



УДК 577.2.01:577.217.36

## ТРАНСЛЯЦИЯ ПРИРОДНЫХ мРНК. 2. КИНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРАНСЛЯЦИИ НАБОРОВ РАЗНЫХ мРНК

А. П. Потапов, А. В. Ельская

В силу многокомпонентности аппарата трансляции скорость биосинтеза белка является сложной функцией многих переменных [1—3]. При этом *in vivo* одновременно на разных мРНК синтезируются многие белки, скорости и пропорции образования которых в клетке определенным образом регулируются [4—7]. Вопрос о принципах и конкретных механизмах подобной регуляции остается открытым.

Ранее нами был проведен общий кинетический анализ процесса трансляции одной мРНК и получены аналитические выражения, связывающие скорость образования белкового продукта с кинетическими характеристиками считывания отдельных кодонов матрицы [8]. В настоящей работе рассмотрен более общий случай трансляции набора разных мРНК с целью выявления особенностей стационарной кинетики этого процесса и возможностей регуляции синтеза индивидуальных белков.

Кинетика трансляции наборов разных мРНК. Граф трансляции набора разных мРНК в режиме стационарности представлен на рисунке. Он складывается из ряда подграфов, описывающих трансляцию мРНК сортов  $\alpha, \beta, \gamma, \dots, \omega$ . Узлы подграфов соответствуют кодонам в порядке их считывания рибосомами.  $r_i$  — стационарная концентрация рибосом, находящихся в положении считывания  $(i+1)$ -го кодона.  $v_i$  — удельная скорость считывания  $i$ -го кодона, определяемая как скорость прочтения этого кодона при концентрации считывающих его рибосом 1 М.  $v_1$  — удельная скорость инициации трансляции.  $v_{n+1}$  — удельная скорость терминации, сопряженной с высвобождением синтезированного белкового продукта  $P$ . Подграфы объединены общим узлом 0, характеризующим свободное от мРНК состояние рибосом.  $r_0$  — стационарная концентрация свободных рибосом, способных участвовать в акте инициации трансляции.

В соответствии с теорией направленных графов [9], скорость образования индивидуальных белковых продуктов трансляции, например  $P_\alpha$ , для данного графа описывается выражением

$$V_\alpha = \frac{d(P_\alpha)}{dt} = \left( \sum_i r_i \right) \frac{v_{\alpha n+1} D_{\alpha n}}{\sum_i (D_{\alpha i} + D_{\beta i} + D_{\gamma i} + \dots + D_{\omega i})}, \quad (1)$$

где  $D_{\alpha i}, D_{\beta i}, D_{\gamma i}, \dots, D_{\omega i}$  — определители  $i$ -х узлов графа. Согласно алгоритму нахождения определителей [9], имеем:

$$D_{\alpha i} = \frac{\prod (v_{\alpha i} v_{\beta i} v_{\gamma i} \dots v_{\omega i})}{v_{\alpha i+1} v_{\beta i} v_{\gamma i} \dots v_{\omega i}};$$

$$D_{\beta i} = \frac{\prod (v_{\alpha i} v_{\beta i} v_{\gamma i} \dots v_{\omega i})}{v_{\alpha 1} v_{\beta 1} v_{\gamma 1} \dots v_{\omega 1}};$$

$$D_{\gamma i} = \frac{\prod (v_{\alpha i} v_{\beta i} v_{\gamma i} \dots v_{\omega i})}{v_{\alpha 1} v_{\beta 1} v_{\gamma 1} \dots v_{\omega 1}};$$

. . . . .

$$D_{\omega i} = \frac{\prod (v_{\alpha i} v_{\beta i} v_{\gamma i} \dots v_{\omega i})}{v_{\alpha 1} v_{\beta 1} v_{\gamma 1} \dots v_{\omega 1}}.$$
(2)

В итоге получаем выражения для абсолютных скоростей синтеза различных белковых продуктов:

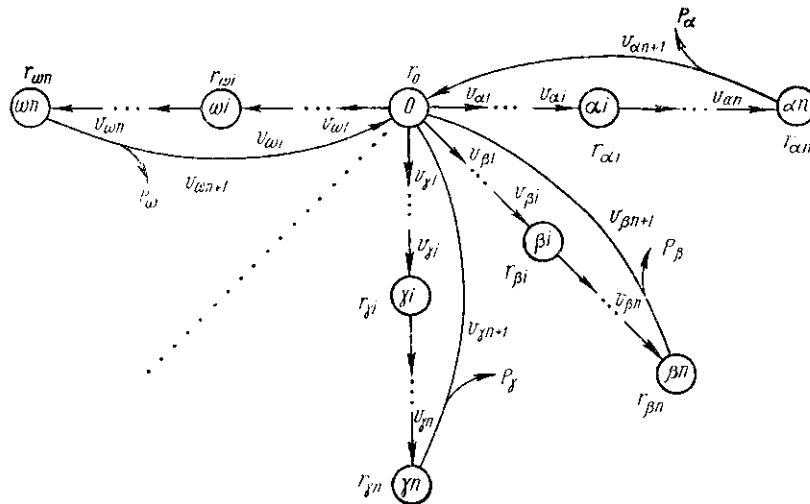
$$V_{\alpha} = v_{\alpha 1} A; V_{\beta} = v_{\beta 1} A; V_{\gamma} = v_{\gamma 1} A; \dots; V_{\omega} = v_{\omega 1} A;$$

$$A = \left( \sum_i r_i \right) \left[ \sum_i \left( \frac{v_{\alpha 1}}{v_{\alpha i}} + \frac{v_{\beta 1}}{v_{\beta i}} + \frac{v_{\gamma 1}}{v_{\gamma i}} + \dots + \frac{v_{\omega 1}}{v_{\omega i}} \right) \right]^{-1}. \quad (3)$$

Согласно (3), скорости трансляции мРНК каждого вида находятся в тесной взаимосвязи и определяются свойствами кодонов всех мРНК системы. При этом свойства инициаторных кодонов особо важны. Прежде всего, соотношение скоростей образования индивидуальных продуктов полностью определяется соотношением удельных скоростей инициации трансляции соответствующих матриц:

$$V_{\alpha} : V_{\beta} : V_{\gamma} : \dots : V_{\omega} = v_{\alpha 1} : v_{\beta 1} : v_{\gamma 1} : \dots : v_{\omega 1}. \quad (4)$$

Абсолютная же скорость трансляции каждой мРНК, например вида  $\alpha$ , находится в прямой зависимости от удельной скорости считывания инициаторного кодона мРНК данного вида  $\alpha$ , от удельных скоростей



Граф процесса трансляции набора разных мРНК.  
Graph of the translation process in the system involving a number of different mRNAs.

считывания элонгаторных и терминаторных кодонов всех мРНК, включая указанную, и в обратной — от удельных скоростей считывания инициаторных кодонов мРНК иных видов. Характер зависимости таков, что последовательное увеличение удельной скорости считывания какого-то кодона (кодонов), принадлежащего мРНК лишь одного вида, начиная с некоторого момента, перестает увеличивать скорость

трансляции всех матриц, включая указанную. Последовательное уменьшение удельной скорости считывания такого кодона (кодонов), начиная с определенного момента, обязательно приводит к прогрессивному падению скорости трансляции всех матриц данной системы.

При раздельной инкубации этих же мРНК в аналогичных условиях скорости их трансляции, согласно [8], соотносились бы так:

$$V_{\alpha} : V_{\beta} : V_{\gamma} \dots : V_{\omega} = \left[ \sum_i (v_{\alpha i})^{-1} \right]^{-1} : \left[ \sum_i (v_{\beta i})^{-1} \right]^{-1} : \left[ \sum_i (v_{\gamma i})^{-1} \right]^{-1} : \dots : \left[ \sum_i (v_{\omega i})^{-1} \right]^{-1} \quad (5)$$

и, следовательно, пропорции синтеза разных белков зависели бы от характеристик считывания всех кодонов мРНК всех видов.

**Обсуждение.** Полученные результаты имеют прямое отношение к проблеме регуляции биосинтеза специфических белков клетки и, в частности, к идеям, высказанным Эймсом и Хартманом [10]. На основе вырожденности генетического кода ими постулирована возможность регуляции трансляции разных мРНК с помощью модуляторных тРНК, специфичных в отношении минорных кодонов и присутствующих в клетке в относительно малой концентрации. Предполагается, что, меняя концентрацию таких тРНК, можно по-разному влиять на трансляцию разных мРНК и в соответствии с представленностью в них указанных кодонов направленно изменять пропорцию синтеза индивидуальных белков [4, 5].

Подобный взгляд на ситуацию нуждается, по нашему мнению, в существенных оговорках, ибо возможность избирательной модуляции скорости трансляции какой-то одной из многих мРНК в общем случае не очевидна. Лишь при раздельной инкубации разных мРНК скорости их трансляции могут изменяться независимым образом и как угодно сильно (5). При совместной же их трансляции эта независимость сменяется взаимообусловленностью скоростей считывания (3). Вызванная изменением содержания минорной тРНК модуляция скорости считывания минорного кодона может отразиться на скорости прочтения не только соответствующей мРНК, но и остальных мРНК данной системы трансляции. Согласно (3) и (4), всякая регуляция пропорции синтеза индивидуальных белков возможна лишь через изменение удельных скоростей инициации трансляции соответствующих матриц.

Каковы же возможности дифференцированного воздействия на удельные скорости инициации трансляции различных матриц? Первая из них определяется тем, что  $v_i$  в отличие от остальных  $v_i$  (элонгаторных и терминаторных кодонов) зависит от концентрации соответствующей мРНК. Следовательно, изменяя концентрации разных мРНК, можно регулировать процесс инициации и продукцию трансляции. Эффективность подобного способа регуляции не вызывает сомнений [6, 7]. Другой способ селективного изменения  $v_{\alpha 1}, v_{\beta 1}, v_{\gamma 1}, \dots, v_{\omega 1}$  может быть основан на взаимодействиях между рибосомами полирибосомного комплекса, что проявляется в их «натякании» друг на друга при движении по матрице [8]. С учетом определяемой этим обстоятельством ограниченной пропускной способности мРНК удельная скорость инициации на матрицах, например вида  $\alpha$ , связана с характеристиками других кодонов следующим образом (ур. (7), (9) в [8]):

$$v_{\alpha 1} \leq 2m_{\alpha} \left[ \left( r_0 \sum_{i=j}^{i+l} (v_{\alpha i+i})^{-1} \right)_{\max} \right]^{-1}, \quad (6)$$

где  $m$  — молярная концентрация мРНК;  $l$  — длина рибосомы (число кодонов, занимаемых ею на мРНК). Сумма в квадратных скобках соответствует самому «медленному» участку из  $l$  кодонов в данной мРНК. Выражение (6) показывает, что по мере заполнения матриц

рибосомами и перехода от монорибосомных к полирибосомным комплексам трансляции удельные скорости инициации становятся функциями конкретных последовательностей элонгаторных (терминаторных) кодонов соответствующих мРНК и удельных скоростей считывания этих кодонов. Характер этой зависимости для мРНК каждого вида глубоко индивидуален.

Иными словами, с использованием полирибосомного принципа организации системы трансляции и достаточно высоких заполнений матриц рибосомами становится возможной направленная модуляция скорости и пропорции синтеза различных белков изменением концентрации некоторых элонгаторных аминоксил-тРНК. Монорибосомные системы трансляции наборов разных мРНК подобный способ регуляции использовать не могут.

Согласно выражению (6), создание ситуации зависимости удельной скорости инициации от удельных скоростей считывания элонгаторных (терминаторных) кодонов может быть обеспечено различным образом: 1) увеличением концентрации инициаторной аминоксил-тРНК, белковых факторов инициации с GTP, свободных рибосом; 2) уменьшением концентрации мРНК, элонгаторных аминоксил-тРНК, белковых факторов элонгации (терминации) с GTP. Изменяя эти характеристики, можно усиливать или, наоборот, ослаблять указанную зависимость для разных мРНК. Отсюда вытекает, что глубина модуляции скорости и пропорции синтеза индивидуальных белков изменением концентрации какой-то аминоксил-тРНК определяется рядом дополнительных условий и в значительной мере может управляться неспецифическими в отношении соответствующего кодона параметрами системы. Более того, при заданных концентрациях аминоксил-тРНК и мРНК подобная модуляция может быть осуществлена изменением именно неспецифических параметров типа концентрации рибосом, белковых факторов трансляции и т. п. Это дает дополнительные возможности регуляторных воздействий на систему трансляции и свидетельствует о необходимости четкой координации содержания и активности различных составляющих аппарата белкового синтеза для обеспечения требуемого режима образования индивидуальных белков в клетке.

С позиций изложенного распространенный *in vivo* полирибосомный принцип организации аппарата трансляции имеет глубокий функциональный смысл не только в плане увеличения мощности белкового производства, но и в плане создания дополнительных способов эффективной регуляции биосинтеза индивидуальных белков. Полирибосомность систем трансляции позволяет им сочетать значительную производительность с высокой регуляторной гибкостью, чего не должно быть в случае, когда то же количество рибосом функционирует на большем количестве мРНК в форме монорибосомных комплексов. Не исключено, что именно этим обстоятельством определяется целесообразность поддержания в клетках большого молярного избытка рибосом над матричными мРНК.

## NATURAL mRNA TRANSLATION. 2. KINETIC BEHAVIOUR OF TRANSLATION SYSTEM INVOLVING A NUMBER OF DIFFERENT mRNAs

A. P. Potapov, A. V. Elskaya

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

### Summary

A theoretical analysis of steady-state kinetics of the translation system involving a number of different mRNAs is presented. The specific rates of initiations are shown to play the key role in regulation of translation of different mRNAs. Conditions under which the specific rates of initiation become the functions of the specific rates of elon-

gator codons reading and the elongator codons sequence are analyzed. Such conditions correspond to the situation when one ribosome of polyribosomal complex catches up with another ribosome and stumbles upon it during the mRNA translation. A conclusion is drawn on great significance of the polyribosomal organization of translation apparatus in the regulation of rates and ratio of individual proteins biosynthesis.

1. Спирик А. С., Гаврилова Л. П. Рибосома.— М. : Наука, 1971.—254 с.
2. Lengyel P. The process of translation: a bird's-eye view // Ribosomes.— New York: Cold Spring Harbor, 1974.— P. 13—52.
3. Шапиль Ф., Энни А.-Л. Биосинтез белка.— М. : Мир, 1977.—316 с.
4. Транспортные рибонуклеиновые кислоты / Г. Х. Мацука, А. В. Ельская, М. И. Коваленко, А. И. Корнелюк.— Киев : Наук. думка, 1976.—219 с.
5. Остерман Л. А. Регуляторная функция тРНК в биосинтезе белка // Успехи соврем. биологии.— 1977.—83, № 1.— С. 3—22.
6. Ochoa S. Regulation of protein synthesis // Eur. J. Cell. Biol.—1979.—19, N 2.— P. 91—101.
7. Chantrenne H. Regulation of protein synthesis at translation in eucaryotes // Hormones and cell regulation.— Amsterdam: Elsevier, 1978.— Vol. 2.— P. 1—13.
8. Потанов 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.
9. Volkenstein M. V., Goldstein B. N. A new method for solving the problems of the stationary kinetics of enzymological reactions // Biochim. et biophys. acta.— 1966.— 115, N 2.— P. 471—477.
10. Ames B., Hartman P. The histidin operon // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.— 1963.—28.— P. 349—356.

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

Получено 26.06.85

УДК 575.17.

## АССОЦИАТИВНЫЙ ОТБОР КЛОНОВ КЛЕТОК КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА ПО КОМПЛЕКСУ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ

В. К. Савченко, Л. С. Михалевич, Л. М. Кукушкина

**Введение.** Большинство полиплоидных популяций клеток млекопитающих *in vitro* получены путем обработки исходных родительских диплоидных или околодиплоидных клеток коллемеидом, реже — с использованием селективной среды [1—8]. Такой прием значительно увеличивает вероятность успешного выделения полиплоидного клона по сравнению с методом получения спонтанных полиплоидов. Однако коллемеидный метод не безупречен, так как обработка клеток химическими веществами может вызывать появление мутаций. Выделение спонтанных полиплоидных клонов в достаточном количестве требует больших затрат труда.

Новым подходом представляется сочетание техники клонирования клеток млекопитающих *in vitro* (без предварительной обработки их химическими веществами) с применением специально разработанных методов отбора по комплексу признаков. Идея использования комплекса количественных признаков для отбора полиплоидных клеточных клонов заимствована из приемов организации отбора в популяциях диплоидных организмов [9, 10]. С помощью предложенной системы отбора мы пытались установить определенную корреляцию между изменением числа хромосомных наборов в клетке и соответствующими им морфологическими показателями. Такая система отбора позволяет выделить клоны с заданными характеристиками без применения химических обработок.

Ассоциативный отбор имеет большое значение для биотехнологии, поскольку он позволяет получить популяции соматических клеток с