организацию на ней рибосомных белков. Другими словами, будет не очень большим преувеличением сказать, что рибосома есть прежде всего ее РНК. Согласно большинству современных эволюционных концепций, примитивный предшественник

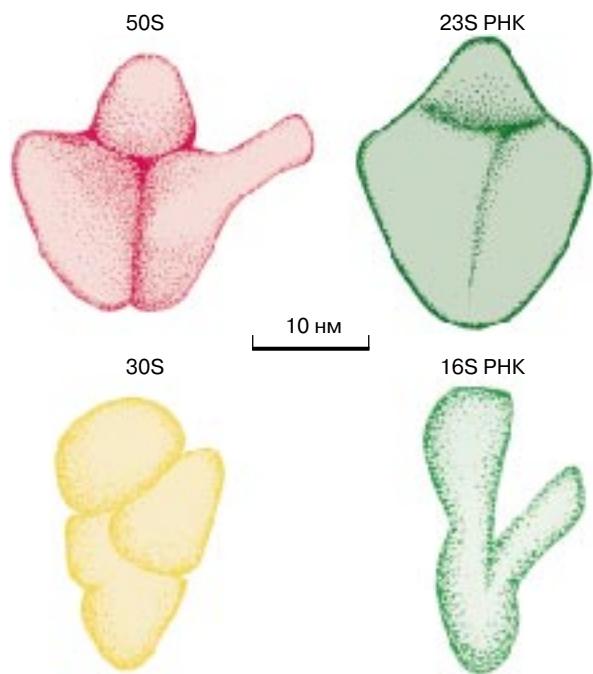


Рис. 3. Сравнение контуров рибосомных субчастиц и их изолированных высокополимерных РНК в компактной форме по данным электронной микроскопии: вверху – большая (50S) субчастица и ее 23S РНК. Внизу – малая (30S) субчастица и ее 16S РНК (В.Д. Васильев, Институт белка РАН, Пущино)

рибосомы мог состоять только из РНК и лишь в ходе эволюции постепенно дополняться белками. Каркасная роль высокополимерной рибосомной РНК для специфического размещения (укладки) многочисленных рибосомных белков рассматривается ниже.

Следует отметить, что помимо высокополимерной РНК большая рибосомная субчастица содержит одну или две молекулы относительно низкомолекулярных РНК – это 5S РНК в случае бактерий и других прокариот или 5S РНК и 5,8S РНК в случае эукариотических организмов. Указанные малые рибосомные РНК сопоставимы по размерам с рибосомными белками и вместе с ними располагаются на ядре высокополимерной рибосомной РНК как на каркасе.

ПРИНЦИП № 3: СБОРКА РАЗНООБРАЗНЫХ БЕЛКОВ НА РНК

Каждая рибосомная субчастица содержит много молекул рибосомных белков, и все они разные (рис. 4). В этом отношении рибосомный рибонуклеопротеид принципиально отличается от вирусного, где белковая оболочка строится из однотипных белков за счет их симметричной слоевой упаковки на поверхности РНК. Самосборка четвертичной структуры – физический механизм реализации

симметричной упаковки идентичных белковых молекул в слое, характерной для вирусных нуклеопротеидов. Однако такая белковая самосборка невозможна в случае разнородных белковых молекул, каковыми являются рибосомные белки. Здесь реализуется другой принцип: каждый рибосомный белок имеет свою персональную посадочную площадку на рибосомной РНК – свой “шесток”. Белок специфически узнает только этот участок РНК и садится на него. Так, на рибосомной РНК рассаживаются все разнотипные рибосомные белки. На 23S РНК бактериальной рибосомы за счет такого специфического РНК-белкового узнавания рассаживаются 32 различные белковые молекулы, а на 16S РНК – 21 белок.

Уже указывалось, что рибосомная РНК формирует ядро рибосомной субчастицы, а белки в среднем тяготеют к периферии. Однако на периферии оказывается и много участков РНК. В отличие от вирусных нуклеопротеидов белок рибосом не образует оболочки вокруг РНК. Во-первых, в рибосомах белка по массе относительно много меньше, чем в вирусах, и его просто не может хватить, чтобы

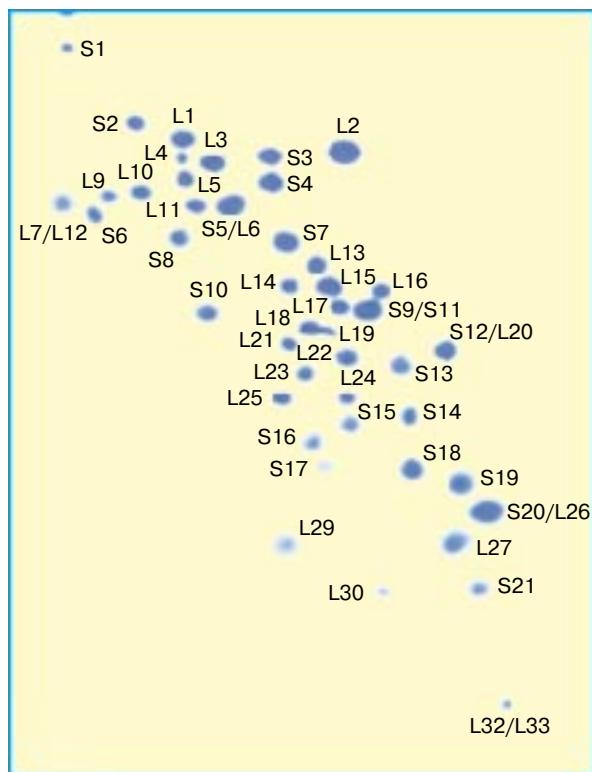


Рис. 4. Разделение индивидуальных белков бактериальной (*Escherichia coli*) 70S рибосомы путем двумерного электрофореза в поликарбамидном геле. Буквой S (small) обозначаются белки малой (30S) субчастицы, а буквой L (large) – большой (50S) субчастицы рибосомы (выполнено Д.Е. Агафоновым, Институт белка РАН, Пущино)

покрыть всю рибосомную РНК; рибосомная РНК может быть лишь “полуодета”. Во-вторых, рибосомные белки, скорее всего, не формируют поверхностных слоев, а организованы в группы – трехмерные кластеры, где часть белков оказывается под другими белками и не экспонирована на поверхности. В-третьих, периферические структурные образования рибосомной РНК могут быть участниками этих кластеров наравне с белками и в некоторых случаях прикрывать белки с поверхности.

Многочисленные рибосомные белки могут играть двоякую роль в современной рибосоме. С одной стороны, они могут непосредственно участвовать в функциях связывания субстратов и каталитических функциях рибосомы, локализуясь в соответствующих функциональных центрах и обеспечивая их своими активными группами. С другой – рибосомные белки могут служить стабилизаторами или модификаторами определенных локальных структур рибосомной РНК и таким образом поддерживать их в функционально активном состоянии или способствовать их переключениям из одного состояния в другое. В частности, в отношении главной каталитической функции рибосомы – ее пептидил-трансферазной активности, ответственной за образование пептидных связей, имеются все основания полагать, что эта активность обеспечивается локальной структурой рибосомной РНК большой субчастицы, но некоторые рибосомные белки оказываются необходимыми для поддержания (стабилизации) этой структуры.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ РИБОСОМЫ: СТРУКТУРНЫЕ “КАРМАНЫ”

Как связывание субстратов, так и ферментативный катализ на макромолекулах, включая белки и надмолекулярные комплексы, происходят, как правило, не на гладких молекулярных поверхностях, а в углублениях макромолекул, в основаниях выступов, в щелях и полостях между субъединицами или доменами – в так называемых структурных карманах. Очевидно, то же самое должно быть применимо и к рибосоме. Поэтому, рассматривая морфологические особенности рибосомы в сочетании с результатами некоторых прямых экспериментов, можно сделать важные заключения о размещении ее функциональных центров.

Основная морфологическая черта электронно-микроскопических изображений рибосомы – борозда, разделяющая две рибосомные субчастицы (рис. 2, справа). Эта борозда сильно расширяется в одном месте: виден так называемый “глаз” рибосомы. Указанная особенность отражает реальный факт существования значительной полости между двумя рибосомными субчастицами. Как показано самыми последними электронно-микроскопическими исследованиями с высоким разрешением, именно в этой полости размещаются основные суб-

страты рибосомы – молекулы пептидил-тРНК и аминоацил-тРНК, участвующие в образовании полипептидной цепи (рис. 5). Это тРНК-связывающий центр рибосомы.

Теперь рассмотрим отдельно малую рибосомную субчастицу (рис. 3, внизу слева). Она разделяется глубокой бороздой на головку и тело. Эта глубокая борозда – шея – есть место, в котором размещается участок связывания мРНК и через которое цепь мРНК протягивается от одного конца к другому в процессе трансляции (рис. 5).

У большой рибосомной субчастицы тоже есть головка – это центральный выступ, среди трех видимых выступов данной субчастицы (рис. 3, вверху слева). В шее (борозде, отделяющей головку от тела) размещается главный каталитический центр рибосомы – пептидил-трансферазный центр, осуществляющий синтез пептидных связей.

На рис. 2 (справа внизу) и рис. 5 видно, что две шеи находятся напротив друг друга и что между шеями как раз и расположен “глаз” – межсубчастичная полость, размещающая в себе молекулы двух

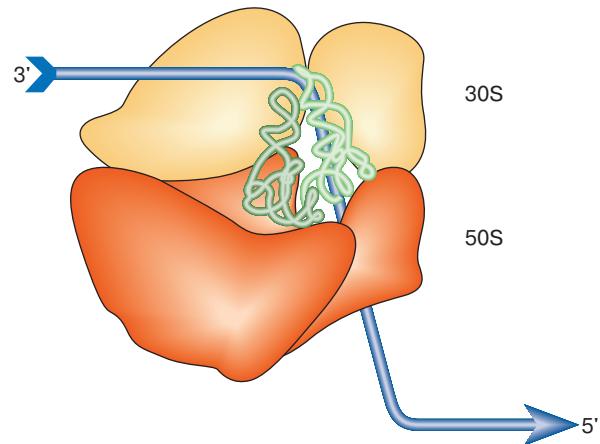


Рис. 5. Размещение основных функциональных лигандов – цепи мРНК (обозначена синим цветом) и двух тРНК (зеленые) – в рибосоме. Контуры рибосомы даны в соответствии с последними данными криоэлектронной микроскопии. Полость между субчастицами является главным функциональным карманом рибосомы, здесь размещаются две молекулы тРНК. Молекулы тРНК (аминоацил-тРНК и пептидил-тРНК) связаны с мРНК своими антикодоновыми верхушками и с пептидил-трансферазным центром в основании центрального выступа большой субчастицы – своими акцепторными концами, несущими аминокислотные остатки. В процессе трансляции цепь мРНК сканируется рибосомой от 5'-конца (голова цепи) к 3'-концу (хвост цепи), и тРНК сменяются в зависимости от нуклеотидных комбинаций, находящихся в каждый данный момент на рибосоме. Согласно представленной модели, цепь мРНК движется сквозь рибосому через шею малой субчастицы и выходит в зазор между центральным и левым боковыми выступами большой субчастицы

субстратных тРНК. Так как каждая тРНК в рибосоме одним своим концом — антикодоном — должна взаимодействовать с кодоном мРНК, а другим, акцепторным концом, несущим аминокислоту или пептид, — с пептидил-трансферазным центром, то ее положение в рибосоме в отношении двух рибосомных субчастиц определяется однозначно: антикодон тРНК сидит в шее малой субчастицы, а акцепторный конец — в шее большой субчастицы.

Наконец, важные характерные черты рибосомы — подвижный палочкообразный боковой выступ большой субчастицы, справа от головки на рис. 3 (вверху слева) и рис. 2 (слева), и непокрытая малой субчастицей площадка большой субчастицы у основания выступа (рис. 2, слева). Наблюдения и эксперименты позволяют предполагать следующую картину событий: площадка принимает на себя поступающую в рибосому новую аминоацил-тРНК в комплексе со специальным белком — фактором элонгации 1 (EF1). При этом палочкообразный отросток взаимодействует с фактором и ориентируется более или менее перпендикулярно плоскости раздела между субчастицами. В результате образуется карман между непокрытой площадкой большой субчастицы, боковой поверхностью малой субчастицы и палочкообразным отростком. Этот же карман может принимать другой белок — фактор элонгации 2 (EF2), связывающийся с рибосомой для производства механического акта — транслокации. Третий — левый на рис. 3 (слева вверху) — выступ большой субчастицы и примыкающая к нему лопасть (боковое “ребро”), по-видимому, непосредственно участвуют в ассоциации рибосомных субчастиц. Со стороны малой рибосомной субчастицы в

ассоциации субчастиц участвует боковая лопасть ее “тела” (рис. 3, внизу слева).

В следующей статье функциональные активности и принципы функционирования рибосомы будут описаны более подробно.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Спирин А.С. Молекулярная биология: Структура рибосомы и биосинтез белка. М.: Высш. шк., 1986. 300 с.
2. Уотсон Дж. Молекулярная биология гена. М.: Мир, 1978. 700 с.

* * *

Александр Сергеевич Спирин, доктор биологических наук, профессор и 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. Основной круг 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.