

Роль гидролиза АТР в рибосомном цикле элонгации у высших эукариот

А. И. Серебряник, А. В. Ельская

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

Проведен краткий обзор литературных и собственных данных по сравнению АТРаза 80S рибосом и EF-3 дрожжей. Показано принципиальное сходство их основных свойств и обсуждена их роль в биосинтезе белка у эукариот. Рассмотрен вопрос о значении гидролиза АТР в рибосомном цикле элонгации.

Известно, что цикл элонгации полипептидной цепи на рибосоме промотируется двумя белковыми факторами (EF-Tu, EF-G у прокариот и EF-1, EF-2 у эукариот). EF-Tu и eEF-1 играют ведущую роль в кодон-зависимом связывании аминоктил-тРНК с А-сайтом рибосомы, в то время как EF-G и eEF-2 катализируют транслокацию пептидил-тРНК из А- в Р-сайт [1, 2]. Было показано, что все эти факторы для своего функционирования используют исключительно GTP.

Однако оказалось, что рибосомные системы из различных видов грибов содержат еще один дополнительный растворимый фактор, названный EF-3, функционирование которого существенно для стадии элонгации [3]. В отличие от двух вышеупомянутых факторов, EF-3 обладает слабой АТР/GTPазной активностью, которая на несколько порядков увеличивается в присутствии рибосом, и способен гидролизовать другие NTP [4]. Детальное изучение участия EF-3 в цикле элонгации выявило два основных эффекта, связанных с его присутствием в системе трансляции: 1) стимуляцию связывания тройного комплекса с А-сайтом рибосомы в пост-транслокационном состоянии и 2) усиление диссоциации деацилированной тРНК с Е-сайта рибосомы [5].

Особый интерес представляют рибосомы из низших эукариот *Tetrahymena pyriformis*, обладающие прочно связанной АТР/GTPазной активностью, близкой по некоторым параметрам к дрожжевой EF-3 АТРаза [6]. Важно отметить, что антитела к

EF-3 ингибируют как АТРазную, так и полифенилаланин-синтезирующую активность рибосом *Tetrahymena*. Влияние АТР проявлялось в стимуляции связывания аминоктил-тРНК.

Что касается наличия NTPазной активности, прочно связанной с рибосомами высших эукариот, то эта проблема впервые была затронута еще в 1974 году в работе [7]. Из рибосом печени крысы был выделен 5S РНК-белковый комплекс, обладающий как GTPазной, так и АТРазной активностью. Однако дальнейшего развития эта работа не получила и никаких доказательств функциональной роли обнаруженной АТРазной активности найдено не было. Нами была изучена способность высокоочищенных 80S рибосом различного происхождения (из печени быка, печени крысы и ретикулоцитов кролика) гидролизовать АТР и GTP [8]. Было обнаружено, что реакция гидролиза АТР протекает довольно эффективно в присутствии всех рибосомных препаратов и достигает уровня гидролиза 10—20 молекул АТР на одну рибосому за минуту инкубации. Серия контрольных экспериментов показала, что АТРазная активность присутствуета самой рибосоме, а не связана с примесями белковых факторов или шаперонов в рибосомных препаратах. Обнаружены по меньшей мере три свойства, общие для АТРаза рибосом печени кроля и дрожжевого EF-3, имеющие принципиально важный характер: 1) широкая субстратная специфичность как одно из определяющих отличий от остальных факторов трансляции; 2) ингибирование ванадатом аммония — классическим ингибитором АТРаза протонных насосов; 3) наличие двух активных центров рибосомной АТРаза, соответствующую-

ших двум АТФ-связывающим участкам в структуре EF-3. Известно, что у эукариотической рибосомы нет белка, который по своим размерам соответствует EF-3 (115 кДа). Однако не исключено, что рибосомный аналог EF-3 состоит из двух полипептидных цепей или что АТФазной активностью обладают белки, общие для двух рибосомных субъединиц, и расположенные между ними. Недавние исследования японских ученых показали важную роль 5S РНП комплекса малой субчастицы 80S рибосом печени крыс для гидролиза АТФ. Интересно, что интактность 18S рРНК необходима для стимуляции рибосомной АТФазной активности в присутствии свободной или аминоацелированной тРНК [9].

Изучение роли рибосомной АТФазы показало, что она участвует в контроле функционирования А-сайта подобно дрожжевому EF-3. Этому выводу противоречит работа по изучению АТФазной активности рибосом печени свиньи [10], однако, по нашему мнению, в ней допущены серьезные методические просчеты. Дальнейшие исследования [11] подтвердили, что АТФазная активность 80S рибосом высших эукариот, как и EF-3 дрожжей, существенно необходима для диссоциации деацелированной тРНК с Е-сайта и для EF-1А-зависимого связывания аминоацил-тРНК с А-сайтом рибосомы. Таким образом, есть все основания полагать, что эти две АТФазы выполняют близкие функции в процессе трансляции, в частности, стимулируют переход рибосомы из пост- в претранслокационное состояние. Не исключено, что гидролиз АТФ рибосомой может быть также существенным для повышения точности биосинтеза белка. Об этом, в частности, свидетельствуют данные, полученные японскими исследователями на рибосомах *T. pyriformis* [6], однако для окончательного решения этого вопроса требуется проведение дальнейших исследований.

Чрезвычайно интересным является вопрос, почему, в отличие от первых двух белковых факторов трансляции, EF-3 дрожжей и его аналог в составе 80S рибосомы используют для своего функционирования энергию, освобождающуюся при гидролизе АТФ, а не ГТФ. Возможно, что использование в рибосомном цикле элонгации обоих макроэргов отражает тот факт, что оптимальный уровень биосинтеза белка наблюдается лишь при сбалансированности содержания АТФ и ГТФ в эукариотической клетке.

О. И. Серебряник, Г. В. Ельська

Роль гидролізу АТФ у рибосомному циклі елонгації у вищих еукариот

Резюме

Проведено короткий огляд літературних та власних даних

щодо порівняння АТФаз 80S рибосом та EF-3 дріжджів. Показано принципову подібність їхніх основних властивостей та обговорено їх роль у біосинтезі білка у еукариот. Розглянуто питання про значення гідролізу АТФ у рибосомному циклі елонгації.

A. I. Serebryanik, A. V. El'skaya

A role of ATP hydrolysis in the ribosomal elongation cycle of higher eukaryotes

Summary

A comparative analysis of yeast EF-3 ATPase and 80S ribosomal ATPase of higher eukaryotes is presented. A principal similarity of their main properties is shown and a role of these ATPases in protein biosynthesis is reviewed. A functional meaning of ATP hydrolysis in the ribosomal elongation cycle is discussed.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Moldave K. Eukaryotic protein synthesis // *Ann. Rev. Biochem.*—1985.—54.—P. 1109—1149.
2. Nygard O., Nilsson L. Translational dynamics. Interactions between the translation factors, tRNA and ribosomes during eukaryotic protein synthesis // *Eur. J. Biochem.*—1990.—191, N 1.—P. 1—17.
3. Dasmahapatra B., Chakraburty K. Protein synthesis in yeast. I. Purification and properties of elongation factor 3 from *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Biol. Chem.* 1981.—256, N 19.—P. 9999—10004.
4. Miyazaki M., Uritani M., Kagiama H. The yeast elongation factor 3 carries an active site for ATP hydrolysis, which interact with various NTP // *J. Biochem.*—1988.—194, N 3.—P. 445—450.
5. Triana F. J., Nierhaus K. H., Ziehler J., Chakraburty K. Defining the functions of EF-3, a unique elongation factor in low fungi // *The Translation Apparatus. Structure, function, regulation, evolution* / Eds Nierhaus K. et al.—New York: Plenum press, 1993.—P. 327—338.
6. Miyazaki M., Kagiama H. Soluble factor requirements for the *Tetrahymena* peptide elongation system and the ribosomal ATPase as a counterpart of yeast elongation factor 3 (EF-3) // *J. Biochem.*—1990.—108, N 6.—P. 1001—1008.
7. Grummt F., Grummt I., Erdmann V. A. ATPase and GTPase activities isolated from rat liver ribosomes // *Eur. J. Biochem.*—1974.—43, N 3.—P. 343—348.
8. Rodnina M. V., El'skaya A. V., Semenenkov Y. P., Kirillov S. V. Interaction of tRNA with the A and P sites of rabbit liver 80S ribosomes and their 40S subunits // *Ibid.*—1989.—185, N 3.—P. 563—569.
9. Ogata K., Ohno R., Terao K., Iwasaki K., Endo Y. ATPase associated with ribosomal 30S-5S RNP particles and 40S subunits of rat liver // *J. Biochem.*—1998.—123, N 2.—P. 294—304.
10. Koval'chuk O., Chakraburty K. Comparative analysis of ribosome-associated ATPase from pig liver and the ATPase of elongation factor 3 from *S. cerevisiae* // *Eur. J. Biochem.*—1994.—226, N 1.—P. 133—140.
11. El'skaya A., Ovcharenko G., Palchevskii S., Petrushenko Z., Triana-Alonso F., Nierhaus K. Three tRNA binding sites in rabbit liver ribosomes and role of the intrinsic ATPase in 80S ribosomes from higher eukaryotes // *Biochemistry.*—1997.—36.—P. 10492—10497.

УДК 577.217.34

Поступила в редакцию 16.02.99