



УДК 577.2.01:577.217.36

ТРАНСЛЯЦИЯ ПРИРОДНЫХ мРНК. I. ОБЩИЙ КИНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССА ТРАНСЛЯЦИИ мРНК ОДНОГО ВИДА

А. П. Потапов, А. В. Ельская

Ввиду многокомпонентности природных систем белкового синтеза скорость образования белка на рибосомах является сложной функцией концентраций десятков компонентов, изменением содержания которых можно регулировать ход процесса [1—3]. Важной особенностью трансляции мРНК является то, что для прочтения каждого из кодонов требуется свой специфический адаптор. Поэтому эффективность считывания различных кодонов матрицы может варьировать в значительных пределах, оказывая определенное влияние на скорость образования белкового продукта трансляции всего цистрона в целом [4—6]. Качественный характер зависимости скорости функционирования системы белкового синтеза от концентраций различных ее составляющих, эффективности считывания отдельных кодонов понятен [1—3]. Однако конкретный количественный вид этой взаимосвязи неизвестен.

В настоящей работе дан общий теоретический анализ стационарной кинетики трансляции природной мРНК. С помощью метода направленных графов получены уравнения зависимости скорости образования белкового продукта от концентрации рибосом, кинетических характеристик считывания отдельных кодонов матрицы. С учетом выявленных особенностей трансляции мРНК в составе полирибосомных комплексов сделан вывод о важности полирибосомной организации аппарата трансляции для создания высокой чувствительности систем белкового синтеза к регуляторным воздействиям.

Уравнение стационарной скорости трансляции мРНК

Процесс трансляции моноцистронной мРНК какого-то определенного вида может быть представлен ферментативной реакцией, протекающей с образованием n ферментных комплексов, где n — число звеньев синтезируемой белковой цепи. В условиях стационарности кинетика трансляции может быть исследована методом направленных графов, предложенным для анализа кинетических свойств сложных ферментативных систем [7].

Граф процесса трансляции мРНК приведен на рис. 1. Узлы графа соответствуют кодонам мРНК в порядке их считывания рибосомами. Узел 1 соответствует инициаторному кодону, узел 0 — терминаторному кодону; P — конечный белковый продукт трансляции; r_i — стационарная концентрация рибосом, считавших i кодонов и находящихся в положении считывания $(i+1)$ -го кодона; r_0 — стационарная концентрация свободных рибосом, участвующих в считывании 1-го кодона (несмотря на постоянное перемещение рибосом по матрицам, картина их общего распределения по узлам графа для достаточно большого числа молекул мРНК и рибосом, согласно условию стационарности, должна оставаться неизменной); v_i — удельная скорость считывания i -го ко-

дона, определяемая как скорость прочтения этого кодона при 1 М концентрации считывающих его рибосом. v_i — функция, зависящая от концентрации соответствующей аминоацил-тРНК, белковых факторов трансляции с ГТР, ионного состава среды и т. д.

Согласно теории направленных графов [7], стационарная скорость образования белкового продукта P в подобной системе описывается уравнением

$$V = \frac{d[P]}{dt} = \left(\sum_{i=0}^n r_i \right) \frac{v_1 v_2 v_3 \dots v_{n+1}}{v_1 v_2 \dots v_n + v_2 v_3 \dots v_{n+1} + v_3 v_4 \dots v_{n+1} v_1 + \dots}, \quad (1)$$

которое может быть приведено к более простому и удобному виду

$$V = \left(\sum_{i=0}^n r_i \right) \left(\sum_{i=0}^n (v_{i+1})^{-1} \right)^{-1}. \quad (2)$$

Первый множитель справа — концентрация всех рибосом системы, второй — не что иное, как удельная скорость прочтения мРНК.

Отсюда вытекают два различных способа регуляции скорости трансляции: 1) изменением производительности отдельной рибосомы; 2) изменением концентрации работающих рибосом. Оба способа имеют свои характерные особенности.

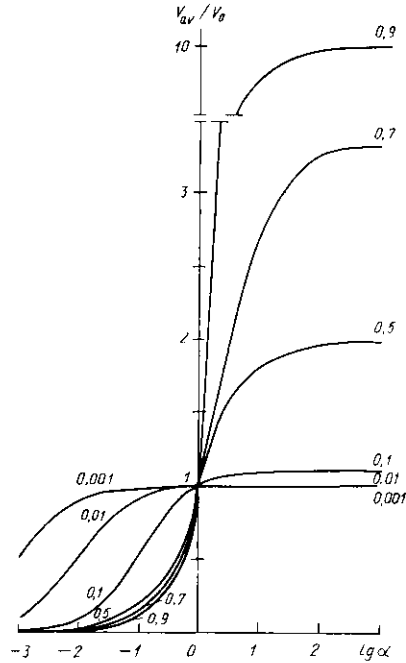
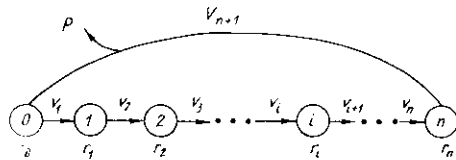


Рис. 1. Граф процесса трансляции мРНК.

Fig. 1. A graph of mRNA translation process.

Рис. 2. Зависимость средней скорости трансляции кодонов цистрона, v_{av} , от α и частоты встречаемости «аномального» кодона ($f=0,001; 0,01; 0,1; 0,5; 0,7; 0,9$).

Fig. 2. Dependence of the average rate of codon reading (v_{av}) on α and «unusual» codon frequency (f) in mRNA ($f=0,001; 0,01; 0,1; 0,5; 0,7; 0,9$).

Стратегия изменения средней удельной скорости трансляции

Введем в рассмотрение среднюю удельную скорость трансляции последовательности кодонов мРНК, v_{av} , под которой будем подразумевать удельную скорость считывания усредненного кодона:

$$v_{av} = V(n+1) \left(\sum_{i=0}^n r_i \right)^{-1}. \quad (3)$$

С учетом уравнения (2) получаем, что v_{av} должна быть средней гармонической удельных скоростей трансляции индивидуальных кодонов

$$(v_{av})^{-1} = (n+1)^{-1} \sum_{i=0}^n (v_{i+1})^{-1}. \quad (4)$$

Рассмотрим зависимость v_{av} от v_i отдельных кодонов. В случае, когда удельные скорости прочтения всех кодонов одинаковые $v_i = v$, v_{av}

тоже равна v . При появлении в составе цистрона «аномального» кодона с иной удельной скоростью прочтения αv (α — коэффициент пропорциональности; $\alpha > 1$ — «ускоренный» кодон, $\alpha < 1$ — «заторможенный» кодон) v_{av} станет отличной от v . Если такой кодон встречается в цистроне a раз и, следовательно, частота его встречаемости в данной мРНК составляет $f = a/n + 1$, из уравнения (4) имеем

$$v_{av} = \alpha v [\alpha(1 - f) + f]^{-1}. \quad (5)$$

Видно (рис. 2), что средняя удельная скорость трансляции кодонов изменяется в различной степени при ускорении или торможении трансляции такого кодона. При малых f с увеличением α в области $\alpha > 1$ v_{av} растет слабо, тогда как с уменьшением α в области $\alpha < 1$ — быстро убывает. При больших f качественная картина асимметрии отклика v_{av} на ускорение или торможение считывания указанного кодона сохраняется, однако зависимость v_{av} от α заметно усиливается. При малых и больших f в соответствии с принципом «узкого места» кинетика трансляции мРНК во многом определяется характеристиками «медленных» кодонов. Отсюда, в частности, следует, что значительное увеличение средней удельной скорости трансляции не может быть обеспечено последовательной стимуляцией считывания одного или немногих кодонов. Как только кодон(ы) перестанет быть «медленным» по сравнению с другими кодонами, он перестанет лимитировать процесс считывания и влиять на скорость трансляции. Прогрессивный рост v_{av} возможен лишь при согласованном увеличении всех v_i .

Стратегия изменения концентрации рибосом

Из уравнения (2) следует, что скорость синтеза белкового продукта прямо пропорциональна общей концентрации рибосом. Однако очевидно, что стимуляция V за счет роста концентрации рибосом имеет верхний предел, определяемый емкостью мРНК для рибосом. Так, например, стационарная концентрация рибосом в любом узле (r_i) в принципе не может быть большей молярной концентрации мРНК, m ($r_i \leq m$). Исключение составляет лишь узел 0 с соответствующим ему пулом свободных рибосом.

Реальный предел роста V может наступать значительно раньше. Рассмотрим пропускную способность участка матриц от j -го до $(j+l)$ -го узла, где l — число кодонов, занимаемых рибосомой на мРНК. Локальная нагруженность матриц рибосомами на таком участке не может превосходить $2m$:

$$\sum_{i=j}^{j+l} r_i \leq 2m. \quad (6)$$

В условиях стационарности поток рибосом через все узлы графа есть величина постоянная:

$$r_i v_{i+1} = V. \quad (7)$$

Отсюда концентрация рибосом на участке от j - до $j+l$ связана с кинетическими параметрами системы следующим образом:

$$\sum_{i=j}^{j+l} r_i = V \sum_{i=j}^{j+l} (v_{i+1})^{-1}. \quad (8)$$

Объединяя выражения (6) и (8), получаем:

$$V \leq 2m \left(\sum_{i=j}^{j+l} (v_{i+1})^{-1} \right)^{-1}. \quad (9)$$

Верхний же предел скорости трансляции всей мРНК определится наи-

меньшим из пределов для различных ее участков:

$$V_{\max} = 2m \left[\left(\sum_{i=j}^{i+l} (v_{i+1})^{-1} \right)_{\max} \right]^{-1}, \quad j = 1, 2, 3, \dots \quad (10)$$

Из уравнения (10) вытекает ряд важных следствий. 1. Верхний предел скорости трансляции, V_{\max} , прямо пропорционален концентрации мРНК, m . 2. Длина рибосомы на матрице, l , существенно влияет на величину V_{\max} . Согласно уравнению (10), с увеличением параметра l (рост числа слагаемых в знаменателе правой части (10)) V_{\max} быстро убывает по закону, близкому к гиперболическому. Исходя из протяженности участков мРНК, защищаемых рибосомами от РНКаз [8—10], l должна быть величиной не менее десяти кодонов. Следовательно, указанные ограничения V_{\max} могут быть весьма значительными. 3. V_{\max} зависит не только от набора, но и от последовательности кодонов в мРНК, определяющей их сочетание в блоки из l кодонов. 4. Изменяя некоторые v_i , можно изменить пропускную способность участка матрицы и всей мРНК в целом. При этом зависимость V_{\max} от v_i (10) для полирибосом существенно сильнее зависимости V от v_i (2) для монорибосом. 5. V_{\max} определяется самым «медленным» участком мРНК из l кодонов. Поэтому совсем не обязательна зависимость V_{\max} от наиболее «медленного» кодона. Скоростьлимитирующие качества последнего в этом случае существенным образом зависят от ближайшего кодонового окружения, контекста в составе мРНК. Самый «медленный» участок матрицы может быть образован не самыми «медленными» кодонами, каждый из которых в составе такого участка в полирибосоме может становиться скоростьлимитирующим. 6. При наличии в мРНК нескольких «медленных» кодонов одного или разных видов V_{\max} может зависеть от характера их распределения по матрице. Наименьшее значение V_{\max} соответствует их группированию в кластер из l кодонов.

Обсуждение

Регуляция скорости белкового синтеза может быть осуществлена изменением удельных скоростей считывания кодонов, концентрации рибосом и самой мРНК. Как следует из вышеприведенного анализа, эти способы воздействия на систему трансляции взаимосвязаны и дополняют друг друга.

При малых заполнениях мРНК рибосомами, когда трансляция может осуществляться только монорибосомными комплексами, скорость процесса не зависит от последовательности кодонов, а определяется лишь их набором.

Процесс лимитирован удельными скоростями прочтения самых «медленных» кодонов, изменяя скорости прочтения которых можно в соответствии с модуляторной гипотезой Эймса и Хартмана [4] изменить скорость синтеза белкового продукта.

С увеличением заполнения мРНК рибосомами, благодаря большим линейным размерам последних, возникает возможность «натякания» рибосом полисомного комплекса друг на друга, что и определяет конечную пропускную способность матрицы. Проявляется это в появлении верхнего предела скорости трансляции, V_{\max} , который зависит от последовательности кодонов и удельных скоростей их считывания. В полирибосомной системе трансляции, функционирующей в режиме, близком к режиму V_{\max} , модуляция скорости процесса изменением удельной скорости считывания одного или немногих кодонов может быть существенно глубже таковой для монорибосомной системы. При этом эффективность модуляции становится функцией, зависящей от свойств группы кодонов, т. е. набора концентраций определенных аминокислот-тРНК. мРНК с одинаковым составом, но различной последовательностью кодонов в этих условиях должны проявлять себя по-разному,

что исключено в случае их трансляции в составе монорибосомных комплексов.

Фиксация рибосом полирибосомных комплексов на мембранах эндоплазматической сети, по-видимому, может приводить к усилению эффекта взаимодействия между рибосомами комплекса. При возникновении натяжения между двумя закрепленными на мембране рибосомами возникает ситуация, во многом аналогичная ситуации «натяжения», но в отсутствие прямого контакта между рибосомами. Формально это равносильно увеличению l . Отсюда регуляция биосинтеза белка на мембраносвязанных полирибосомах сравнительно со свободными полирибосомами может характеризоваться рядом дополнительных особенностей.

Из сказанного вытекает, что полирибосомная организация аппарата трансляции обладает двумя несомненными кинетическими достоинствами. Во-первых, она увеличивает скорость образования белкового продукта, во-вторых, создает условия для обеспечения повышенной чувствительности системы трансляции к разнообразным регуляторным воздействиям. Последнее представляется немаловажным в плане обсуждаемой возможности регуляции процесса изменением концентрации модуляторных тРНК [4—6].

NATURAL mRNA TRANSLATION.

I. GENERAL KINETIC ANALYSIS OF THE PROCESS OF ONE mRNA SPECIES TRANSLATION

A. P. Potapov, A. V. Elskaya

Institute of Molecular Biology and Genetics,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

Steady-state kinetics of natural mRNA translation is theoretically analyzed. Equations are obtained for describing dependence of the total rate of cistron translation on the specific rates of each codon reading. The limited capacity of mRNA for ribosomes is shown to limit the increase of the total translation rate. V_{\max} depends on the sequence of mRNA codons and specific rates of codon reading. For the polyribosomal system, whose total translation rate is close to V_{\max} , the dependence of the total rate on specific rates of codon reading may be significantly stronger than that for the monoribosomal system. Thus, polysomal organization of the translation apparatus is suggested to be of importance for providing high susceptibility of the translation system to the regulatory factors.

1. Спири́н А. С., Га́врилова Л. П. Рибосома.— М.: Наука, 1971.—254 с.
2. Lengyel P. The process of translation: a bird's-eye view // Ribosomes.— New York: Cold Spring Harbor Lab., 1974.— P. 13—52.
3. Ша́пвиль Ф., Э́нни А.-Л. Биосинтез белка.— М.: Мир, 1977.—316 с.
4. Ames V., Hartman P. The histidine operon // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.— 1963.—28.— P. 349.
5. Транспортные рибонуклеиновые кислоты / Г. Х. Мацука, А. В. Ельская, М. И. Коваленко, А. И. Корнелюк.— Киев: Наук. думка, 1976.—219 с.
6. Остерман Л. А. Регуляторная функция тРНК в биосинтезе белка // Успехи соврем. биологии.— 1977.—83, № 1.— С. 3—22.
7. Volkenstein M. V., Goldstein B. N. A new method for solving the problems of the stationary kinetics of enzymological reactions // Biochim. et biophys. acta.— 1966.— 115, N 2.— P. 471—477.
8. Takamami M., Zubay G. An estimate of the size of the ribosomal site for messenger RNA binding // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1964.—51, N 2.— P. 834—839.
9. Castles J. J., Singer M. F. Degradation of polyuridylic acid by ribonuclease 2: protection by ribosomes // J. Mol. Biol.— 1969.—40, N 1.— P. 1—17.
10. Steitz J. A., Bryan R. A. Two ribosome binding sites from gene 03 messenger RNA of bacteriophage T7 // Ibid.— 1977.—114, N 4.— P. 527—543.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 26.06.85