



УДК 577.122.2;577.122.5;577.217.337

Б. С. Негруцкий

ТРАНСПОРТНАЯ РНК КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ БЕЛКОВОГО ГОМЕОСТАЗА

В обзоре критически рассмотрены экспериментальные данные об участии тРНК в регуляции белкового синтеза и деградации белков в условиях аминокислотного голодания. Предполагается, что тРНК может быть одним из посредников в координированной регуляции этих процессов.

Большинство белков клетки находится в динамическом состоянии постоянного обновления. Оборот белков высокоспецифичен — различные белки синтезируются и расщепляются с самыми различными скоростями [1]. Поддерживается белковый гомеостаз с помощью процессов синтеза и распада пептидов. О механизмах регулирования, а тем более взаимного регулирования этих процессов известно еще очень мало. В регуляции белкового синтеза принимают участие различные факторы, механизмы ее также весьма разнообразны (см., например, [2]). Самые общие представления имеются в настоящее время о регуляции внутриклеточного протеолиза [3]. Вместе с тем возможность функциональной взаимосвязи этих метаболических путей в согласованной регуляции при изменении условий существования клетки весьма реальна, и поиск факторов, принимающих участие и в том, и в другом процессе, может пролить свет на механизмы взаиморегуляции.

Удобной моделью в этом случае является аминокислотное голодание клеток. Известно, что клетки отвечают на недостаток питательных веществ самыми разнообразными компенсаторными либо адаптационными проявлениями. Несмотря на то, что в высших организмах в отличие от прокариот специализация тканей и гормональная регуляция делают ненужными многие из таких прямых ответных реакций, клетки млекопитающих сохраняют способность непосредственного ответа на аминокислотное голодание. Этот ответ проявляется в снижении уровня синтеза транспортных и рибосомных РНК [4, 5], в согласованной регуляции ферментов синтеза аминокислот [6], а также в уменьшении уровня биосинтеза белков и ускорении их внутриклеточной деградации.

Действительно, существуют свидетельства в пользу взаимосвязи процессов деградации и синтеза белков в клетках [7, 8]. Гипотетический механизм такой связи недавно описан на примере адаптации мышц к физической нагрузке [9]. Согласно предложенной схеме, посредником между этими процессами выступают протеолитические фрагменты — промежуточные продукты внутриклеточной деградации белков. Такие фрагменты, по замыслу автора, и являются активаторами транскрипции соответствующих мРНК. Повышенная функциональная нагрузка приводит к ускорению внутриклеточного протеолиза, т. е. тем самым к увеличению концентрации промежуточных белковых фрагментов, которые в свою очередь активируют трансляцию, стимулируя транскрипцию соответствующих мРНК. Следует отметить, что данная гипотеза, хотя и свидетельствует об актуальности проблемы, но, к сожалению, может быть применена лишь для объяснения позитивного ответа, в то время как, например, при аминокислотном голодании

параллельно происходят ингибирование белкового синтеза [7] и ускорение внутриклеточного протеолиза [8].

Более перспективным является, вероятно, поиск регуляторов, действующих непосредственно на стадии трансляции мРНК. В связи с этим повышенный интерес вызывают транспортные РНК — молекулы, характеризующиеся разнообразием функций, наличием различных функциональных форм, конформационной лабильностью (см., например, монографию [10]). Кроме того, молекулы тРНК, по всей видимости, принимают участие в регуляции белкового синтеза [11], а также вовлечены в функционирование внутриклеточных протеолитических систем [12].

Цель настоящего обзора — привлечь внимание исследователей к данным литературы, позволяющим оценить роль тРНК как потенциального регулятора белкового гомеостаза в эукариотических клетках.

тРНК в регуляции трансляции. Парадоксальным является то обстоятельство, что об участии тРНК в тонком регулировании биосинтеза индивидуальных белков известно сейчас гораздо больше, чем о ее функционировании в качестве неспецифического регулятора трансляции. Так, обнаружена несомненная корреляция между изменением функционального состояния клетки и изменением набора изоацетонных тРНК, приводящим к ее адаптации к синтезу специфических белков. Это явление, открытое на примере дифференциации молочной железы [13] и подтвержденное впоследствии для ряда других узкоспециализированных тканей [14, 15], является, по-видимому, универсальным свойством живых организмов и, вероятно, одним из общих механизмов регуляции экспрессии генетической информации на уровне трансляции [16]. Значение аминоксил-тРНК в регулировании трансляции при адаптации клеточного набора тРНК к составу соответствующих мРНК подробно рассматривается в ряде публикаций [11, 16].

Настоящий обзор данных литературы сконцентрирован на обсуждении гораздо менее изученной роли тРНК как неспецифического регулятора трансляции при резких изменениях условий функционирования клетки. На первый план может выходить здесь другая функциональная форма тРНК — не заряженная аминокислотой, или деацилированная. Не исключено, что изменение концентрации деацилированной тРНК *in vivo*, являющееся одним из самых ранних событий, например, при аминокислотном голодании, играет ключевую роль в регуляции соответствующих метаболических изменений. Логично предположить, что регуляция может протекать по типу обратной связи — накопление конечного продукта каждого цикла трансляции (деацилированной тРНК) приводит к замедлению процесса. Между тем конкретные пути участия деацилированной тРНК в регулировании белкового синтеза у эукариот до настоящего времени не выявлены. Единственно доказанный механизм, подразумевающий участие незаряженной тРНК в синтезе на рибосоме аномальных нуклеотидов ppGpp и pppGpp — мощных эффекторов транскрипции и трансляции в прокариотических клетках [17], для эукариот не подтвержден [18, 19].

Уместно заметить, что сходный механизм был предложен Грумтом и Грумтом в качестве объяснения обнаруженного ими плейотипического действия аминокислотного голодания на биосинтез белка, РНК, изменение пула нуклеотидтрифосфатов в культуре эукариотических клеток при гистидиновом голодании либо обработке гистидином [5]. Предполагалось, что в присутствии избытка деацилированной тРНК эукариотические рибосомы способны интенсивно расщеплять GTP. Уменьшение пула GTP вызывает соответствующее изменение пула АТР, расходуемой на регенерацию GTP. Снижение же общей концентрации этих энергоемких соединений приводит к множественным эффектам на клеточный метаболизм [5]. Позже другими исследователями было подтверждено, что аминокислотное голодание приводит к сниже-

нию уровня АТФ и GTP, однако при этом соотношение АТФ/АДР и GTP/GDP не изменяется, что делает проблематичным возможное регуляторное значение этого феномена [21].

Исследования возможной регуляторной роли деацилированной тРНК в эукариотических клетках сводились в основном к поиску корреляции между накоплением в клетках этой формы тРНК и ингибированием белкового синтеза. Повышение уровня незаряженной тРНК достигалось аминокислотным голоданием клеток [22, 23], перфузированием органов в среде, дефицитной по аминокислотам [7, 24], голоданием животных [25, 27], применением конкурентных ингибиторов аминоацил-тРНК синтаз [28—30], использованием ферментов, гидролизующих аминокислоту *in vitro* [31]. Исследования проводились в бесклеточных белоксинтезирующих системах [28, 31], культурах клеток млекопитающих [21, 23, 32], изолированных органах [7, 24] и интактных животных [27, 33].

Еще более 20 лет назад было установлено, что голодание приводит к замедлению белкового синтеза [34]. Логично предположить, что подобный эффект проявляется на этапе элонгации и определяется недостатком аминоацил-тРНК вследствие ограничения пула аминокислот в клетках. К определенному удивлению исследователей оказалось, однако, что при недостатке аминокислот в первую очередь страдает стадия инициации белкового синтеза [35].

Моделирование ситуации аминокислотного голодания при помощи конкурентных ингибиторов аминоацилирования — гистидинола и О-метилтреонина (аналоги гистидина и изолейцина) — показало наличие корреляции между возрастанием концентрации деацилированных тРНК и ингибированием белкового синтеза [30]. Уменьшение уровня заряженности тРНК на 20 % сопровождалось замедлением белкового синтеза на 70 %. Скорость элонгации при этом была снижена всего в 1,5—2 раза. Учитывая значительное сокращение количества и размера полисом, был сделан вывод о том, что основной вклад в ингибирование трансляции вносит блок инициации, осуществляемый, по мнению авторов, при непосредственном участии деацилированной тРНК [30].

Появление работы [30] стимулировало исследование роли незаряженной тРНК в регуляции инициации белкового синтеза. Было обнаружено, что деацилированная тРНК способна ингибировать неenzиматическое связывание *in vitro* инициаторной метионил-тРНК с эукариотическими рибосомами [36, 37]. Следует подчеркнуть, что эти данные, хотя и указывали на принципиальную возможность прямого воздействия незаряженной тРНК на инициацию трансляции, не могли служить доказательством существования подобного механизма *in vivo*, поскольку были получены в отсутствие факторов и при далеких от физиологических ионных условиях.

Естественным продолжением этих исследований стало изучение влияния голодания на образование комплексов [³⁵S]метионил-тРНК с 40S рибосомными субчастицами непосредственно в клетках. Так, в культуре клеток асцита Эрлиха удаление любой незаменимой аминокислоты приводило к значительному сокращению связанной с 40S субчастицами инициаторной тРНК [22]. Введение гистидинола в клетки асцита Кребса II вызывало 30 %-ное сокращение образования таких комплексов [38]. В этой работе также имеются указания на то, что конкурентные ингибиторы аминоацилирования могут по-разному действовать непосредственно в клетках и в полученных из них бесклеточных системах (уровень биосинтеза белка в экстрактах из этих клеток после обработки гистидинолом повышался в 2 раза). Увеличение уровня деацилированной тРНК, вызванное голоданием по гистидину клеток *HeLa*, обработкой их гистидинолом и О-метилтреонином, а также инкубацией при непермиссивной температуре *SNO*-клеток, содержащих температурочувствительную лейцил-тРНК синтазу, коррелировало с существенным ингибированием белкового синтеза, сопровождавшимся снижением количества 40S инициаторных комплексов [39].

Суммируя изложенные результаты, можно сделать вывод, что аминокислотное голодание либо введение в клетки аналогов аминокислот приводит к ингибированию инициации белкового синтеза. Корреляция ингибиторного эффекта с увеличением концентрации деацилированной тРНК (или уменьшением количества аминоацил-тРНК) действительно существует, однако на основании рассмотренных данных нельзя заключить, является ли обнаруженный ингибиторный эффект следствием этой корреляции либо он не связан с аминоацилированием тРНК и объясняется прямым регуляторным действием аминокислот или их аналогов.

Вместе с тем в литературе накапливались данные, свидетельствующие против вовлеченности деацилированной тРНК в ингибирование инициации белкового синтеза при аминокислотном голодании. Так, попытка определения зависимости скорости белкового синтеза от внутриклеточного содержания аминоацил-тРНК была сделана Огилви и др. [23]. В клетках асцита мыши значительное снижение скорости биосинтеза белка наблюдалось только после заметного снижения уровня аминоацил-тРНК в условиях аминокислотного голодания, что противоречило ранее полученным данным [30]. Весьма интересным было также наблюдение, что умеренное голодание в первую очередь влияет на скорость элонгации. Это также противоречило данным [30]. Обнаруженное несоответствие авторы объясняли применением в предшествующих работах не совсем корректных методов остановки клеточного метаболизма. Охлаждение клеток, применявшееся для остановки метаболизма ранее [5, 30], могло вносить артефакты, поскольку в таких условиях трансляция ингибируется быстрее, чем аминоацилирование [23]. Огилви и др. была построена теоретическая кривая ингибирования трансляции посредством снижения уровня аминоацилирования тРНК. Авторы исходили из следующих предположений: 1) каждая аминокислота составляет 5 % всего белка; 2) время элонгации на кодоне прямо пропорционально количеству соответствующей аминоацил-тРНК; 3) незаряженная тРНК не конкурирует за А-сайт и не влияет на скорость элонгации; 4) уменьшение количества аминоацил-тРНК влияет только на стадию элонгации. Однако построенный с учетом таких допущений график существенно расходился с экспериментальным. Сближения кривых можно было достигнуть, только предположив влияние деацилированной тРНК на скорость элонгации и/или вовлеченность тРНК в контроль инициации белкового синтеза [23].

Участие деацилированной тРНК в ингибировании инициации трансляции не получило подтверждения в работе Остин и др. [21]. Было обнаружено, что восстановление уровня аминоацил-тРНК в голодавших по лизину клетках асцита Эрлиха при циклогексимидном блоке трансляции не сопровождается тем же менее увеличением количества 40S инициаторных комплексов в экстрактах из этих клеток. Добавление периодатноокисленной тРНК (аналога деацилированной тРНК, не способного аминоацилироваться) в систему белкового синтеза, приготовленную из контрольных клеток, вызывало лишь 20 %-ное снижение количества 40S инициаторных комплексов, хотя полностью исключало образование 80S инициаторных комплексов. Поскольку ингибирование белкового синтеза при этом было малосущественным, роль изучавшихся 80S комплексов осталась непонятной. Добавление лизина к экстрактам из голодавших по этой аминокислоте клеток, приводившее к восстановлению пула аминоацил-тРНК, тем не менее не стимулировало ни образования 40S инициаторных комплексов, ни собственно белкового синтеза [21]. Ситуация оказалась прямо противоположной наблюдавшейся в целых клетках, голодавших по лизину. Там в ответ на добавление этой аминокислоты уже в течение 2 мин возрастало количество 40S инициаторных комплексов, и скорость белкового синтеза увеличивалась [21]. Этот факт наряду с упоминавшимся ранее [38] свидетельствует о неодинаковости ответа целых клеток и экстрактов из них на изменение условий белкового синтеза, что, по всей видимо-

сти, вызвано потерей при разрушении клеток каких-то структур, связанных с цитоскелетом и/или клеточными мембранами.

Таким образом, Остин и др. получили доказательства против участия деацилированной тРНК в снижении уровня 40S инициаторных комплексов *in vitro* в условиях аминокислотного голодания. Судя по всему, деацилированная тРНК действительно не принимает участия в регулировании стадии инициации, и, если и участвует в регуляции, то, вероятно, только на стадии элонгации полипептидной цепи.

Как известно, скорость элонгации при аминокислотном голодании уменьшается [23, 30]. Более того, существуют свидетельства того, что в ряде случаев объектом основного регуляторного воздействия при голодании является именно элонгация. Так, Арнштейн и др. показали недавно, что в бесклеточной белоксинтезирующей системе из ретикулоцитов кролика при моделировании условий аминокислотного голодания с помощью аспарагиназы на рибосомах обнаруживается большое количество коротких пептидов, но совсем нет незавершенных пептидов большого размера, как и полноразмерных молекул глобина [31]. Наблюдаемое ингибирование стадии элонгации не связывалось авторами с изменением уровня аминоацил-тРНК, но здесь уместно вспомнить полученные Балковым и Рабиновичем [28] в такой же системе данные о накоплении доли специфических деацилированных тРНК, связанных с рибосомами, при ингибировании трансляции гистидином и валином.

Необходимо подчеркнуть, что применение фермента, разрушающего аминокислоту непосредственно в системе, позволяет исключить эффект смягчения голодания за счет эндогенного протеолиза, т. е. открывает перспективы отдельного изучения этих процессов в одной системе.

Как указывалось ранее, данные, полученные в бесклеточных системах, могут не всегда совпадать с результатами подобных экспериментов с клетками в культуре [21, 38]. Аналогично, результаты, полученные с использованием культуры клеток, не обязательно будут идентичными таковым на интактных животных. Важным этапом на пути к изучению белкового синтеза в целостном организме является использование в качестве модели перфузии изолированного органа [7, 24]. При перфузии печени крысы в условиях аминокислотного голодания было обнаружено, что дефицит аминокислот и в этом случае приводит к уменьшению скорости белкового синтеза [7]. Замедление трансляции сопровождалось дезагрегацией полисом и заметным снижением способности 40S субчастиц рибосом связывать [³⁵S] метионил-тРНК [24]. При этом, однако, авторы не обнаружили изменений в уровне аминоацил-тРНК [7]. Если пренебречь погрешностью использованного метода определения количества эндогенных аминоацил-тРНК (в ходе процедуры сохранялось лишь около 20 % предварительно введенной в качестве контроля [¹⁴C] фенилаланил-тРНК, а введение авторами соответствующей поправки могло привести, учитывая крайнюю неодинаковую стабильность различных аминоацил-тРНК, к не совсем корректной оценке их содержания в клетке), то можно заключить, что деацилированная тРНК, по-видимому, и в этом случае не вовлечена активно в механизм ингибирования инициации белкового синтеза. Интересно, что увеличение времени перфузии вызывало восстановление скорости трансляции. Поскольку в присутствии ингибиторов внутриклеточных протеаз — инсулина и глутамина — восстановления скорости трансляции не наблюдалось, был сделан вывод о взаимосвязи процессов деградации и синтеза белков в перфузированной печени [7]. К аналогичному заключению пришли Ван Венрой и др., обнаружившие восстановление скорости белкового синтеза в клетках асцита Эрлиха спустя 4 ч после начала аминокислотного голодания [8]. Механизмы такой взаимосвязи не обсуждались, однако очень вероятно, что одним из посредников *in vivo* в проведении регуляторного сигнала являются аминокислоты [7].

Выяснению механизмов регуляторного действия аминокислот на внутриклеточные протеолитические системы в перфузированной печени были посвящены работы лаборатории Мортимора [40—42]. Было обнаружено, что при отсутствии в перфузионной жидкости аминокислот в печени резко возрастает аутофагия. Первичный аутофагический ответ наблюдается практически мгновенно. Это свидетельствует о непосредственной связи рестрикции аминокислот с какими-то дискретными и потенциально различными сигналами [40]. Неожиданно выяснилось, что количество аминокислот, появление которых способно ингибировать внутриклеточный протеолиз, весьма ограничено. Всего регуляторных аминокислот оказалось 8, из них наибольшим эффектом обладали лейцин, тирозин, глутамин и пролин [40]. Было показано, что крайне незначительное снижение концентрации любой из этих аминокислот способно вызывать непропорционально сильный протеолитический ответ. Наиболее вероятными посредниками изменения концентрации регуляторных аминокислот в клетках являются тРНК, и авторы не исключали их участия в этом процессе [40, 41]. Чувствительность метода, использовавшегося ранее [7] для сравнения уровней аминоацилирования тРНК в нормальной и перфузированной в отсутствие аминокислот печени, возможно, просто не позволяла уловить то едва заметное увеличение концентрации деацилированной тРНК, которое, будучи связанным со снижением уровня аминокислоты, могло вызвать резкий протеолитический ответ, приводивший к восстановлению ресурсов функционирования белоксинтезирующего аппарата [41].

Изучение влияния голодания животных на биосинтез белка и заряженность тРНК аминокислотами выявили картину, близкую к обнаруженной при перфузии органов. Скорость биосинтеза белка в печени крысы снижалась на 29 % после двухдневного голодания [26]. Если крысы в течение 10 дней находились на безбелковой диете, то среднее время синтеза полипептидной цепи увеличивалось с 1,28 до 2,08 мин, т. е. на 38 %, и, кроме того, наблюдалась потеря значительной части полисом [27]. Уровень же аминоацилирования тРНК при голодании в течение 1—2 сут практически не изменялся [25, 33]. Эти данные, по мнению авторов, свидетельствовали о несопряженности уровня заряженности тРНК и замедления скорости белкового синтеза при голодании. Однако, если деацилированная тРНК действительно принимает участие в регуляции эндогенного протеолиза [43], то незначительное повышение ее уровня уже в первое время после начала голодания должно приводить к активации внутриклеточных протеолитических систем. В это же время будет наблюдаться торможение инициации и элонгации белкового синтеза [23]. В таком случае концентрация аминокислот быстро возвратится к исходному уровню, и количество аминоацил-тРНК, следовательно, вновь будет близким к максимальному, что и наблюдается в эксперименте [25, 33]. Для проверки этого предположения особый интерес представляет изучение уровня заряженности тРНК и концентрации аминокислот на самых ранних этапах голодания.

Остается вопрос, почему в таком случае ингибирование трансляции наблюдается и после восстановления пула аминоацил-тРНК? Объяснение этому можно найти в недостаточной точности метода определения уровня аминоацил-тРНК *in vivo*, не позволяющей выявить незначительные изменения пула деацилированной тРНК, достаточные, вероятно, для передачи регуляторных сигналов. Кроме того, существенный вклад в ингибирование трансляции при голодании вносит стадия инициации [30], в контроле которой тРНК, по всей видимости, участия не принимает.

Не исключено, что в культурах клеток активность эндогенных протеолитических систем может быть снижена. Тот факт, что здесь уже после непродолжительного голодания наблюдается накопление заметных количеств деацилированной тРНК, может быть объяснен суще-

ственно большим временем активирования систем внутриклеточного протеолиза и/или малой их активностью.

Для нарушения предполагаемого механизма согласованной регуляции в интактных животных необходимо более длительное голодание, которое привело бы к исчерпанию ресурсов протеолитических систем. Действительно, только при 10-суточном голодании кроликов пул аминоксил-тРНК в печени снижается более чем наполовину [44].

Длительное голодание животных как метод изменения условий функционирования белоксинтезирующего аппарата *in vivo* было использовано Мацукой и др. [45]. Обнаружено, что значительная часть эндогенной тРНК в таких условиях не заряжена и, более того, теряет способность присоединять аминокислоту в реакции аминокислирования *in vitro* [46]. Прогревание при 60 °С в присутствии ионов магния возвращало таким тРНК акцепторные свойства. Было высказано предположение о том, что часть молекул тРНК при длительном голодании животных переходит в конформационно измененную биологически неактивную форму [47].

Из бактерий и дрожжей «денатурированные» формы тРНК были выделены еще в 1966 г. [48, 49]. Изменение конформации таких тРНК затрагивало в основном дигидроурициловый стебель [50—52], а также в ряде случаев антикодонную ветвь [50, 51]. Обнаружение биологически неактивных тРНК при длительном голодании животных явилось по существу первым свидетельством в пользу существования «денатурированных» тРНК *in vivo*, хотя указания на частичную инактивацию молекул тРНК при голодании присутствовали и в работе [25].

Значительные усилия были приложены для доказательства реальности существования неактивных форм тРНК непосредственно в тканях. Периодатное окисление незаряженной *in vivo* тРНК, изучение аминокислирования *in vivo* при введении экзогенной радиоактивно меченной аминокислоты, получение препаратов тРНК из смешиваемых в разных пропорциях тканей печени голодавших и контрольных животных, постепенная утрата акцепторных свойств тРНК в соответствии с длительностью голодания — все это позволило сделать заключение о том, что биологически неактивные формы тРНК образуются при голодании непосредственно в животных тканях [53].

Играют ли «денатурированные» *in vivo* тРНК какую-либо биологическую роль? Предполагалось, что образование неактивных конформеров является своего рода депонированием молекул тРНК в условиях, когда в них нет нужды [54]. Высказывалось также мнение, что такие формы тРНК — просто один из начальных продуктов деградации и, следовательно, особого значения не имеют [55]. Цикл работ был посвящен выяснению вопроса, сохраняют ли неактивные в аминокислировании конформеры тРНК способность взаимодействовать с компонентами аппарата трансляции либо они являются биологически инертными молекулами. Оказалось, что такие формы тРНК могут взаимодействовать с аминоксил-тРНК синтетазами, нарушая при этом конформацию фермента. Неактивные конформеры тРНК ингибируют аминокислирование нативной тРНК [56]. Они оказывали также кодо-неспецифическое ингибиторное действие на связывание аминоксил-тРНК с 80S рибосомами в отсутствие факторов [57] и, более того, существенно ингибировали трансляцию глобиновой мРНК в бесклеточных белоксинтезирующих системах [58]. Совокупность этих данных позволила выдвинуть предположение об активной роли денатурированных *in vivo* тРНК в негативной регуляции белкового синтеза при экстремальных состояниях организма [58]. Таким образом, участие деацилированной тРНК в регуляции трансляции может в ряде случаев определяться обратимым изменением конформации этой тРНК.

Итак, весь объем рассмотренных данных дает основание предположить, что тРНК как в нативной, так и в конформационно измененной форме способна участвовать в регулировании трансляции при аминокислотном голодании. По-видимому, регуляторное действие тРНК

проявляется на стадии элонгации. Ингибирование инициации белкового синтеза, вероятно, связано с регуляторным эффектом собственно аминокислот, направленным на иные, нежели аминокислотирование тРНК, процессы [21].

Каков же механизм ингибиторного действия тРНК на элонгацию? Известно, что удельная скорость элонгации ограничивается временем задержки рибосомы на каждом кодоне и минимально допустимой дистанцией между рибосомами на мРНК [59, 60]. Относительно слабое влияние вторичной структуры мРНК и вариаций количества различных тРНК обычно не принимается во внимание [59], хотя действие этих факторов на скорость трансляции отнюдь не пренебрежимо мало [20, 61]. При аминокислотном голодании скорость элонгации ограничивается временем, необходимым рибосоме для считывания самого большого кластера «голодных» кодонов — участка мРНК с наибольшим количеством таких кодонов на расстоянии друг от друга меньшем, чем минимальная межрибосомная дистанция [59]. Существуют теоретические модели трансляции, связывающие замедление белкового синтеза при аминокислотном голодании с увеличением времени остановки рибосомы на «голодном» кодоне вследствие дефицита соответствующих аминоацил-тРНК [23, 59]. Однако подобным моделям прямо противоречит показанное в многочисленных экспериментах относительно небольшое снижение уровня аминоацил-тРНК при голодании животных [25, 33]. Оставшегося количества аминоацил-тРНК оказывается вполне достаточно для того, чтобы время остановки рибосомы на «голодном» кодоне существенно не возрастало [59]. Если время задержки рибосомы мало и действительно пропорционально экспериментально установленному уровню аминоацил-тРНК, то значительное уменьшение скорости элонгации при аминокислотном голодании вызвано отнюдь не дефицитом аминоацил-тРНК.

Недавно был предложен альтернативный механизм ингибирования скорости элонгации мРНК при аминокислотном голодании, использующий «трехсайтовую модель» [63] функционирования рибосомы. Краткое описание гипотезы имеется в [62]. Наличие на рибосоме специального сайта связывания деацилированной тРНК, с которого предположительно осуществляется уход в раствор освободившейся в цикле трансляции тРНК [63], и сравнительно низкая скорость диссоциации деацилированной тРНК из этого сайта [64] требуют существования специального механизма, облегчающего уход тРНК с рибосомы. Постулировано, что в норме такую функцию выполняют аминоацил-тРНК синтетазы. Сбои в работе этого механизма, связанные с нарушением функционирования аминоацил-тРНК синтетаз при аминокислотном голодании, приводят к задержке деацилированной тРНК на выходном сайте, что, в свою очередь, вызывает торможение транслокации и замедление трансляции в целом. Отсюда следует, что ингибиторное действие на элонгацию оказывает не дефицит аминоацил-тРНК, а возрастание количества незаряженной тРНК, приводящее к замедлению движения рибосомы на матрице. Ряд литературных данных свидетельствует в пользу существования предложенного механизма [65, 66], однако прямых доказательств еще не получено. Детальное выяснение роли компартиментализации аппарата белкового синтеза, а также механизмов цикла элонгации должно внести в этот вопрос необходимую ясность.

Суммируя изложенное в этом разделе, следует еще раз отметить, что функциональное состояние тРНК, вероятно, играет существенную роль в контроле трансляции при экстремальных состояниях эукариотического организма, в частности, при голодании. Затрагивается при этом стадия элонгации полипептидной цепи. В регулировании инициации белкового синтеза тРНК, по-видимому, непосредственного участия не принимает. Вопрос о механизме регуляторного действия тРНК до настоящего времени не решен.

тРНК в регуляции внутриклеточного протеолиза. Базальная ско

рость протеолиза может удваиваться, если клетки млекопитающих лишены незаменимых аминокислот [1]. Ускорение протеолиза происходит за счет аутофагии — процесса, в котором участки цитоплазмы избирательно капсулируются, образуя мембранные везикулы, растворимые затем лизосомами. Клеточные и молекулярные механизмы аутофагии до сих пор изучены весьма слабо, и нет данных ни за, ни против вовлеченности тРНК в этот процесс [67]. Вместе с тем ряд уже упоминавшихся ранее свидетельств в пользу взаимосвязи процессов деградации и синтеза белков [7, 8, 43] позволяет предположить, что и в этом случае уровень аминоацилирования тРНК может иметь регуляторное значение. Помимо уже обсуждавшихся данных лаборатории Мортимера [40—42] существуют и более прямые доказательства участия тРНК в регуляции внутриклеточной деградации белков.

Специально этот вопрос изучался Скорником и др. на модели аминокислотного голодания *CHO*-клеток. На первом этапе исследований было показано, что удаление из среды практически любой аминокислоты вызывает как ингибирование белкового синтеза, так и ускорение деградации белков [68]. Необходимо отметить, что не наблюдалось строгой корреляции между величиной эффекта удлинения какой-нибудь аминокислоты на синтез белков и на их протеолиз. Наибольшее воздействие на деградацию белков оказывали лейцин (в его отсутствие протеолиз увеличивался на 158 %), цистеин (93 %), триптофан (97 %), а на синтез белков — гистидин (ингибирование на 51 %), пролин (54 %), триптофан (53 %), метионин (49 %).

Было обнаружено, что в мутантных клетках *CHO*, содержащих температурочувствительную гистидил-тРНК синтетазу, повышенная концентрация гистидина требовалась в непермиссивных условиях и для оптимизации белкового синтеза, и для максимального ингибирования деградации белков, что может свидетельствовать о взаимосвязи использования гистидина для белкового синтеза и его эффекта на деградацию [68].

При сравнении действия на эндогенный протеолиз ингибиторов белкового синтеза было выявлено, что обработка клеток циклогексимидом не приводила к сколько-нибудь заметному ускорению деградации белков, в то время как присутствие гистидинола (при адекватных концентрациях гистидина) стимулировало деградацию даже в большей степени, чем отсутствие гистидина. Таким образом, было показано, что 1) утилизация гистидина в белковом синтезе и его узнавание клеткой играют роль в регуляции белковой деградации; 2) ингибирование общего синтеза белка не ведет к усилению деградации; 3) ингибирование аминоацилирования гистидинолом аналогично по эффекту на протеолиз гистидиновому голоданию; 4) эффекты гистидинола и гистидинового голодания не аддитивны. Все эти факты свидетельствуют в пользу функциональной связи аминоацилирования тРНК и ингибирования белковой деградации [68].

Продолжение исследований было посвящено изучению вопроса, важна ли для регуляции протеолиза функциональная форма тРНК, или же в нее вовлечены другие компоненты системы аминоацилирования? Варьируя концентрации тех же ингибиторов — циклогексимиды и гистидинола — Скорник показал, что стимуляция внутриклеточного протеолиза непосредственно связана с уровнем аминоацилирования тРНК (возрастание этого уровня приводило к замедлению протеолиза) [43]. К сожалению, осталось невыясненным, какая именно форма тРНК — аминоацил или деацилированная — является непосредственным участником регуляторного механизма.

Вовлеченность тРНК в функционирование систем внутриклеточного протеолиза была продемонстрирована в лаборатории Цихановера при изучении нелизосомной АТФ- и убиквитин-зависимой протеолитической системы из ретикулоцитов кролика [12]. Было обнаружено, что протеолиз некоторых белков не может осуществляться в такой системе в отсутствие тРНК [69]. Более того, препараты тРНК из *Esche-*

richia coli и дрожжей в тех же концентрациях, что и гомологичная тРНК, никак не стимулировали деградации [70].

Авторы сделали также попытку выяснить, имеет ли в данном случае значение специфичность тРНК? Для получения индивидуальных тРНК был выбран нетрадиционный путь — использование сыворотки крови больных системной красной волчанкой и полимиозитом (аутоиммунных заболеваний, характеризующихся выработкой антител против клеточных антигенов, в том числе и против тРНК). Несмотря на то, что полученные препараты тРНК не были охарактеризованы по способности функционировать в белковом синтезе и не контролировалась взаимная загрязненность тРНК различных специфичностей, удалось идентифицировать один из компонентов — тРНК^{His} и более того, обнаружить некую корреляцию между количеством тРНК^{His} в препарате и степенью проявления его стимулирующего действия на протеолиз [12]. К сожалению, остался за рамками исследований вопрос о том, имеет ли в данном случае значение функциональная форма тРНК? Кроме того, весьма перспективным продолжением работ по выяснению механизмов функционирования убиквитин-зависимой протеолитической системы могло бы быть изучение действия на деградацию белков в такой системе тРНК различной специфичности, а также изоакцепторных тРНК, поскольку эти факторы благодаря своему многообразию могут определять селективность работы системы.

Если учесть, что протеолитические системы, в функционировании которых участвует тРНК, способны активироваться при экстремальных состояниях организма [1, 67], то можно предположить вовлечение тРНК в регулирование деградации белков при резких изменениях условий существования клетки, т. е. в тех же условиях, когда она может становиться неспецифическим регулятором трансляции. Вполне возможно, что изменение уровня одного или нескольких типов незаряженной тРНК, непосредственно связанное со скоростью трансляции, избирательно регулирует скорость внутриклеточного протеолиза, как это показано для тРНК^{His} в клетках китайского хомячка [43]. На такую возможность указывает и существование так называемых «регуляторных» аминокислот, присутствие которых эффективно ингибирует внутриклеточный протеолиз при перфузии органов в неполноценной по аминокислотам среде [40, 41].

Поскольку эффект отсутствия различных аминокислот по-разному сказывается на функционировании систем синтеза белков и их деградации [68], можно предположить, что в регулировании этих параллельно протекающих процессов участвуют главным образом тРНК несовпадающих специфичностей, что открывает широкие возможности для селективной регуляции таких систем.

Заключение. Несмотря на разнородность известных к настоящему времени данных литературы по влиянию аминокислотного голодания на синтез белков и их деградацию, участие тРНК в регуляции систем белкового синтеза и протеолиза вполне вероятно. Вовлеченность одних и тех же молекул в различные клеточные процессы при доказательстве взаимовлияния этих процессов может быть аргументом в пользу того, что такие молекулы функционируют и в качестве передаточного звена в механизме координированной регуляции. Существование в цитоплазме двух относительно легко взаимопереходящих форм тРНК — аминоацил и деацилированной, — соотношение которых, вероятно, связано как с уровнем биосинтеза белков, так и с активностью в данный момент протеолитических систем клетки, поддерживает это предположение. Многообразие молекул тРНК, связанное с различной специфичностью и наличием изоакцепторных форм, открывает перспективы для участия в регуляции.

Факты, приведенные в настоящем обзоре, в большинстве свидетельствуют о возможности участия тРНК в регулировании синтеза и деградации белков. Вместе с тем обращает на себя внимание практически полное отсутствие работ, где влияние голодания на синтез белка

и внутриклеточный протеолиз изучалось бы параллельно с целью выявления механизмов регуляторных связей, ведь, строго говоря, даже окончательное доказательство участия тРНК в контроле синтеза и деградации белков при аминокислотном голодании вовсе не будет свидетельствовать о роли тРНК как посредника в передаче регуляторного воздействия между этими двумя процессами.

Вопрос о возможных механизмах участия тРНК в регулировании синтеза и деградации белков при экстремальных состояниях организма трудно решить, не выяснив, какая функциональная форма тРНК важна для передачи сигнала. Роль деацилированной тРНК представляется здесь более существенной на основании следующих соображений. 1. Если почти вся тРНК в клетке аминоацилирована [25, 33], то уменьшение концентрации аминоацил-тРНК с 90 до 80 % в клетке, по всей видимости, уловить сложнее, чем изменение концентрации деацилированной тРНК в 2 раза, с 10 до 20 %. 2. Для механизма, узнающего изменения одной из 20 аминоацил-тРНК, необходима гораздо большая чувствительность, чем для узнающего появление любой из 20 деацилированных тРНК [43].

Среди возможных механизмов участия деацилированной тРНК в регуляции трансляции при аминокислотном голодании обсуждаются: конкуренция ее с несоответствующими кодону аминоацил-тРНК за А-сайт рибосомы [71], торможение транслокации за счет задержки такой тРНК на выходном сайте рибосомы [62], участие в интенсивном расщеплении GTP рибосомой [5], приобретение иной, биологически неактивной конформации [57]. Ни одна из этих гипотез до настоящего времени не подтверждена экспериментально.

О механизмах участия деацилированной тРНК во внутриклеточном протеолизе известно еще меньше. С сожалением приходится констатировать отсутствие гипотез, постулирующих какую-либо конкретную роль тРНК, в том числе и в АТР- и убиквитин-зависимой протеолитической системе, для которой роль тРНК в протеолитическом расщеплении доказана экспериментально [67]. Одним из перспективных направлений здесь может быть изучение возможной вовлеченности в протеолитические процессы конформационно измененных форм тРНК.

В заключение необходимо подчеркнуть, что тРНК — всего лишь один из факторов, которые могут участвовать в координировании регуляции биосинтеза и деградации белков. Параллельное изучение белкового синтеза и протеолиза в бесклеточных системах, клеточных культурах и интактных животных должно обеспечить исследователей более полной информацией о путях и механизмах поддержания белкового гомеостаза в эукариотической клетке.

Автор благодарен А. В. Ельской за стимулирующие дискуссии и Н. Ф. Стародубу — за критическое чтение рукописи и ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hershko A. A., Ciechanover A.* Mechanisms of intracellular protein breakdown // *Ann. Rev. Biochem.*— 1982.—**51**.— P. 335—364.
2. *Translation regulation of gene expression* / Ed. J. Ilan.— New York: Plenum press, 1987.—487 p.
3. *Goldberg A. L., St. John A. C.* Intracellular protein degradation in mammalian and bacterial cells // *Ann. Rev. Biochem.*— 1976.—**45**.— P. 747—803.
4. *Hamilton T. A., Litt M.* Biosynthesis of mammalian transfer RNA. Evidence for regulation by deacylated transfer RNA // *Biochim. et biophys. acta.*—1976.—**435**, N 4.— P. 362—375.
5. *Grummt F., Grummt J.* Studies on the role of uncharged tRNA in pleiotypic response of animal cells // *Eur. J. Biochem.*— 1976.—**64**, N 2.— P. 307—312.
6. *A role for asparagyl tRNA in the regulation of asparagine synthetase in a mammalian cell line* / S. M. Arfin, D. R. Simpson, C. S. Chiang et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*— 1977.—**74**, N 6.— P. 2367—2369.
7. *The role of amino acids in the regulation of protein synthesis in perfused rat liver.*
1. Reduction in rates of synthesis resulting from amino acid deprivation and recovery.

- ry during flow / K. E. Flaim, D. E. Peavy, W. V. Everson, L. S. Jefferson // *J. Biol. Chem.*—1982.—257, N 6.—P. 2932—2938.
8. Van Venrooj W. J. W., Henshaw E. C., Hirsh C. A. Effect of deprivation of glucose or individual amino acids on polyribosome distribution and rate of protein synthesis in cultured mammalian cells // *Biochim. et biophys. acta.*—1972.—259, N 1.—P. 127—137.
 9. Mader A. A transcription-translation activation feedback circuit as a function of protein degradation, with the quality of protein mass adaptation related to the average functional load // *J. Theor. Biol.*—1988.—134, N 1.—P. 135—157.
 10. Киселев Л. Л., Фаворова О. О., Лаврик О. И. Биосинтез белков от аминокислот до аминоацил-тРНК.— М.: Наука, 1984.—408 с.
 11. Остерман Л. А. Об участии тРНК в регулировании биосинтеза белка на уровне трансляции у эукариотов // *Успехи биол. химии.*—1980.—2.—С. 54—78.
 12. Ciechanover A. Regulation of the ubiquitin-mediated proteolytic pathway: role of the substrate α -NH₂ group and of transfer RNA // *J. Cell Biochem.*—1987.—34, N 2.—P. 197—216.
 13. Ельская А. В., Мацука Г. Х. К вопросу об изменении набора индивидуальных тРНК в клетках молочной железы в зависимости от синтезируемых белков // *Укр. биохим. журн.*—1968.—40, № 2.—С. 120—125.
 14. Hentzen D., Chevallier A., Garl J. P. Differential usage of isoaccepting tRNA^{Ser} species in silkglands of *Bombyx mori* // *Nature.*—1981.—290, N 5809.—P. 267—269.
 15. Smith J. H., McNamara A. L. The distribution of transfer ribonucleic acids in rabbit reticulocytes // *J. Biol. Chem.*—1974.—249, N 5.—P. 1330—1334.
 16. Garel J.-P. Functional adaptation of tRNA population // *J. Theor. Biol.*—1974.—43, N 1.—P. 211—225.
 17. Шакулов Р. С., Клячко Е. В. Нетрансляционная функция рибосом // *Итоги науки и техники.*— М.: ВИНТИ, 1983.—С. 194—237. (Сер. Биол. химия; Т. 18).
 18. Smulson M. Amino acid deprivation of human cells: effect on tRNA synthesis, RNA polymerase and ribonucleoside phosphorylation // *Biochim. et biophys. acta.*—1970.—199, N 2.—P. 537—540.
 19. The pleiotypic response in mammalian cells: search for an intracellular mediator / P. Mammont, A. Herschko, P. Krom et al. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1972.—48, N 6.—P. 1378—1384.
 20. Von Heijne G., Blomberg C., Liljenström H. Theoretical modelling of protein synthesis // *J. Theor. Biol.*—1987.—125, N 1.—P. 1—14.
 21. Investigation of the role of uncharged tRNA in the regulation of protein chain initiation by amino acid starvation in cultured mammalian cells; a reappraisal / S. A. Austin, V. M. Pain, J. A. Lewis, M. J. Clemens // *Eur. J. Biochem.*—1982.—122, N 3.—P. 519—526.
 22. Pain V. M., Henshaw E. C. Initiation of protein synthesis in Ehrlich Ascites tumor cell // *Ibid.*—1975.—57, N 2.—P. 335—342.
 23. Ogilvie A., Huschka U., Kersten W. Control of protein synthesis in mammalian cells by aminoacylation of tRNA // *Biochim. et biophys. acta.*—1979.—565, N 2.—P. 293—304.
 24. The role of amino acids in the regulation of protein synthesis in perfused rat liver. II. Effect of amino acid deficiency on peptide chain initiation, polysomal aggregation and distribution of albumin mRNA / K. E. Flaim, W. S. L. Liao, D. E. Peavy et al. // *J. Biol. Chem.*—1982.—257, N 6.—P. 2939—2946.
 25. Shenoy S. T., Rogers A. R. Effect of starvation on the charging levels of transfer ribonucleic acid and total acceptor activity in rat liver // *Biochim. et biophys. acta.*—1977.—476, N 2.—P. 218—227.
 26. McHurlan M. A., Tomkins A. M., Garlick P. I. The effect of starvation on the rate of protein synthesis in rat liver and small intestine // *Biochem. J.*—1979.—178, N 2.—P. 373—379.
 27. Sito A., Noda K., Natori Y. The effect of protein depletion on the rate of protein synthesis in rat liver // *Biochim. et biophys. acta.*—1979.—561, N 3.—P. 475—483.
 28. Balkov K., Rabinovitz M. Increased binding of transfer ribonucleic acid species to ribosomes under conditions interfering with their aminoacylation // *Mol. Pharmacol.*—1973.—9, N 2.—P. 229—236.
 29. Hansen B. S., Vaughan M. H., Wang E. L. Reversible inhibition by histidinol of protein synthesis in human cells at the activation of histidine // *J. Biol. Chem.*—1972.—247, N 12.—P. 3854—3857.
 30. Vaughan M. H., Hansen B. S. Control of initiation of protein synthesis // *Ibid.*—1973.—248, N 20.—P. 7078—7096.
 31. Control of protein synthesis by amino acid supply / H. R. V. Arnstein, C. W. Barwick, J. D. Lange, H. D. I. Thomas // *FEBS Lett.*—1986.—194, N 1.—P. 146—150.
 32. Aspen A. J., Hoagland M. B. Incoupling of amino acid turnover on transfer RNA from protein synthesis in HeLa cells // *Biochim. et biophys. acta.*—1978.—518, N 3.—P. 482—496.
 33. Allen R. A., Raines P. L., Regen D. M. Regulatory significance of transfer RNA charging levels // *Ibid.*—1969.—190, N 2.—P. 323—336.
 34. Sox H. C., Hoagland M. B. Functional alteration in rat liver polysomes associated with starvation and re-feeding // *J. Mol. Biol.*—1966.—20, N 1.—P. 113—121.
 35. Lee S. Y., Krsmanovic V., Brawerman G. Initiation of polysome formation in mouse sarcoma 180 Ascites cells. Utilization of cytoplasmic messenger ribonucleic acid // *Biochemistry.*—1971.—10, N 5.—P. 895—900.

36. Zastoff M. Non-enzymic binding of formylmethionyl-transfer RNA to *Artemia salina* ribosomes // J. Mol. Biol.—1973.—76, N 4.—P. 445—453.
37. Kyner D., Zabus P., Levin D. H. Inhibition of protein chain initiation in eukaryotes by deacylated transfer RNA and its reversibility by spermine // Biochim. et biophys. acta.—1973.—324, N 3.—P. 386—396.
38. Austin S. A. Effect of histidinol on the initiation and elongation of protein synthesis in Krebs II Ascites cells // Biochem. Soc. Trans.—1976.—4.—P. 781—783.
39. Jakubowicz T., Frielle D. W., Vaughan M. H. 40S subunit-MettRNA_r complexes and initiation factor eIF-2 phosphorylation in mammalian cells accumulating uncharged tRNA // Acta biochim. pol.—1985.—32, N 3.—P. 199—210.
40. Pösö A. R., Wert J. J., Mortimore G. E. Multifunctional control by amino acids of deprivation-induced proteolysis in liver. Role of leucine // J. Biol. Chem.—1982.—257, N 20.—P. 12114—12120.
41. Pösö A. R., Mortimore G. E. Requirement for alanine in the amino acid control of deprivation-induced proteolysis in liver // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1984.—81, N 14.—P. 4270—4274.
42. Mortimore G. F. Mechanisms of cellular protein catabolism // Nutr. Rev.—1982.—40, N 1.—P. 1—12.
43. Scornik O. A. Faster protein degradation in response to decreased steady-state levels of aminoacylation of tRNA^{His} in Chinese hamster ovary cells // J. Biol. Chem.—1983.—258, N 2.—P. 882—886.
44. Овчаренко Г. В., Бабий Т. П., Мацука Г. X. Влияние голодания на содержание аминоксил-тРНК в печени кроликов // Укр. биохим. журн.—1971.—43, № 6.—С. 708—711.
45. Акцепторная активность тРНК при голодании / Г. X. Мацука, Э. Б. Сквирская, Т. П. Бабий и др. // Там же.—1968.—40, № 1.—С. 115—119.
46. Некоторые данные об изменении способности тРНК печени кроликов акцептировать аминокислоты при голодании / Г. X. Мацука, Т. П. Бабий, Э. Б. Сквирская, М. И. Коваленко // Там же.—1969.—41, № 6.—С. 655—659.
47. О возможности существования в тканях животных разных конформационных форм тРНК, отличающихся способностью акцептировать аминокислоты / Г. X. Мацука, Т. П. Бабий, Э. Б. Сквирская и др. // Там же.—1970.—42, № 1.—С. 24—30.
48. Lindahl T., Adams A., Fresco J. Renaturation of tRNA through site binding of magnesium // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1966.—55, N 5.—P. 941—947.
49. Gartland W., Sueoka N. Two interconvertible forms of tryptophanyl sRNA in *E. coli* // Ibid.—P. 948—956.
50. Model for the secondary structure of the denatured conformers of yeast tRNA₃^{Leu} / D. R. Kearns, J. R. Wong, E. R. Hawkins, S. H. Chang // Nature.—1974.—247.—P. 541—543.
51. Jones C. R., Kearns D. R., Muench K. H. Nuclear magnetic resonance of the base-pairing structure of the native and denatured conformers of *E. coli* tRNA^{Trp} // J. Mol. Biol.—1976.—103, N 4.—P. 747—764.
52. Physical studies of denatured tRNA₂^{Glu} from *E. coli* / M. Bina Stein, D. Crothers, C. W. Hilbers, R. C. Schulman // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1976.—73, N 5.—P. 2216—2220.
53. Биологически неактивные тРНК печени животных / Г. X. Мацука, Т. П. Бабий, Э. Б. Сквирская и др. // Биохимия.—1973.—38, № 6.—С. 1221—1227.
54. Транспортные рибонуклеиновые кислоты. Некоторые аспекты структуры и функции / Под ред. Г. X. Мацуки.—Киев: Наук. думка, 1976.—220 с.
55. Тамулявичюс А. Й. Функциональная характеристика транспортных рибонуклеиновых кислот и аминоксил-тРНК-синтеза миокарда при ишемии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—Вильнюс, 1985.—18 с.
56. El'skaya A., Negrutskii B. The interaction between inactive tRNA conformers and leucyl-tRNA-synthetase from rabbit liver // Eur. J. Biochem.—1987.—164, N 1.—P. 65—69.
57. Негруцкий Б. С., Ельская А. В. Взаимодействие различных конформеров деацилированной тРНК с 80S рибосомами // Биополимеры и клетка.—1987.—3, № 3.—С. 131—134.
58. Негруцкий Б. С., Ельская А. В. Влияние различных конформеров тРНК на трансляцию мРНК в белоксинтезирующих системах // Укр. биохим. журн.—1989.—61, № 3.—С. 58—62.
59. Model for messenger RNA translation during amino acid starvation applied to the calculation of protein synthesis error rates / C. V. Harley, J. M. Pollard, C. P. Stanpers, S. Goldstein // J. Biol. Chem.—1981.—256, N 21.—P. 10786—10794.
60. Потапов А. П., Ельская А. В. Трансляция природных мРНК. 1. Общий кинетический анализ процесса трансляции мРНК одного вида // Биополимеры и клетка.—1986.—2, № 2.—С. 88—92.
61. Pelletier J., Sonenberg N. The involvement of mRNA secondary structure in protein synthesis // Biochem. Cell. Biol.—1987.—65, N 6.—P. 576—581.
62. Роднина М. В., Негруцкий Б. С. Деацилированная тРНК и контроль трансляции // Структура и функции биополимеров: Тез. докл. респ. конф. (Львов, 1989).—Киев, 1989.—С. 54.
63. Mechanism of ribosomal translocation / W. Wintermeyer, R. Lill, H. Paulsen, J. M. Robertson // Structure, function and genetics of ribosomes / Eds B. Hardesty, G. Kramer.—New York: Springer, 1986.—P. 523—540.

64. Kirillov S. V., Semenkov Yu. P. Extension of Watson's model for the elongation cycle of protein biosynthesis // *J. Biomol. Struct. and Dynam.*—1986.—4, N 2.— P. 263—269.
65. Robertson J. M., Wintermeyer W. Mechanism of ribosomal translocation. tRNA binds transiently to an exit site before leaving the ribosome during translocation // *J. Mol. Biol.*—1987.—196, N 3.— P. 525—540.
66. Graf H. Interaction of aminoacyl-tRNA synthetases with ribosomes and ribosomal subunits // *Biochim. et biophys. acta.*—1976.—425, N 2.— P. 175—184.
67. Reichsteiner M. Ubiquitin-mediated pathways for intracellular proteolysis // *Ann. Rev. Cell Biol.*—1987.—3.— P. 1—30.
68. Scornik O. A., Ledbetter M. L. S., Matter J. S. Role of aminoacylation of histidyl-tRNA in the regulation of protein deprivation in Chinese hamster ovary cells // *J. Biol. Chem.*—1980.—255, N 13.— P. 6322—6329.
69. Transfer RNA is an essential component of the ubiquitin and ATP-dependent proteolytic system / A. Ciechanover, S. L. Wolin, J. A. Steitz, H. F. Lodish // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1985.—82, N 5.— P. 1341—1345.
70. Ferber S., Ciechanover A. Transfer RNA is required for conjugation of ubiquitin to selective substrates of the ubiquitin- and ATP-dependent proteolytic system // *J. Biol. Chem.*—1986.—261, N 7.— P. 3128—3134.
71. Liljenström H. Maintenance of accuracy during amino acid starvation // *FEBS Lett.*—1987.—223, N 1.— P. 1—5.

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

Получено 05.05.89

TRANSFER RNA AS A FACTOR OF THE PROTEIN HOMEOSTASIS REGULATION

B. S. Negrutskii

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

S u m m a r y

The problem on co-ordinate regulation of protein synthesis and degradation in eukaryotes is now among the most undeveloped and intriguing problems of protein homeostasis. Transfer RNA has been suggested to be one of the intracellular mediators in transfer of regulatory signals. The data concerning protein synthesis and degradation in cell extracts, cultures, perfused organs and intact animals during amino acid starvation are discussed.

It is concluded that tRNA participates in the elongation control, while initiation of the protein synthesis is supposed to be affected by other factors. The control mechanism of tRNA participation is discussed with description of a new model concerning deacylated tRNA effect on the elongation of polypeptide chains. The possible role of tRNA conformational changes within extreme states of the eukaryotic organism is considered.

The possibility of tRNA participation in the endogenous proteolysis regulation is analyzed. The attention is paid to the significance of tRNA functional state. Although the data reviewed do not provide much more insight into the mechanism of communication between protein synthesis and degradation in eukaryotes, they point directly to the possibility of tRNA involvement in such a cooperation.