

тРНК и аминоацил-тРНК синтетазы в реакциях, не связанных с синтезом белков на рибосомах

Г. Х. Мацука

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

Компоненты аппарата трансляции — аминоацил-тРНК синтетазы (АРСазы) — выполняют хорошо известную функцию, активируя аминокислоты и аминоацелируя тРНК. Это так называемая каноническая функция тРНК и АРСаз. Однако помимо канонической функции тРНК и АРСазы участвуют в ряде процессов, не связанных с классическими представлениями о функции этих соединений. Именно этим неканоническим свойствам тРНК и АРСаз посвящен данный краткий обзор.

Введение. Транспортные РНК (тРНК) и аминоацил-тРНК синтетазы (АРСазы), как известно, играют важную роль в биосинтезе белков. Функция тРНК сводится к тому, что вначале тРНК при участии АРСаз аминоацелируется специфической для нее аминокислотой с образованием аминоацил-тРНК (акцепторная функция тРНК), а затем тРНКовая часть этого соединения осуществляет адапторную функцию. Эта функция заключается в правильном узнавании тРНК соответствующего кодона матричной РНК (мРНК) и встраивании аминокислоты в синтезирующуюся белковую цепь информации, попадающей в рибосому и записанной в нуклеотидной последовательности мРНК. Таким образом тРНК выполняет функцию посредника (или адаптора) между кодовым словом и соответствующей ему аминокислотой. Выполняя акцепторную и адапторную функции, тРНК взаимодействует с большим числом белков. Прежде всего, это нуклеотидилтрансфераза, присоединяющая последовательность -ССА к 3'-концу молекулы тРНК, аминоацил-тРНК синтетаза, катализирующая аминоацелирование тРНК. Образовавшаяся аминоацил-тРНК, как известно, взаимодействует с белковыми факторами элонгации прокариот и эукариот. Инициаторная тРНК_F^{Met} в свою очередь взаимодействует с факторами инициации. Внутри рибосомы тРНК тесно контактирует с некоторыми рибосом-

ными белками (включая пептидилтрансферазу), связывающими аминокислоты в пептидные цепи. Эта полифункциональность тРНК описывается как каноническая функция тРНК. Она ограничивается лишь теми процессами, которые включают в себя биосинтез белка на рибосомах.

В то же время известны молекулярно-биологические процессы с участием тРНК, не имеющие отношения к биосинтезу белков на рибосомах. Эти функции получили название неканонических. Разнообразие неканонических функций тРНК довольно велико. Они, как правило, не связаны друг с другом. Одна из таких функций — перенос аминокислотных остатков в виде аминоацил-тРНК к различным акцепторам. Такой перенос осуществляют аминоацил-тРНК трансферазы. Это ферменты [1], катализирующие транспорт аминокислот к специфическим акцепторным молекулам без участия рибосом. Различают три класса акцепторных молекул: первый — белки и пептиды, второй — молекулы фосфатидилглицерола, являющиеся компонентами клеточных мембран, третий — молекулы N-ацетилмурамилпептида, участвующие в синтезе стенок бактериальных клеток. Первый класс молекул, представленный белками, может акцептировать аминокислоты в виде аминоацил-тРНК в присутствии двух ферментов: аргинил-тРНК протеинтрансферазы [2—5] и лейцил-фенилаланил-тРНК протеинтрансферазы [6]. Аргинил-тРНК протеинтрансфераза — растворимый фермент цитоплазмы. Обнаружен в клетках всех эукариот, в

том числе растений, некоторых органов млекопитающих и культурах клеток. В небольших концентрациях он обнаружен в ядрах и митохондриях [7]. Молекулярная масса фермента составляет 45—50 кДа [8]. Фермент существует в виде комплекса с другими белками. Аргинил-тРНК протеинтрансфераза специфически катализирует перенос остатка аргинина от аргинил-тРНК к белкам или пептидам со свободной NH_2 -группой, у которой N-концевая аминокислота представлена остатками аспарагиновой, глутаминовой кислот или цистеина. Фермент активен *in vitro* в присутствии моновалентных катионов и тиоловых соединений при оптимальном pH 7,8—9,8. Пурамицин, циклогексимид и ЭДТА не являются ингибиторами фермента.

Лейцил-фенилаланил-тРНК протеинтрансфераза — растворимый фермент некоторых грамотрицательных бактерий [6]. Фермент получен в высокоочищенном виде, но в абсолютно чистом виде его получить трудно в связи с его крайней нестабильностью, возрастающей по мере очистки. Центрифугирование в градиенте концентрации глицерола и гель-фильтрация дают разные значения молекулярной массы фермента, которая соответственно составляет 25 и 14 кДа.

Биохимический и генетический анализ показал [9], что лейцил-фенилаланил-тРНК протеинтрансфераза катализирует перенос лейцина, фенилаланина или метионина с аминоацил-тРНК на белки и пептиды, N-конец которых содержит остатки аргинина, лизина или гистидина. По некоторым данным, этот фермент может переносить также остатки триптофана с Trp-тРНК на белки [4]. Фермент частично может быть стабилизирован 0,12 М $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Каталитическая реакция переноса аминокислот требует присутствия моновалентных катионов и тиоловых соединений. Пурамицин и различные двухвалентные катионы ингибируют эту реакцию [10]. Интересно, что фермент переносит остатки метионина с тРНК^{Met}, но не с инициаторной тРНК_F^{Met}.

Второй класс акцепторных молекул представлен фосфатидилглицеролом бактерий. Аминоацил-тРНК трансфераза катализирует образование аминокислотных эфиров фосфатидилглицерола, являющихся компонентами клеточных мембран [11]. Фермент катализирует перенос лизина или аланина с тРНК на 3'-ОН-группу фосфатидилглицерола с образованием эфирной связи.

Третий класс акцепторных молекул представляет собой N-ацетилмурамилпептид, являющийся промежуточным продуктом в синтезе межпептидных мостиков стенки бактериальных клеток [12]. Реакции переноса аминокислот на мурамилпептид

инициируются аминоацилированием ϵ -аминогруппы остатков лизина одной пептидной цепи с последующим удлинением вследствие ферментативного аминоацилирования первичной α -аминогруппы до завершения образования пептидной связи с остатком D-аланина другой пептидной цепи в сложной молекуле пептидогликана. Известно, что другие тРНК также вовлекаются в синтез стенок бактерий, например, стафилококковая тРНК^{Gly}, однако механизм этого процесса неясен [13].

тРНК-подобные структуры вирусов и их возможная роль. Большое число РНК-содержащих вирусов у 3'-конца имеет тРНК-подобные структуры [14]. В 1970 г. впервые этот факт был установлен на вирусе желтой мозаики турнепса [15, 16].

Кинетические параметры аминоацилирования тРНК, находящихся в составе РНК вирусов, практически не отличаются от таковых свободных тРНК. Однако аминоацилированные тРНК-подобные структуры, как правило, не могут быть донорами аминокислот в системе трансляции *in vitro*. Транспортные РНК вирусов узнаются всеми ферментами, функционально связанными с тРНК: нуклеотидилтрансферазой, достраивающей АСС-концы, риботимидилметилтрансферазой, метилирующей неацилированные тРНК, а также фактором элонгации *EF-1*.

О роли тРНК вирусов известно крайне мало. В одной из гипотез постулируется, что аминоацилированный 3'-конец вирусной РНК может ингибировать синтез белков хозяина. Предполагают, что аминоацилированный конец РНК вируса может блокировать А-сайт рибосомы, когда в него попадает кодон соответствующей аминокислоты. При этом клетка, вероятно, лишается возможности синтезировать свои белки.

Предполагают также, что возможной ролью тРНК-подобных структур может быть участие в конкуренции за фактор элонгации *EF-1*. Эта реакция отличается от подобного процесса в клетке при связывании свободной аминоацил-тРНК с *EF-1*, так как аминоацилированная тРНК вируса не образует тройного комплекса (аминоацил-тРНК—*EF-1*—GTP): GTP не связывается. Комплекс получается двойной: аминокислот-тРНК—*EF-1*. тРНК вирусов, по-видимому, имеют важное значение: тРНК-подобные структуры обнаружены у РНК-содержащих вирусов растений, животных и бактерий, что наводит на мысль об общем механизме действия тРНК вирусов. Наиболее реальным может быть процесс репликации вирусов. Участие тРНК в этом процессе, скорее всего, возможно в случае сродства вирусной репликазы к вирусной тРНК (см. следующий раздел). Известно также, что не-

значительная модификация РНК вируса в области тРНК приводит к утрате инфекционности.

Участие тРНК в синтезе полинуклеотидов.
 Транспортные РНК, выполняющие роль затравки для ревертазы (РНК-зависимой ДНК-полимеразы). Известно, что ревертаза является ферментом, ответственным за синтез копий ДНК на РНК РНК-содержащих опухолевых вирусов. Описаны многие источники ревертазы. Однако наиболее изучены вирусы миелобластома птиц и вирус лейкемии мышей [17]. Ферменты этих источников имеют некоторые различия, но в основном они похожи. После инфицирования клеток ревертаза образует ДНК-копии вирусной РНК (кДНК). Ревертаза не инициирует синтеза ДНК *de novo*. Фермент присоединяет остатки дезоксирибонуклеозидтрифосфатов к предсуществующей заправке, которая представляет собой у вируса миелобластома птиц триптофановую тРНК (тРНК^{Trp}) [18], а у вируса лейкемии мышей — пролиновую тРНК (тРНК^{Pro}) [19]. Установлено, что 3'-конец каждой из этих тРНК вовле-

кается в синтез ДНК [20] в качестве затравки, вступая в прочный комплекс с РНК-матрицей.

Результаты сравнения первичных структур затравочных тРНК вирионов и клеток показали, что транспортные РНК (тРНК^{Trp} и тРНК^{Pro}), ассоциированные с вирионами, практически идентичны соответствующим транспортным РНК клеток, за исключением участка ГТΨСГ. Первичная структура одной из затравочной тРНК показана на рис. 1, из которого видно, что у вирусных тРНК в Т-петле находится необычная последовательность ГΨΨС. Нет никаких данных, свидетельствующих в пользу того, что ΨΨ-последовательность играет какую-либо роль в затравочной активности этих тРНК. Применяя методы химической модификации или специфического расщепления тРНК, было установлено, как тРНК^{Trp} и тРНК^{Pro} работают в качестве затравки. Области тРНК, связывающиеся с РНК вирусов, определяли с помощью обработки комплексов тРНК—РНК нуклеазами в условиях, позволяющих изолировать РНК—РНК-дуплексы

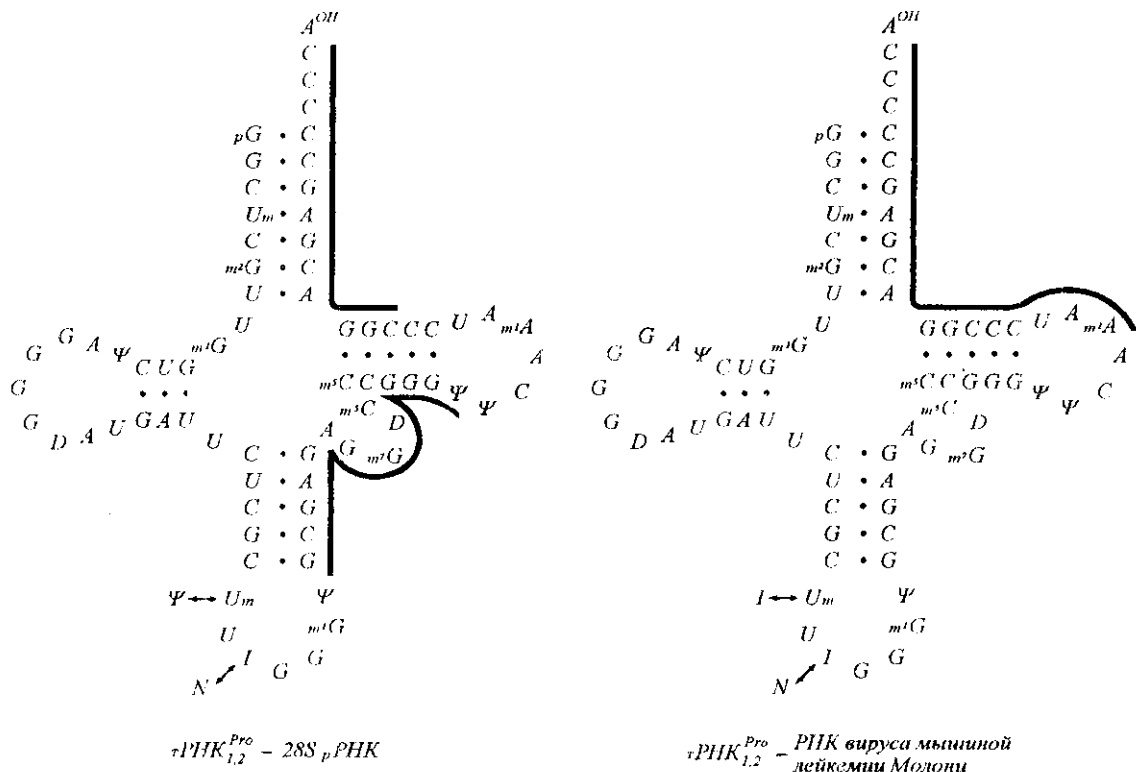


Рис. 1. Участки последовательности тРНК^{Pro}, ответственные за специфическое связывание с 28S рРНК мыши и РНК вируса мышиной лейкемии Молони [21]. Указаны фрагменты, защищенные от гидролиза нуклеазой при образовании комплекса

[21]. Согласно Корделлу и соавт. [21], для затравочной активности необходимо связывание 16—18 оснований тРНК от 3'-конца молекулы. Интересно, что концевой аденин (А) затравочной тРНК не вовлекается во взаимодействие с РНК вируса. Остальная часть молекулы тРНК не защищается в составе комплекса тРНК—РНК от РНКазного гидролиза. Однако участок от 5'-конца молекулы до m⁷A также необходим для затравочной функции [21]. Предполагают, что указанный участок может быть необходим и для взаимодействия с ревертазой или для контакта с другими участками вирусной РНК. Участки разных вирионных РНК, связывающиеся с затравочными тРНК, несколько различаются. Транспортная тРНК^{Pro} связывается на расстоянии 101 нуклеотида, начиная от 5'-конца вирусной РНК миеобластома птиц, а тРНК^{Trp} — на расстоянии 134 нуклеотидов от 5'-конца РНК вируса лейкоза мышей. На рис. 2 схематически изображено взаимодействие затравочной тРНК и РНК вируса. Синтез кДНК идет в направлении 3'→5'-матрицу вирусной РНК. Ревертаза вируса миеобластома птиц в силу специфичности взаимодействия с тРНК^{Trp} выбирает ее из суммарной тРНК. При этом из суммарного препарата фермент отбирает и тРНК^{Met}, и небольшое число тРНК^{Pro} [22]. Неспецифическая ревертаза может связывать многие другие тРНК [23]. Результаты опытов *in vitro* показали, что большая субъединица (молекулярная масса около 95 кДа) этого фермента вируса миеобластома птиц взаимодействует с тРНК^{Trp}, меньшая (молекулярная масса около 65 кДа) — нет [24]. Ингибиторы ревертазы, такие как N-этилмалеид и антитела к ферменту, препятствуют связыванию фермента с тРНК [24]. Интересно отметить, что аминокислотирование, окисление или

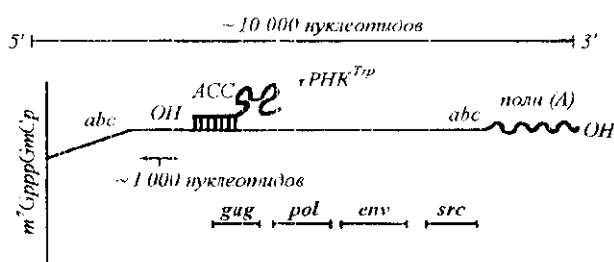


Рис. 2. Структура генома онкорнавируса птиц. Показаны порядок генов и положение тРНК-затравки [18]

удаление 3'-конца тРНК^{Trp} не влияют на ее связывание с ревертазой миеобластома птиц [24] в равной мере, как и расщепление антикодона петли. В то же время последовательность тРНК^{Trp} от 3'-конца до m⁷G и даже до антикодона важна для связывания с ферментом [24]. Связывание, однако, изменяется после денатурации тРНК^{Trp} и матрицы [25]. Ревертаза вируса лейкоза мышей в отличие от ревертазы вируса миеобластома птиц связывается с тРНК^{Pro} неспецифически [26].

Возможное участие тРНК в синтезе полинуклеотидов, не связанном с ревертазой. Имеются указания, что тРНК может участвовать в синтезе полинуклеотидов, не будучи затравкой, но способствуя репликации РНК-содержащих вирусов. Известно, что РНК-зависимые РНК-полимеразы (репликазы) работают на РНК многих РНК-содержащих вирусов. Обычным источником этого фермента являются клетки *Escherichia coli*, зараженные Q β -фагом, содержащим тРНК-подобную структуру. Специфичность фермента зависит от ионов марганца. Фермент состоит из четырех субъединиц. Одна из них (вторая) кодируется вирусным геномом, а три остальные имеют другое происхождение: первая субъединица идентична рибосомному белку 51, третья — бактериальному фактору элонгации *EF-Tu*, четвертая — фактору элонгации *EF-TS* [27].

Антивирусная активность тРНК. Существуют данные о том, что полинуклеотиды могут обладать антивирусной и антиопухольевой активностью, не связанной с индукцией интерферона [28]. В связи с этим было проведено изучение защитной роли тРНК при инфицировании мышей вирусом энцефаломиокардита (ВЭМ) [29]. Оказалось, что суммарный препарат тРНК *E. coli* может защищать животных от гибели при однократном его введении в брюшную полость за 6 ч до заражения (доза — до 1 мг). Однако при низкой инфицирующей дозе вируса положительный эффект наблюдается при введении препаратов в разные сроки в течение 24 ч после заражения. Суммарные препараты тРНК фирмы «Sigma» (США) и тРНК печени мышей обладали таким же эффектом (за исключением дрожжевых препаратов). Оказалось, что в суммарном препарате тРНК *E. coli* только сериновая тРНК обладала антивирусной активностью.

Интересно, что вирус энцефаломиокардита на 3'-конце содержит сериновую тРНК-подобную структуру [30]. Установлено, что в этом случае антивирусный эффект не был вызван индукцией интерферона, а также стимуляцией иммуноглобулинов. Высказано предположение, что введение тРНК активирует макрофаги. Это, вероятно, обеспечивает антивирусную активность, что пока не

находит экспериментального подтверждения. Механизм антивирусного действия непонятен. Можно лишь предположить, что на наблюдаемый эффект влияет определенная нуклеотидная последовательность независимо от того, какая это РНК (рРНК, тРНК и т. д.). Подобный вывод напрашивается исходя из того, что рРНК также защищает мышей от ВЭМ. Защитным действием обладали рибосомные РНК цыпленка, кишечной палочки и дрожжей.

Интересно, что 5S-РНК кишечной палочки не обладала антивирусной активностью [5]. Обработка рРНК нуклеазой Т не лишает препарат антивирусной активности, в то же время обработка рибонуклеазой А приводит к ее потере.

Регуляторная функция тРНК. Давно известно, что тРНК вовлекаются в регуляцию биосинтеза некоторых аминокислот у про- и эукариотических организмов. Этому посвящены некоторые обзоры [31, 32]. Получены прямые доказательства регуляторной роли тРНК в биосинтезе гистидина, триптофана, лейцина, изолейцина, валина, аргинина, метионина, треонина и глутамина. Однако только в нескольких случаях были определены точки приложения тРНК в регуляторном процессе: для гистидинового оперона *Salmonella typhimurium* и триптофанового оперона *E. coli*. Установлено, что тРНК может взаимодействовать с первым ферментом биосинтеза аминокислот и тем самым осуществлять регуляторную функцию, прерывая последующий синтез промежуточных продуктов. Известно также, что аминоацил-тРНК (или аминоацил-тРНК синтетаза) может взаимодействовать с регуляторной областью оперона, вызывая терминацию транскрипции на участке, расположенном перед первым структурным геном оперона.

Транспортные РНК участвуют также в регуляции синтеза необычных фосфорилированных нуклеотидов ppCpp и pppCpp, что, в свою очередь, связано с регуляцией синтеза аминокислот. Давно известен факт, что если для энтеробактерий создать условия аминокислотного голодания, то они сразу прекращают синтез рРНК. Это явление известно под названием «строгий ответ» (stringent response). У кишечной палочки ответственность за такой эффект несет ген *relA*, контролирующей синтез ppGpp и pppGpp [33, 34]. Мутация этого гена вызывает ослабление ответа, что позволяет клетке синтезировать РНК в условиях дефицита аминокислот. Необычные соединения (ppGpp и pppGpp), получившие название «магических» или «волшебных пятен» (magic spots), играют главную роль в механизме прекращения синтеза рРНК при аминокислотном голодании. Эти соединения синте-

зируются ферментом, ассоциированным на рибосоме и кодируемым геном *relA*. Для синтеза необходимо присутствие мРНК и деацелированной тРНК, связанной в А сайте рибосомы. Эти фосфорилированные нуклеотиды появляются в результате значительных изменений клеточного обмена. Необходимость тРНК для синтеза «магических пятен» неопытна; механизм неизвестен. Однако тРНК — триггер синтеза ppGpp и pppGpp.

Экспериментально доказано, что триггерным действием обладает только деацелированная тРНК и, вероятно, не вся молекула, а только определенная ее часть. Тетрануклеотид ТΨСГ может заменить тРНК в этой реакции. В результате экспериментов *in vivo* установлено также, что инициаторная тРНК_{F^{Met}} не вызывает образования ppGpp и pppGpp. Результаты экспериментов с мутантами кишечной палочки показали, что образование этих соединений не зависит от абсолютной концентрации свободных тРНК. Важным является отношение аминоацил : тРНК. Фосфорилированные нуклеотиды ppGpp и pppGpp обладают множественным действием, дифференциально контролируя синтез продуктов многих генов. Известно, что эти соединения депрессируют опероны, ответственные за синтез различных аминокислот, и в то же время репрессируют работу рибосомных оперонов.

Таким образом, тРНК, связанная с другими компонентами белоксинтезирующего аппарата, играет значительную роль в упомянутых процессах.

Адаптационная роль тРНК в клетке. Существует большое число работ, посвященных количественным и качественным изменениям тРНК в клетках при различных функциональных состояниях, в частности, эмбриогенезе, вирусной инфекции, развитии организма и т. д. При одном состоянии резко меняется количество тРНК в клетке, при другом — изоакцепторный спектр тех или других тРНК, а при третьем — и количественные характеристики, и изоакцепторные спектры тРНК [35]. Многие из этих изменений рассматриваются как результат выполнения регуляторной функции тРНК. Однако их, вероятно, следует именовать адаптационной функцией тРНК. Аппарат трансляции в целом и тРНК в частности очень быстро «приспосабливаются» к меняющимся условиям биосинтеза белка в клетке. Это видно при переходе молочной железы из состояния покоя в состояние лактации [35], синтезе фибрина шелка в шелкоотделительной железе, а также белков хрусталика глаза и т. д. Строго говоря, изменения качественных (изменения изоакцепторного спектра тРНК) и количественных характеристик тРНК не всегда следует рассматривать как выполнение ею регуля-

торной функции, поскольку далеко не во всех случаях обнаруживается обратная связь в качестве необходимого условия любой регуляторной функции.

К адаптационной (в отличие от адапторной) функции следует отнести, вероятно, и образование в клетках микроорганизмов, а также высших организмов биологически неактивных форм тРНК, появляющихся при некоторых экстремальных состояниях: голодании, постнатальном развитии, предынфарктном или инфарктном состоянии [1, 35, 36]. При этом тРНК обратимо меняет конформацию на уровне третичной структуры, утрачивая ионы магния.

тРНК и иммунная система. Полифункциональность тРНК, по-видимому, — достаточно распространенное и далеко не полностью изученное явление. Об этом свидетельствует неожиданно обнаруженное участие тРНК в образовании комплекса, формирующегося при аутоиммунном заболевании — полимиозите. Установлено, что антиген клеток млекопитающих (человека и мышей), реагирующий с антителом anti-J₀-1, содержит тРНК^{His}. Эта антигенная форма тРНК^{His} локализована преимущественно в цитоплазме клеток млекопитающих. Изучена ее первичная структура, преципитируемая антителом anti-J₀-1, для определения антигенности, однако причины не выяснены. Другие тРНК в комплексе не обнаружены [37].

Таким образом, тРНК помимо основных функций — адапторной — выполняют некоторые другие, называемые неканоническими. Разделение функций тРНК на основные и второстепенные условно. Неканонические функции тРНК в некоторых случаях недостаточно изучены, но то, что известно о них, свидетельствует, во-первых, о многообразии функций тРНК и, во-вторых, о важной роли этих молекул в живой природе. Помимо адапторной и акцепторной эти молекулы выполняют разнообразные регуляторные функции в биосинтезе аминокислот и белков, участвуют в посттрансляционной модификации белков, доставляя аминокислоты к N-концу белков и пептидов, участвуют также в синтезе бактериальных стенок, являются интегральной частью РНК-содержащих вирусов, затравкой в синтезе полинуклеотидов, играют, по-видимому, существенную роль в репликации вирусов, обладают антивирусными свойствами, выполняют адаптационную функцию в клетке (наряду с аминоацил-тРНКсинтетазами), приспособляя аппарат трансляции к меняющимся условиям биосинтеза белка в клетке, участвуют в делении клеток у прокариот, активируют действие некоторых ферментов, обратимо входят в состав

антигенов (тРНК^{His}). Это, скорее всего, не все изученные функции тРНК. Все, что известно о них, может быть основой для использования тРНК в их направленном воздействии на те или другие процессы, происходящие в клетках про- и эукариот.

Неканонические функции аминоацил-тРНК синтетаз. Упомянув о многофункциональности тРНК, нельзя обойти вниманием неканонические функции АРСаз. Эта необычная группа ферментов является самой многочисленной и участвует в реализации генетической информации. Каждая клетка содержит как минимум 20 разных по структуре АРСаз, объединенных общей функцией (активация аминокислот и их перенос на специфические тРНК). Молекулярная масса АРСаз варьирует в пределах от 40 до 400 кДа. Вариации четвертичной структуры не имеют аналогов среди других классов ферментов. Описаны такие типы АРСаз, как α_2 , α_1 , $\alpha_2 \beta_2$, α_4 . Каждая синтетаза имеет центр связывания с АТР, специфической аминокислотой и специфической тРНК.

На сегодня АРСазы прокариот изучены более детально, чем эукариот. Прокариотические АРСазы делятся на два класса, каждый из которых характеризуется соответствующими участками первичной структуры или так называемыми мотивами [38, 39]. Первый мотив имеет структуру ...-His-Pe-Gly-His-... . Эта последовательность находится, скорее всего, в центре АРСаз, связывающем АТР. Второй мотив ...-Lys-Met-Ser-Lys-Ser-... имеет отношение к центру активации аминокислот.

К первому классу отнесены АРСазы, имеющие вышеуказанные последовательности (мотивы). Синтетазы этого класса образуют так называемую свертку Россмана. Все АРСазы первого класса присоединяют остатки аминокислот к 2'-ОН рибозы конечного аденозина -ССА-конца тРНК. Большинство АРСаз имеет структуры α -типа.

Второй класс АРСаз прокариот не содержит упомянутых мотивов и не образует свертки Россмана. В отличие от первого АРСазы второго класса присоединяют остатки аминокислот к 3'-ОН рибозы конечного аденозина -ССА-конца тРНК. Основная пространственная структура АРСаз второго класса α_2 .

АРСазы первого и второго классов делятся еще на подклассы — А, В, С (таблица).

АРСазы, как и тРНК, выполняют ряд неканонических функций, которые описаны в обзоре [40].

Известно, например, что интерфероны (α , β , γ) вызывают в клетках высших организмов разнообразные биологические изменения. Достаточно напомнить, что интерфероны индуцируют экспрессию

Классификация аминоксил-тРНК синтетаз

Специфичность АРСаз		Пространственная структура		Количество аминокислотных остатков		Субкласс	
I	II	I	II	I	II	I	II
Leu	His	α	α_2	860	424	A	A
Ile	Pro	α	α_2	939	572	A	A
Val	Ser	α	α_2	951	430	A	A
Cys	Thr	α	α_2	461	642	A	A
Met	Asp	α_2	α_2	677	590	A	B
Glu	Asn	α	α_2	471	466	B	B
Gln	Lys	α	α_2	553	505	B	B
Arg	Gly	α	$\alpha_2\beta_2$	577	303 (α), 689 (β)	B	C
Tyr	Ala	α_2	α_4	424	875	C	C
Trp	Phe	α_2	$\alpha_2\beta_2$	334	327 (α), 795 (β)	C	C

тРНК \approx АК (2'-OH) тРНК \approx АК (3'-OH)

более чем 30 генов. Интересно, что один из генов, индуцируемых интерфероном, является геном триптофанил-тРНК синтетазы. В отличие от других триптофановых аминоксил-тРНК синтетаз млекопитающих этот фермент катализирует синтез диаденозинтрифосфатов Ar_3A и Ar_4A [41]. Эти нуклеозидолигосахариды образуются при взаимодействии аденилатов аминокислот с ADP и ATP соответственно. Попытки выяснить роль Ar_4A и Ar_3A в клетках не дали никаких результатов. Считают, что накопление Ar_3A является стрессовым сигналом для клетки. Возможно также, что это соединение вызывает транскрипцию соответствующих генов. Как бы там ни было, но имеет место новая необычная альтернативная функция триптофановой аминоксил-тРНК синтетазы. Известно также, что некоторые АРСазы блокируют активность генов, у которых закодирована первичная структура тех же АРСаз. То есть АРСазы способны выполнять ауторегуляторную роль в своем биосинтезе.

Описана новая функция аминоксил-тРНК синтетаз в процессинге РНК-транскриптов. Дрожжевая митохондриальная лейцил-тРНК синтетазы включается в механизм сплайсинга двух интронов [42]. Механизм участия этой синтетазы в сплайсинге не выяснен [43]. В то же время показано, что тирозил-тРНК синтетазы *Nicotiana crassa* (белок Cyt-18) прочно связывается с различными интро-

нами группы I. Эти участки РНК конкурируют с тРНК^{Tyr} за связывание с тирозил-тРНК синтетазой и ингибируют аминокислотирование тРНК^{Tyr}, что указывает на тРНК-подобную конформацию этих сегментов РНК. Предполагают, что роль тирозил-тРНК синтетазы заключается в стабилизации конформации кода интрона. Таким образом, функция тирозил-тРНК синтетазы состоит только в связывании с РНК и не затрагивает каталитической функции этой синтетазы. Обращает на себя внимание тот факт, что тирозил-тРНК синтетазы связываются с I группой коровых интронов сильнее, чем со своей тРНК^{Tyr}.

Поскольку тирозил-тРНК синтетазы обладают сплайсинговой активностью в отношении всех митохондриальных интронов группы I, это может свидетельствовать об обязательном участии ее в сплайсинге митохондриального генома [44].

Интересно, что только лейцил- и тирозил-тРНК синтетазы участвуют в сплайсинге митохондриальной РНК.

Известны и другие неканонические функции аминоксил-тРНК синтетаз. В регуляторной области некоторых бактериальных мРНК, таких как аттенуаторная зона гистидинового оперона и регуляторный регион треонил- и метионил-тРНК синтетаз *E. coli*, обнаружены тРНК-подобные структуры. Треонил-тРНК синтетазы узнают эту структуру, в результате чего образуется комплекс мРНК—трео-

нил-тРНК синтетаза, відповідальний за контроль трансляції. При виникненні мутації в тРНК-подібній структурі мРНК контроль трансляції зникає. Регуляторна функція треонил-тРНК синтетази *E. coli* не пов'язана з її аміноацилюючою активністю. Інтересно, що мРНК треонил-тРНК синтетази людини не має тРНК-подібної структури. Відокремлені спостереження свідчать про можливість втягнення деяких АРСаз млекопитаючих в утворення комплексу з своїми мРНК. Відомо, що серил-тРНК синтетаза асоціюється з мРНК-частинками в мишійних клітках [45], а N-термінальний кінець Glu-, Pro-АРСази людини специфічно взаємодіє з 3'-нетранскрибованою послідовністю відповідної мРНК. Однак залишається невідомим, впливає чи асоціація серинових і Glu-, Pro-АРСаз з своїми мРНК на стабільність чи трансляцію цих мРНК.

Неканонічні функції деяких АРСаз відомі давно [46]. В частині, розщеплення глікозильної зв'язі 5-бромуридина ізольційл-тРНК синтетазою *E. coli*, яка також може розщеплювати уридин з утворенням урацила і рибози. Було встановлено, що аланіл- і валіл-тРНК синтетази *E. coli*, триптофаніл-тРНК синтетаза піджелудочної залози бика і лизил-тРНК синтетаза печінки кролика також можуть розщеплювати 5-бромуридин. Біологічна функція розщеплення глікозильної зв'язі АРСазами не встановлена.

Триптофаніл-тРНК синтетаза млекопитаючих має ще одну неканонічну функцію. Вона каталізує розщеплення АТФ і GTP з утворенням відповідно ADP і GDP. Ця реакція активується Mg^{2+} і гальмується Zn^{2+} . Значення цих реакцій не встановлено [47].

Серед неканонічних функцій АРСаз слід згадати про метіоніл-тРНК синтетазу прокаріотів, яка активує гомоцистеїн, являючийся проміжним продуктом в біосинтезі метіоніну. Ця активація здійснюється через утворення аденилату. Гомоцистеїніладенилат легко циклізує в гомоцистеїнтиолактон з осво-бодженням вільного АМР [48].

Г. Х. Мадука

тРНК і аміноацил-тРНК синтетази у реакціях, не пов'язаних з синтезом білків на рибосомах

Резюме

Компоненти апарату трансляції — аміноацил-тРНК синтетази (АРСази) — виконують добре відому функцію: активують амінокислоти та аміноацилюють тРНК. Це так звана канонічна функція тРНК і АРСаз. Однак крім канонічної функції тРНК і АРСази беруть участь у ряді процесів, не

пов'язаних з класичними уявленнями про функції цих сполук. Саме цим неканонічним властивостям тРНК і АРСаз присвячено даний огляд.

G. Kh. Matsuka

Functions of tRNAs and aminoacyl-tRNA synthetases not related to ribosomal protein synthesis

Summary

Activation of amino acids and tRNAs aminoacylation are well known functions of aminoacyl-tRNA synthetases - the components of translation apparatus. This is so-called canonical function of tRNA and aminoacyl-tRNA synthetases. However besides mentioned above tRNAs and aminoacyl-tRNA synthetases participate in some processes not related to the traditional views on the function of these compounds. This brief review is just focused on these non canonical properties of tRNAs and aminoacyl-tRNA synthetases.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лукошицький Л. Ю., Родовичюс М. И., Коваленко В. И. и др. тРНК- и аміноацил-тРНК-синтетази печінки кроликів при експериментальному інфаркті міокарда // Вопр. мед. химии.—1983.—29, N 4.—С. 65—69.
2. Kaji H., David-Novelli G., Kaji A. A soluble amino acid-incorporating system from rat liver // Biochim. et biophys. acta.—1963.—16, N 3.—P. 474—477.
3. Kaji A., Kaji H., David-Novelli G. A soluble amino acid incorporating system. Preparation of the system nature of the reaction // J. Biol. Chem.—1965.—240, N 3.—P. 1185—1191.
4. La Rossa R., Soil D. Other roles of tRNA // Transfer RNA.—Cambridge: MIT, 1978.—P. 90—110.
5. Softer R. L. Aminoacyl-tRNA-protein transferases, A novel class of enzymes catalyzing peptide bond formation // Trans. N. Y. Acad. Sci.—1970.—32, N 2.—P. 984—990.
6. Faras A. J., Dahiberg J. E., Sawyer R. C. et al. Transcription of DNA from the 70S RNA of Rous sarcoma virus. II. Structure of a 4S RNA primer // J. Virol.—1974.—13, N 5.—P. 1134—1142.
7. Softer R. L. Aminoacyl-tRNA transferases // Adv. Enzymol.—1974.—40.—P. 91—139.
8. Stebbing N., Grantham C. A., Kaminski F., Lindley J. D. Protection of mice against encephalomyocarditis virus infection by preparations of transfer // J. Gen. Virol.—1977.—34, N 1.—P. 73—85.
9. Temin H. M. Mechanism of cell transformation by RNA tumor viruses // Ann. Rev. Microbiol.—1971.—25.—P. 609—648.
10. Leibowitz M. L., Softer R. L. Purification and properties of leucyl phenylalanyl-tRNA-protein transferase from *Escherichia coli* // J. Biol. Chem.—1970.—245, N 8.—P. 2066—2073.
11. Lennarz W. J. Studies on the biosynthesis and function of lipids in bacterial membranes // Account Chem. Res.—1972.—5, N 7.—P. 361—370.
12. Strominger J. L. Penicillin-sensitive enzymatic reactions in bacterial cell wall synthesis // Harvey Lect.—1970.—64, N 2.—P. 179—188.
13. Stewart A. G., Grantham C. A., Dawson K. M., Stebbing N. The antiviral activity of ribosomal polynucleotides against encephalomyocarditis virus infection of mice // Arch. Virol.—1980.—66, N 2.—P. 283—290.
14. Heanni A. L., Chapeville F. tRNA-like structure in viral RNA genomes // Transfer RNA: Biological aspects.—New York: Cold Spring Harbor Lab., 1980.—P. 539—556.
15. Pink M., Vot P., Chapeville F., Duranton H. Enzymatic

- binding of valine to the 3'-end of TYMV RNA // Nature.—1970.—226, N 6.—P. 954—956.
16. *Vot P., Pinck P. M., Haenni A. L. et al.* Valine-specific tRNA-like structure in turnip yellow mosaic virus RNA // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1970.—67, N 3.—P. 1345—1352.
 17. *Unburger H. E.* Comments on the role of aminoacyl-tRNA in the regulation of amino acid biosynthesis // Transfer RNA: Biological aspects.—New York: Cold Spring Harbor Lab., 1980.—P. 453—467.
 18. *Waters L. C., Mullin B. C., Ho T., Yang W. K.* Ability of triptophan tRNA to hybridize with 35S RNA of avian myeloblastosis virus and prime reverse transcription *in vitro* // Ibid.—1975.—72, N 6.—P. 2155—2159.
 19. *Beveci E., Rothenbach J., Ryan A.* Studies on mutant of *Escherichia coli* with unbalanced ribonucleic acid synthesis // J. Bacteriol.—1956.—71, N 2.—P. 318—323.
 20. *Huseltine V. A., Panet A., Smoler D. et al.* Interaction of triptophan tRNA and avian myeloblastosis virus reverse transcriptase: further characterization of the binding reaction // Biochemistry.—1977.—16.—P. 3625—3632.
 21. *Cordell B., Swanstrom R., Goodman H.M., Bishop I. M.* tRNA as primer for RNA-directed DNA polymerase structural determinant of function // J. Biol. Chem.—1979.—25, N 6.—P. 1866—1874.
 22. *Rosa M. D., Hendic J. P., Lerner J. M. R., Stertz A. A.* mammalian tRNA^{His}-containing antigen is recognized by the polyomiosis specific antibody anti-J₀-1 // Nucl. Acids Res.—1983.—10, N 3.—P. 853—870.
 23. *Cordell B., Stavnezer E., Friedrich R. et al.* Nucleotide sequence that binds primer for DNA synthesis to the avian sarcoma virus genome // J. Virol.—1976.—19, N 2.—P. 548—558.
 24. *Kaji A., Kaji H., David-Novelli G.* A soluble amino acid-incorporating system // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1963.—10, N 5.—P. 406—409.
 25. *Dentch C. F., Scatpullo R. C., Softer R. L.* Posttranslational NH₂-terminal aminoacylation // Curr. Top. Cell Regul.—1978.—13.—P. 1—10.
 26. *Panet A., Haeeltine W. A., Baltimore D. et al.* Specific binding of triptophan tRNA to avian myeloblastosis virus RNA-dependent DNA-polymerase (reverse transcriptase) // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1975.—72, N 7.—P. 2535—2539.
 27. *Panet A., Berliner H.* Binding of tRNA reverse transcriptase of RNA tumor viruses // J. Virol.—1978.—26, N 2.—P. 214—220.
 28. *Швед А. Д.* Антивирусные свойства полинуклеотидов, не связанные с индукцией интерферона // Микробиол. журн.—1982.—44, № 3.—С. 75—85.
 29. *Stewart T. S., Roberta R. J., Strominger J. L.* Novel species of tRNA // Nature.—1971.—230, N 5288.—P. 36—38.
 30. *Lindley J. D., Stebbing N.* Aminoacylation of encephalomyocarditis virus RNA // J. Gen. Virol.—1977.—34, N 1.—P. 177—182.
 31. *Litvak S., Tarrago-Litvak P., Allende J. A.* Elongation factor-viral genome interaction dependent on the aminoacylation of TYMV and TMV RNAs // Nat. New Biol.—1973.—241, N 105.—P. 88—90.
 32. *Verma I. M.* The reverse transcriptases // Biochim. et biophys. acta.—1977.—473, N 1.—P. 1—38.
 33. *Cashel M.* The control of ribonucleic acid synthesis in *Escherichia coli* cold. IV. Relevance of unusual phosphorylated compounds from amino acid-starved stringent RecAins // J. Biol. Chem.—1969.—244, N 12.—P. 3133—3141.
 34. *Cavalieri L. F., Yamomura J. E.* Coli tRNAs inhibitors of viral reverse transcription of Rous sarcoma virus RNA // Nucl. Acids Res.—1975.—2, N 8.—P. 2315—2320.
 35. *Мацука Г. Х., Бабий Т. П., Скеирская Э. Б., Овчаренко Г. В.* Биологически неактивные тРНК печени животных // Биохимия.—1973.—38, № 6.—С. 1221—1227.
 36. *Мацука Г. Х., Ельская А. В., Коваленко М. И., Корнелюк Л. И.* Транспортные РНК.—Киев: Наук. думка, 1976.—219 с.
 37. *Scatpullo R. C., Dentch C. E., Softer R. L.* Transfer of methionyl residues by leucyl, phenylalanyl-tRNA-protein transferase // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1976.—23, N 2.—P. 584—589.
 38. *Cusack S., Berthen-Colominas C., Hartlein M. et al.* A second class of synthetase structure revealed by X-ray analysis of *Escherichia coli* seryl-tRNA synthetase at 2,5 Å // Nature.—1990.—347.—P. 249—255.
 39. *Eriani G., Delarue M., Poch O. et al.* Partition of tRNA synthetases into two classes based on mutually exclusive sets of sequence motifs // Ibid.—P. 203.
 40. *Kisselev L., Wolfson A.* Aminoacyl-tRNA synthetases from higher eukaryotes // Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.—1994.—48.—P. 86.
 41. *Вартамян А. А., Турнаев К. Т., Наровлянский А. Н. и др.* Интерфероны вызывают накопление диаденозинтрифосфата (Ар₃А) в культуре моноцитов человека // Докл. РАН.—1995.—344.—С. 252—255.
 42. *Herbert C. J., Labouesse M., Dujardin G., Slonimski P. P.* The NAM2 proteins from *S. cerevisiae* and *S. douglasii* are mitochondrial leucyl-tRNA synthetases, and are involved in mRNA splicing // EMBO J.—1988.—7.—P. 473.
 43. *Kittle J. D., Mohr Jr. G., Gianelos J. A. et al.* The *Neurospora* mitochondrial tyrosyl-tRNA synthetase is sufficient for group I intron splicing *in vitro* and uses the carboxy-terminal tRNA-binding domain along with other regions // Genes Develop.—1991.—5.—P. 1009.
 44. *Guo Q., Lambowitz A.* A tyrosyl-tRNA synthetase binds specifically to the group I intron catalytic core // Ibid.—1992.—6.—P. 1357.
 45. *Misetat A., Woodley C. I., Greenberg J. R., Slobin L. I.* Mammalian seryl-tRNA synthetase associates with mRNA *in vivo* and has homology to elongation factor 1α // J. Biol. Chem.—1991.—266.—P.
 46. *Koontz S., Schimmel P.* Aminoacyl-tRNA synthetase-catalyzed cleavage of the glycosidic bond of 5-halogenated uridines // Ibid.—1979.—254.—P. 12277.
 47. *Ковалева Г. К., Тарусова Н. Б., Киселев Л. Л.* Гидролитическая активность бычьей триптофанил-тРНК-синтетаза, вызванная удалением иона Zn²⁺ // Молекуляр. биология.—1988.—22, № 5.—С. 1307.
 48. *Jakubowski H.* Proofreading *in vivo*: editing of homocysteine by methionyl-tRNA synthetase in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // EMBO J.—1991.—10.—P. 593.

Поступила в редакцию 09.06.98