

УДК 577.2

## БИОСИНТЕЗ БЕЛКА В МИТОХОНДРИЯХ: ПРОСТОТА В ПРОШЛОМ, СОВЕРШЕНСТВО СЕЙЧАС, НЕИЗВЕСТНОСТЬ В БУДУЩЕМ

### Обзор

© 2020 С.А. Левицкий, М.В. Балева, И.В. Чичерин,  
И.А. Крашенинников, П.А. Каменский\*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,  
119234 Москва, Россия; электронная почта: peter@protein.bio.msu.ru

Поступила в редакцию 06.11.2019

После доработки 06.12.2019

Принята к публикации 09.12.2019

Митохондрии являются облигатными органеллами большинства эукариотических клеток и выполняют большое количество разнообразных функций, имеющих ключевое значение для клеточного гомеостаза. Основной функцией митохондрий является обеспечение клеток энергией в виде АТФ, синтезируемой в результате комплекса реакций окислительного фосфорилирования, осуществляемого на внутренней митохондриальной мембране. Имеющие эндосимбиотическое происхождение, митохондрии в ходе эволюции утратили большую часть генетического материала своего предка в результате редукции генома и переноса значительной части генов в ядро. Большинство митохондриальных белков синтезируются в цитозоле и импортируются в митохондрии. Тем не менее практически все современные митохондрии обладают собственным геномом, а также системами его поддержания, транскрипции и белкового синтеза. Процесс биосинтеза белка в митохондриях – митохондриальная трансляция – существенно отличается от такового у прокариот и у эукариот, демонстрируя высокую степень специализации и специфической регуляции. В данном обзоре мы рассмотрим известные на сегодняшний день данные об общих принципах регуляции митохондриальной трансляции, уделив особое внимание молекулярным механизмам инициации биосинтеза белка у дрожжей и млекопитающих.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** митохондрии, трансляция, инициация, фактор трансляции, фактор инициации.

**DOI:** 10.31857/S032097252003001X

Митохондрии являются важнейшими органеллами практически всех эукариотических клеток, основной функций которых является обеспечение клеток энергией в виде АТФ, синтезируемой в результате реакций окислительного фосфорилирования. Помимо этого, митохондрии принимают участие в биосинтезе FeS-кластеров, метаболизме аминокислот и нуклеотидов, синтезе липидов, стероидов, регуляции программируемой смерти клеток [1]. Согласно общепринятой эндосимбиотической теории, митохондрии имеют экзогенное происхождение от прокариотического предшественника, сходного с альфа-протеобактериями [2]. При этом митохондрии являются полуавтономными органеллами – в ходе миллиардов лет эволюции митохондрии

различных групп эукариот утратили значительную часть генетического материала прокариотического предшественника, сохранив лишь отдельные части предкового генома. Протеом современных митохондрий в подавляющем большинстве составляют белки, кодируемые в ядре, синтезируемые в цитоплазме и импортируемые в митохондрии [3]. Митохондриальные геномы современных эукариот в большинстве случаев существенно меньше бактериальных и несут сравнительно небольшой набор генов. В силу значительной дивергенции число и состав митохондриальных генов у разных групп эукариот значительно различаются. Наименьшим по размеру митохондриальным геномом (~6000 п.о.) обладает малярийный плазмодий *Plasmodium falciparum*, в то время как суммарный размер многохромосомной митохондриальной ДНК розового растения *Silene conica* превышает 10 миллионов пар оснований [4, 5].

У пекарских дрожжей в состав митохондриального генома входят гены рибосомных РНК,

Принятые сокращения: fMet-тРНК – формилметиониновая аминокислота-тРНК, mtIF2 и mtIF3 – митохондриальные второй и третий факторы инициации трансляции соответственно, 5'-НТО – 5'-нетранслируемая область мРНК.

\* Адресат для корреспонденции.

полный набор тРНК, а также гены 8-ми белков, 7 из которых являются коровыми гидрофобными компонентами комплексов электрон-транспортной цепи и АТФ-синтазы, а один – Var1p – рибосомным белком [6]. В геномах митохондрий млекопитающих, помимо генов рРНК и тРНК, имеются гены 13 белков, являющихся компонентами комплексов системы окислительного фосфорилирования [7]. В то же время у простейших группы Jakobids, имеющих самое большое из известных организмов число митохондриальных генов, в митогеноме, помимо генов рРНК, тРНК и компонентов электрон-транспортной цепи, закодировано несколько рибосомных белков, четырехсубъединичная РНК-полимераза, редуцированная транспортно-матричная РНК, РНК-компонент РНКазы Р, а также несколько факторов сборки комплексов цепи окислительного фосфорилирования [8]. При этом значительную степень эволюционной дивергенции подчеркивает тот факт, что количество митохондриальных генов у разных эукариот не коррелирует с размерами митохондриальных геномов. Например, содержащий 37 генов митохондриальный геном человека имеет размер 16 569 п.о., а геном митохондрий *Saccharomyces cerevisiae*, содержащий приблизительно то же число генов, обладает размером ~80 000 п.о., аналогичным размеру митохондриального генома упоминавшихся выше Jakobids, содержащего ~70 генов [6–8]. Не меньшие различия между митохондриями различных эукариот выявлены и в системах экспрессии генов – транскрипции и трансляции.

В данном обзоре описаны последние достижения в исследованиях биосинтеза белка в митохондриях дрожжей и млекопитающих, детально останавливаясь на механизмах регуляции инициации трансляции. Наш обзор не претендует на всеобъемлющее описание известных фактов о митохондриальной трансляции, но в большей степени направлен на обсуждение имеющихся противоречий и предложение новых концепций в исследовании этого процесса.

## ОСНОВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА В МИТОХОНДРИЯХ

Биосинтез белка осуществляется молекулярными машинами, рибосомами, считывающими генетическую информацию мРНК и катализирующими соединение аминокислот пептидными связями [9]. Рибосомы состоят из двух субъединиц, малой и большой. Малая субъединица осуществляет декодирование мРНК, а большая катализирует синтез полипептидной цепи.

Несмотря на общность принципа декодирования мРНК и синтеза белка, структуры и механизмы работы рибосом различаются не только между прокариотами и эукариотами, но и между бактериями и археями [10]. Аналогичным образом, несмотря на принципиальное сходство, не менее значимы отличия в структуре митохондриальных рибосом и в принципах регуляции митохондриальной трансляции различных групп организмов. Долгое время митохондриальная трансляция оставалась своего рода *terra incognita* в молекулярной биологии, поскольку с момента обнаружения этого феномена предполагалось, что биосинтез белка в митохондриях аналогичен таковому у бактерий. Однако функциональные и, в особой степени, структурные исследования последнего десятилетия существенно приумножили знания в этой области [11–13]. Сегодня очевидно, что биосинтез белка в митохондриях обладает рядом черт, принципиально отличающих его от аналогичных процессов как у бактерий, так и в цитозоле эукариотических клеток. В наибольшей степени изучены процессы митохондриальной трансляции в клетках *S. cerevisiae* и млекопитающих.

В первую очередь следует отметить, что в настоящее время не ставится под сомнение бактериальное происхождение миторибосом [14]. При этом митохондриальные рибосомы в эволюционном плане существенно отделились от бактериальных предшественников как по пространственной структуре, так и по составу рибосомных РНК и рибосомных белков. Бурное развитие методов криоэлектронной микроскопии в последние годы позволило разрешить структуры митохондриальных рибосом многих организмов (*Trypanosoma brucei* [15], *S. cerevisiae* [16], *Sus scrofa* [12], *Homo sapiens* [11], *Arabidopsis thaliana* [17] и *Brassica oleracea var. botrytis* [18]). Сравнение этих структур показало, что миторибосомы различных групп эукариот хоть и значительно отличаются друг от друга, но имеют общие черты. В первую очередь митохондриальные рибосомы, в сравнении с бактериальными и цитоплазматическими, характеризуются существенно более высоким содержанием белка относительно РНК, вставками и делециями в рРНК, а также целым рядом особых, специфичных для митохондриальных рибосом, белков. По всей видимости, это связано с частичным замещением функций РНК белками, а также специализацией митохондриальной трансляции к синтезу ограниченного числа гидрофобных белков, котрансляционно встраивающихся во внутреннюю мембрану митохондрий в составе комплексов цепи окислительного фосфорилирования [19]. Системы биосинтеза белка в митохон-

дриях строго взаимосвязаны с биосинтезом митохондриальных белков в цитозоле, что является необходимым условием для корректной сборки комплексов цепи окислительного фосфорилирования [20]. Далее, мы рассмотрим известные данные о регуляции трансляции в митохондриях двух наиболее изученных систем, дрожжей и млекопитающих, на наиболее поддающейся регулированию стадии этого процесса — инициации трансляции.

### PAST SIMPLE

Как уже говорилось, митохондриальная система трансляции имеет бактериальное происхождение, из чего логично предположить, что инициация биосинтеза белка в митохондриях должна быть похожа на таковую у эубактерий. Инициация бактериальной трансляции изучена в деталях. Процесс начинается с образования 30S инициаторного комплекса, в котором стартовый кодон мРНК декодируется антикодоном CAU инициаторной формилметиониновой аминоксил-тРНК (fMet-тРНК) в Р-сайте малой субъединицы рибосомы. В образовании инициаторного комплекса важнейшую роль играют три белковых фактора инициации — IF1, IF2 и IF3, каждый из которых абсолютно необходим для осуществления точной и эффективной инициации трансляции. Все три фактора взаимодействуют с участками 30S-субъединицы, выполняя специфические функции. IF2 в комплексе с ГТФ связывает fMet-тРНК, образуя тройственный комплекс, после чего взаимодействует с 30S субъединицей. IF1, связанный с 30S, препятствует вхождению аминоксил-тРНК в А-сайт, а также увеличивает аффинность тройственного комплекса IF2 : ГТФ : fMet-тРНК к 30S. IF3, будучи связанным с 30S, препятствует ассоциации малой субъединицы с 50S, а также способствует точности узнавания стартового кодона fMet-тРНК в Р-сайте. Комплексы 30S с IF1, IF3 и IF2 : ГТФ : fMet-тРНК связывают короткую полипуриновую последовательность в 5'-нетранслируемой области (5'-НТО) мРНК (последовательность Шайна—Дальгарно) за счет наличия в 16S рРНК частично комплементарной последовательности, после чего происходит узнавание стартового кодона антикодоном fMet-тРНК, гидролиз ГТФ до ГДФ, диссоциация факторов инициации и ассоциация большой субъединицы. В результате, образуется 70S инициаторный комплекс, представляющий собой ассоциированную рибосому, в Р-сайте которой на стартовом AUG-кодоне мРНК позиционирована fMet-тРНК, а в А-сайте располагается

второй кодон, ожидающий прихода декодирующей его аминоксил-тРНК. Факторы инициации IF1 и IF2 считаются универсальными и консервативными, поскольку их функциональные и структурные гомологи обнаружены у всех изученных бактерий и архей [21].

Инициация трансляции в митохондриях изучена в существенно меньшей степени. В первую очередь это относится к роли и функциям факторов инициации. Так, в митохондриях всех исследованных организмов не обнаружен фактор IF1, абсолютно универсален IF2, и практически универсален IF3 [22]. По всей видимости, центральную роль в инициации трансляции в митохондриях выполняет митохондриальный второй фактор инициации трансляции (mtIF2), функции которого мы подробно рассмотрим.

### PRESENT PERFECT

Фактор IF2 у бактерий представляет собой трансляционную ГТФазу, состоящую из шести доменов (I—VI), где домен IV осуществляет гидролиз ГТФ, а домен VI непосредственно взаимодействует с fMet-тРНК [23, 24]. Фактор IF2 осуществляет подбор инициаторной аминоксил-тРНК и способствует ассоциации субъединицы рибосомы при инициации трансляции, причем вторая функция эволюционно консервативна у архей и эукариот. В отличие от бактерий, в митохондриях млекопитающих в инициации трансляции участвует не особая инициаторная метиониновая тРНК, а та же тРНК, что используется при включении метионина в ходе элонгации [25]. Часть метиониновой аминоксил-тРНК формилируется особым ферментом, получившаяся в результате этого fMet-тРНК обладает высокой аффинностью к mtIF2 и низкой аффинностью к митохондриальному фактору элонгации EF-Tu. Такое двойное предназначение метиониновой тРНК также отмечено и в митохондриях *T. brucei*, где все тРНК, необходимые для митохондриальной трансляции не закодированы в геноме органеллы, а импортируются из цитоплазмы [26].

Сравнительно недавно было показано, что mtIF2 человека способен функционально компенсировать не только IF2, но и IF1 у *Escherichia coli*, причем было продемонстрировано, что функцию IF1 выполняет сравнительно короткий уникальный домен mtIF2 протяженностью 37 а.о., расположенный между доменами II и III [27, 28]. В недавней работе Kummer et al. [29] с помощью криоэлектронной микроскопии была разрешена структура комплекса mtIF2 с митохондриальной рибосомой свиньи. Авторам удалось

подтвердить, что упомянутый выше 37-аминокислотный домен локализован в А-сайте малой субъединицы, препятствует вхождению в него аминоацил-тРНК и предотвращает скольжение рибосомы по мРНК, фактически выполняя функции бактериального IF1. Кроме того, авторам удалось показать, что мтIF2 не имеет непосредственных контактов с мРНК и не участвует в ее привлечении к рибосоме. Для мРНК COX3 было установлено, что в ее ассоциации с миторибосомой принимает участие пентатрикопептидный (PPR) миторибосомный белок mS39, расположенный в области входного туннеля мРНК [29]. Таким образом, предполагается что во взаимодействии мРНК с митохондриальной рибосомой млекопитающих участвуют отдельные белки самих миторибосом или же специализированные факторы трансляции.

Значительно в меньшей степени исследован митохондриальный IF2 пекарских дрожжей, кодируемый геном *IFM1*. Несмотря на то что этот фактор был выявлен ~30 лет назад [30], его значимых структурно-функциональных исследований практически не проводилось. Было продемонстрировано, что делеция гена этого фактора приводит к невозможности роста дрожжей на несбраживаемых источниках углерода [30]. Кроме этого, в системе *in vitro* было показано, что соответствующий рекомбинантный белок способен образовывать тройственный комплекс с ГТФ и fMet-тРНК, и мет-тРНК, который в присутствии синтетической мРНК связывается с 30S субъединицей бактериальной рибосомы. Помимо этого, рекомбинантный дрожжевой мтIF2 способен гидролизовать ГТФ в составе такого комплекса, а также предотвращать неэнзиматический гидролиз указанных тРНК [31]. Тем не менее, строгая необходимость этого фактора для инициации трансляции в митохондриях дрожжей не показана.

Бактериальный фактор инициации трансляции IF3 осуществляет две важные функции — связывается с 30S субъединицей рибосомы после ее диссоциации в результате терминации трансляции, препятствуя ассоциации 30S и 50S, а также участвует в селекции тРНК и мРНК при инициации нового раунда синтеза белка, специфически дестабилизируя некорректно образовавшиеся кодон-антикодоновые пары [32, 33]. IF3 универсален и консервативен среди бактерий, однако в митохондриях обнаружен не во всех организмах [22]. В цитоплазме эукариот функции IF3 выполняет многосубъединичный фактор eIF3, не имеющий значимых гомологий с бактериальным IF3 [34].

Структурно бактериальный IF3 представляет собой глобулярный белок, состоящий из двух

выраженных доменов (*N*-концевого и *C*-концевого), соединенных линкерным  $\alpha$ -спиральным участком [35]. Непосредственно с 16S рРНК малой субъединицей рибосомы взаимодействует *C*-концевой домен, в то время как *N*-концевой домен может принимать несколько конформаций и осуществляет взаимодействие с fMet-тРНК [23]. Ряд экспериментов по делециям отдельных участков IF3 показал, что изолированный *C*-концевой домен может выполнять все функции, характерные для полноразмерного IF3, в то время как *N*-концевой домен придает дополнительную прочность связыванию фактора с рибосомой и тРНК [36].

Митохондриальный третий фактор инициации трансляции (мтIF3) у млекопитающих, идентифицированный сравнительно недавно, имеет лишь незначительное сходство первичной структуры с бактериальным, однако структурно схож с ним, отличаясь лишь наличием небольших *N*- и *C*-концевых удлинений [37]. Ряд работ, проведенных *in vitro*, указывают на то, что в митохондриях млекопитающих фактор инициации IF3 обладает функциями, сходными с бактериальным аналогом. В частности, было продемонстрировано, что мтIF3 способен диссоциировать митохондриальные рибосомы и при участии мтIF2 способствовать образованию инициаторного комплекса [37]. Также было показано, что аналогично бактериальному IF3, мтIF3 млекопитающих взаимодействует с миторибосомой преимущественно *C*-концевым доменом с некоторым вкладом линкерного участка [38]. Кроме того, мтIF3 млекопитающих также обладает способностью дестабилизировать инициаторные комплексы, не содержащие мРНК или же содержащие некорректную тРНК, причем последняя активность выражена существенно ниже, чем у бактериального IF3 [39, 40]. При этом важную роль в функционировании мтIF3 играют упомянутые выше концевые удлинения: удаление *C*-концевого удлинения приводило к неспособности фактора диссоциировать некорректные инициаторные комплексы, в то время как делеция *N*-концевого удлинения существенно увеличивала аффинность мтIF3 к 30S субъединице [39, 40]. В опубликованной в 2019 году работе Koripella et al. [41] была представлена разрешенная с помощью криоэлектронной микроскопии структура комплекса мтIF3 с митохондриальной рибосомой. Оказалось, что в отличие от бактериального IF3, во взаимодействии с миторибосомой принимают участие практически все структурные участки мтIF3, за исключением *C*-концевого удлинения. Согласно данным моделирования, этот структурный элемент при взаимодействии малой субъединицы миторибо-

сомы с тройственным комплексом мтIF2 : ГТФ : fMet-тРНК в отсутствие мРНК должен занимать Р-сайт, предотвращая формирование инициаторного комплекса без матрицы [41]. В этой же работе авторы указывают на возможную роль мтIF3 в привлечении мРНК к образуемому инициаторному комплексу.

Длительное время не удавалось идентифицировать третий фактор инициации трансляции в митохондриях *S. cerevisiae*. Однако ряд работ последних лет убедительно доказал, что таким фактором является белок Aim23p. С помощью биоинформационного анализа было показано сходство его третичной структуры с мтIF3 млекопитающих, было показано, что делецию кодирующего его гена можно супрессировать с помощью экспрессии генов мтIF3 человека и *Schizosaccharomyces pombe* [22]. Кроме этого, было продемонстрировано, что этот белок способен связываться с малой субъединицей митохондриальных рибосом дрожжей [42], а также с бактериальными рибосомами и вызывать их диссоциацию. Причем, в случае бактериальных рибосом диссоциация происходила необычным образом – связываясь с ассоциированными 70S рибосомами, Aim23p взаимодействовал как с 30S, так и с 50S субъединицами, при этом способствуя формированию промежуточного состояния диссоциации с коэффициентом седиментации ~60S [43]. Кроме этого, также была показана важность N- и C-концевых удлинений Aim23p: при удалении этих участков фактор терял свою функциональность, а добавление этих удлинений к IF3 *E. coli* делало получившийся гибридный белок полностью активным в митохондриях дрожжей [44]. Однако самая интригующая особенность Aim23p – то, что он не является абсолютно необходимым для митохондриальной трансляции. Делеция кодирующего его гена приводила лишь к снижению эффективности биосинтеза митохондриально транслируемых белков COX1 и COX2, что фенотипически проявлялось в замедленной адаптации дрожжей к росту на несбраживаемых источниках углерода, но не сказывалось на трансляции других митохондриальных мРНК [45]. Этот факт крайне удивителен в контексте того, что наличие IF3 абсолютно необходимо для бактериальной трансляции.

Как уже говорилось ранее, большая часть митохондриальных генов кодирует компоненты комплексов цепи окислительного фосфорилирования. Исходя из этого, трансляция в митохондриях должна строго взаиморегулироваться с трансляцией в цитозоле остальных субъединиц этих комплексов, закодированных в ядре. Регуляция митотрансляции остается во многом не-

изученной областью, несмотря на значимые достижения последних лет. В наибольшей степени механизмы регуляции трансляции в митохондриях изучены у *S. cerevisiae*. Яркой особенностью регуляции митохондриального синтеза белка у этих организмов является уникальная система трансляционных активаторов – группы белков, определяющих эффективность трансляции той или иной митохондриальной мРНК, взаимодействуя с имеющимися в них протяженными 5'-НТО, способными формировать вторичные структуры. Эта система подробно рассмотрена в недавних обзорах [46, 47].

Гораздо менее очевидны принципы регуляции биосинтеза 13 белков, закодированных в митохондриальном геноме млекопитающих, все из которых являются компонентами комплексов цепи окислительного фосфорилирования. В первую очередь это связано со структурным отличием митохондриальных мРНК млекопитающих – у них практически отсутствуют 5'-НТО [48], что делает невозможным существование у этой группы организмов системы активаторов, сходной с дрожжевой. Тем не менее в митохондриях млекопитающих был выявлен единственный на сегодняшний момент активатор трансляции, белок TACO1, определяющий эффективность биосинтеза компонента цитохром c оксидазы COX1, однако механизм его действия до их пор остается невыясненным [49].

Последние структурные исследования внесли некоторую ясность в механизмы узнавания таких «безлидерных» мРНК митохондриальными рибосомами [29]. С помощью криоэлектронной микроскопии была разрешена структура собранного *in vitro* инициаторного комплекса митохондриальной рибосомы млекопитающих с мРНК COX3. Было установлено, что инициация трансляции этой мРНК во многом обусловлена взаимодействием уже упоминавшегося PPR-белка mS39 с U-богатой областью, расположенной за седьмым кодоном мРНК и консервативной для всех 11 мРНК митохондрий млекопитающих [29]. Эти данные тем не менее не объясняют, каким образом определяется эффективность инициации трансляции той или иной мРНК.

## FUTURE INDEFINITE

Переходя к заключительной дискуссионной части нашего обзора, мы обобщим изложенные выше данные. Итак, ранее считалось, что в силу не ставящегося под сомнение происхождения митохондрий от бактериального предшественника трансляция в этих органеллах организована сходным с прокариотами образом. Однако

исследования последних 10–15 лет показали, что, несмотря на общность происхождения, отличия в системах биосинтеза белка в современных прокариотах и митохондриях весьма значительны, причем не менее значимо различаются и системы митохондриальной трансляции разных групп эукариот. В первую очередь, указанные различия выражены в структуре митохондриальных рибосом и заключаются в специализации рибосом митохондрий к биосинтезу в основном гидрофобных белков, закодированных в митохондриальном геноме. Последним же, по всей видимости, обусловлены и возникшие в ходе эволюции системы регуляции митохондриальной трансляции, наиболее изученной из которых является система трансляционных активаторов митохондрий пекарских дрожжей. В митохондриях млекопитающих отсутствие подобной системы обусловлено принципиальным отличием в структуре мРНК — отсутствием 5'-НТО. Тем не менее, существование системы регуляции трансляции в митохондриях млекопитающих не ставится под сомнение, поскольку эффективность биосинтеза митохондриально закодированных белков должна быть строго координирована с трансляцией других компонентов комплексов электрон-транспортной цепи в цитозоле. Вероятно, одним из способов регуляции митотрансляции является ее тесная связь с процессом сборки комплексов на внутренней мембране митохондрий, однако такое объяснение в большей степени относится к регуляции скорости элонгации, нежели инициации.

В связи с этим весьма интересными выглядят данные, полученные в результате исследования митохондриальной трансляции дрожжей в отсутствие третьего фактора инициации, который оказывает весьма слабое влияние на биосинтез большинства транслируемых в митохондриях белков [45]. Фактически, профиль митотрансляции при делеции *Aim23p* сходен с наблюдаемым при отсутствии трансляционных активаторов соответствующих мРНК, например активатора мРНК *COX2*, белка *Pet111p* [50]. В связи с этим, вполне возможно предположить, что в ходе эволюции митохондрий, приведшей к утрате подавляющего большинства предковых генов, специализации митотрансляции на син-

тезе крайне ограниченного круга гидрофобных белков, а также необходимости строгой регуляции трансляции, факторы инициации утратили свою универсальность и, фактически, стали регуляторами биосинтеза отдельных белков. Конечно подобное предположение требует тщательной проверки, например путем изучения митохондриальной трансляции в клетках с делетированными генами факторов инициации трансляции в митохондриях, однако оно не противоречит имеющимся на настоящий момент данным, поскольку все структурные и функциональные исследования факторов инициации проведены *in vitro*, а единственная модель *in vivo* — делеция белка *Aim23p*, показала отсутствие необходимости в третьем факторе инициации для биосинтеза белка в митохондриях. Безусловно, это наблюдение может оказаться исключительным случаем, характерным лишь для дрожжевой системы и именно этого фактора, но мы считаем важным и актуальным экспериментально ответить на вопросы о необходимости факторов инициации трансляции для биосинтеза митохондриальных белков, и в настоящее время проводим соответствующие эксперименты. Нашу гипотезу отчасти подтверждает опубликованная совсем недавно работа Rudler et al [51], в которой было показано, что делеция гена ортолога *Aim23p* — *mtIF3* — у мыши также приводит не к остановке белкового синтеза в митохондриях, а лишь к его количественной разбалансировке.

**Финансирование.** Написание данного обзора стало возможным благодаря поддержке Российского научного фонда (грант № 17-14-01005), в рамках которого мы проверили некоторые свои гипотезы на тему эволюции аппарата митохондриальной трансляции. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-14-50206.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Spinelli, J.B., and Haigis, M.C. (2018) The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism, *Nat. Cell Biol.*, **20**, 745–754.
- Gray, M.W. (2012) Mitochondrial evolution, *Cold Spring Harb Perspect. Biol.*, **4**, a011403, doi: 10.1101/cshperspect.a011403.
- Gray, M.W. (2015) Mosaic nature of the mitochondrial proteome: Implications for the origin and evolution of mitochondria, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 10133–10138, doi: 10.1073/pnas.1421379112.
- Feagin, J.E., Harrell, M.I., Lee, J.C., Coe, K.J., Sands, B.H., Cannone, J.J., Tami, G., Schnare, M.N., and Gutell, R.R.

- (2012) The fragmented mitochondrial ribosomal RNAs of *Plasmodium falciparum*, *PLoS One*, **7**, e38320, doi: 10.1371/journal.pone.0038320.
5. Sloan, D.B., Alverson, A.J., Chuckalovcak, J.P., Wu, M., McCauley, D.E., Palmer, J.D., and Taylor, D.R. (2012) Rapid evolution of enormous, multichromosomal genomes in flowering plant mitochondria with exceptionally high mutation rates, *PLoS Biol.*, **10**, e1001241, doi: 10.1371/journal.pbio.1001241.
  6. Freel, K.C., Friedrich, A., and Schacherer, J. (2015) Mitochondrial genome evolution in yeasts: an all-encompassing view, *FEMS Yeast Res.*, **15**, f0j023, doi: 10.1093/femsyr/fov023.
  7. Taanman, J.W. (1999) The mitochondrial genome: Structure, transcription, translation and replication, *Biochim. Biophys. Acta*, **1410**, 103–123.
  8. Burger, G., Gray, M.W., Forget, L., and Lang, B.F. (2013) Strikingly bacteria-like and gene-rich mitochondrial genomes throughout jakobid protists, *Genome Biol. Evol.*, **5**, 418–438, doi: 10.1093/gbe/evt008.
  9. Finkelstein, A.V., Razin, S.V., and Spirin, A.S. (2018) Intersubunit mobility of the ribosome, *Mol. Biol. (Mosk.)*, **52**, 921–934.
  10. Eme, L., Spang, A., Lombard, J., Stairs, C.W., and Etmann, T.J.G. (2017) Archaea and the origin of eukaryotes, *Nat. Rev. Microbiol.*, **15**, 711–723.
  11. Amunts, A., Brown, A., Toots, J., Scheres, S.H.W., and Ramakrishnan, V. (2015) The structure of the human mitochondrial ribosome, *Science*, **348**, 95–98, doi: 10.1126/science.aal1193.
  12. Greber, B.J., Bieri, P., Leibundgut, M., Leitner, A., Aebersold, R., Boehringer, D., and Ban, N. (2015) The complete structure of the 55S mammalian mitochondrial ribosome, *Science*, **348**, 303–308, doi: 10.1126/science.aaa3872.
  13. Englmeier, R., Pfeffer, S., and Förster, F. (2017) Structure of the human mitochondrial ribosome studied in situ by cryoelectron tomography, *Structure*, **25**, 1574–1581.e2, doi: 10.1016/j.str.2017.07.011.
  14. Bieri, P., Greber, B.J., and Ban, N. (2018) High-resolution structures of mitochondrial ribosomes and their functional implications, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **49**, 44–53.
  15. Ramrath, D.J.F., Niemann, M., Leibundgut, M., Bieri, P., Prange, C., Horn, E.K., Leitner, A., Boehringer, D., Schneider, A., and Ban, N. (2018) Evolutionary shift toward protein-based architecture in trypanosomal mitochondrial ribosomes, *Science*, **362**, doi: 10.1126/science.aau7735.
  16. Desai, N., Brown, A., Amunts, A., and Ramakrishnan, V. (2017) The structure of the yeast mitochondrial ribosome, *Science*, **355**, 528–531, doi: 10.1126/science.aal2415.
  17. Waltz, F., Nguyen, T.T., Arrivé, M., Bochler, A., Chicher, J., Hammann, P., Kuhn, L., Quadrado, M., Mireau, H., Hashem, Y., and Giegé, P. (2019) Small is big in *Arabidopsis* mitochondrial ribosome, *Nat. Plants*, **5**, 106–117, doi: 10.1038/s41477-018-0339-y.
  18. Waltz, F., Soufari, H., Bochler, A., Giegé, P., and Hashem, Y. (2019) *Cryo-EM structure of the RNA-rich plant mitochondrial ribosome*, bioRxiv 777342, Cold Spring Harbor Laboratory, doi: 10.1101/777342.
  19. Waltz, F., and Giegé, P. (2019) Striking diversity of mitochondria-specific translation processes across eukaryotes, *Trends Biochem. Sci.*, doi: 10.1016/j.tibs.2019.10.004.
  20. Ott, M., Amunts, A., and Brown, A. (2016) Organization and regulation of mitochondrial protein synthesis, *Annu. Rev. Biochem.*, **85**, 77–101, doi: 10.1146/annurev-biochem-060815-014334.
  21. Roll-Mecak, A., Shin, B.S., Dever, T.E., and Burley, S.K. (2001) Engaging the ribosome: Universal IFs of translation, *Trends Biochem. Sci.*, **26**, 705–709.
  22. Atkinson, G.C., Kuzmenko, A., Kamenski, P., Vysokikh, M.Y., Lakunina, V., Tankov, S., Smirnova, E., Soosaar, A., Tenson, T., and Hauryliuk, V. (2012) Evolutionary and genetic analyses of mitochondrial translation initiation factors identify the missing mitochondrial IF3 in *S. cerevisiae*, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 6122–6134, doi: 10.1093/nar/gks272.
  23. Julián, P., Milon, P., Agirrezabala, X., Lasso, G., Gil, D., Rodnina, M.V., and Valle, M. (2011) The cryo-EM structure of a complete 30S translation initiation complex from *Escherichia coli*, *PLoS Biol.*, **9**, doi: 10.1371/journal.pbio.1001095.
  24. Myasnikov, A.G., Simonetti, A., Marzi, S., and Klaholz, B.P. (2009) Structure-function insights into prokaryotic and eukaryotic translation initiation, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **19**, 300–309.
  25. Suzuki, T., Nagao, A., and Suzuki, T. (2011) Human mitochondrial tRNAs: biogenesis, function, structural aspects, and diseases, *Annu. Rev. Genet.*, **45**, 299–329, doi: 10.1146/annurev-genet-110410-132531.
  26. Tan, T.H.P., Bochud-Allemann, N., Horn, E.K., and Schneider, A. (2002) Eukaryotic-type elongator tRNA<sup>Met</sup> of *Trypanosoma brucei* becomes formylated after import into mitochondria, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 1152–1157, doi: 10.1073/pnas.022522999.
  27. Gaur, R., Grasso, D., Datta, P.P., Krishna, P.D., Das, G., Spencer, A., Agrawal, R.K., Spremulli, L., and Varshney, U. (2008) A single mammalian mitochondrial translation initiation factor functionally replaces two bacterial factors, *Mol. Cell*, **29**, 180–190, doi: 10.1016/j.molcel.2007.11.021.
  28. Yassin, A.S., Haque, M.E., Datta, P.P., Elmore, K., Banavali, N.K., Spremulli, L.L., and Agrawal, R.K. (2011) Insertion domain within mammalian mitochondrial translation initiation factor 2 serves the role of eubacterial initiation factor 1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 3918–3923, doi: 10.1073/pnas.1017425108.
  29. Kummer, E., Leibundgut, M., Rackham, O., Lee, R.G., Boehringer, D., Filipovska, A., and Ban, N. (2018) Unique features of mammalian mitochondrial translation initiation revealed by cryo-EM, *Nature*, **560**, 263–267.
  30. Vambutas, A., Ackerman, S.H., and Tzagoloff, A. (1991) Mitochondrial translational initiation and elongation factors in *Saccharomyces cerevisiae*, *Eur. J. Biochem.*, **201**, 643–652, doi: 10.1111/j.1432-1033.1991.tb16325.x.
  31. Garofalo, C., Trinko, R., Kramer, G., Appling, D.R., and Hardesty, B. (2003) Purification and characterization of yeast mitochondrial initiation factor 2, *Arch. Biochem. Biophys.*, **413**, 243–252, doi: 10.1016/s0003-9861(03)00119-x.
  32. Peske, F., Rodnina, M.V., and Wintermeyer, W. (2005) Sequence of steps in ribosome recycling as defined by kinetic analysis, *Mol. Cell*, **18**, 403–412, doi: 10.1016/j.molcel.2005.04.009.
  33. Elvekrog, M.M., and Gonzalez, R.L. (2013) Conformational selection of translation initiation factor 3 signals proper substrate selection, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **20**, 628–633, doi: 10.1038/nsmb.2554.
  34. Valásek, L.S. (2012) “Ribozoomin” – translation initiation from the perspective of the ribosome-bound eukaryotic initiation factors (eIFs), *Curr. Protein Pept. Sci.*, **13**, 305–330.
  35. Biou, V., Shu, F., and Ramakrishnan, V. (1995) X-ray crystallography shows that translational initiation factor IF3 consists of two compact alpha/beta domains linked by an alpha-helix, *EMBO J.*, **14**, 4056–4064, doi: 10.1002/j.1460-2075.1995.tb00077.x.
  36. Petrelli, D., La Teana, A., Garofalo, C., Spurio, R., Pon, C.L., and Gualerzi, C.O. (2001) Translation initiation factor IF3: Two domains, five functions, one mechanism? *EMBO J.*, **20**, 4560–4569, doi: 10.1093/emboj/20.16.4560.

37. Koc, E.C., and Spremulli, L.L. (2002) Identification of mammalian mitochondrial translational initiation factor 3 and examination of its role in initiation complex formation with natural mRNAs, *J. Biol. Chem.*, **277**, 35541–35549, doi: 10.1074/jbc.M202498200.
38. Haque, M.E., and Spremulli, L.L. (2008) Roles of the N- and C-terminal domains of mammalian mitochondrial initiation factor 3 in protein biosynthesis, *J. Mol. Biol.*, **384**, 929–940, doi: 10.1016/j.jmb.2008.09.077.
39. Bhargava, K., and Spremulli, L.L. (2005) Role of the N- and C-terminal extensions on the activity of mammalian mitochondrial translational initiation factor 3, *Nucleic Acids Res.*, **33**, 7011–7018, doi: 10.1093/nar/gki1007.
40. Christian, B.E., and Spremulli, L.L. (2009) Evidence for an active role of IF3 mt in the initiation of translation in mammalian mitochondria, *Biochemistry*, **48**, 3269–3278, doi: 10.1021/bi8023493.
41. Koripella, R.K., Sharma, M.R., Haque, M.E., Risteff, P., Spremulli, L.L., and Agrawal, R.K. (2019) Structure of human mitochondrial translation initiation factor 3 bound to the small ribosomal subunit, *iScience*, **12**, 76–86, doi: 10.1016/j.isci.2018.12.030.
42. Chicherin, I.V., Zinina, V.V., Levitskiy, S.A., Serebryakova, M.V., and Kamenski, P.A. (2019) Aim23p interacts with the yeast mitochondrial ribosomal small subunit, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 40–46, doi: 10.1134/S000629791901005X.
43. Levitskii, S., Derbikova, K., Baleva, M.V., Kuzmenko, A., Golovin, A.V., Chicherin, I., Krasheninnikov, I.A., and Kamenski, P. (2018) 60S dynamic state of bacterial ribosome is fixed by yeast mitochondrial initiation factor 3, *PeerJ.*, **6**, e5620, doi: 10.7717/peerj.5620.
44. Derbikova, K., Kuzmenko, A., Levitskii, S., Klimontova, M., Chicherin, I., Baleva, M.V., Krasheninnikov, I.A., and Kamenski, P. (2018) Biological and evolutionary significance of terminal extensions of mitochondrial translation initiation factor 3, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, doi: 10.3390/ijms19123861.
45. Kuzmenko, A., Derbikova, K., Salvatori, R., Tankov, S., Atkinson, G.C., Tenson, T., Ott, M., Kamenski, P., and Haurlyuk, V. (2016) Aim-less translation: loss of *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial translation initiation factor mIF3/Aim23 leads to unbalanced protein synthesis, *Sci. Rep.*, **6**, 18749, doi: 10.1038/srep18749.
46. Herrmann, J.M., Woellhaf, M.W., and Bonnefoy, N. (2013) Control of protein synthesis in yeast mitochondria: The concept of translational activators, *Biochim. Biophys. Acta*, **1833**, 286–294.
47. Derbikova, K.S., Levitskiy, S.A., Chicherin, I.V., Vinogradova, E.N., and Kamenski, P.A. (2018) Activation of yeast mitochondrial translation: Who is in charge? *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 87–97.
48. Montoya, J., Ojala, D., and Attardi, G. (1981) Distinctive features of the 5'-terminal sequences of the human mitochondrial mRNAs, *Nature*, **290**, 465–470, doi: 10.1038/290465a0.
49. Weraarpachai, W., Antonicka, H., Sasarman, F., Seeger, J., Schrank, B., Kolesar, J.E., Lochmüller, H., Chevrette, M., Kaufman, B.A., Horvath, R., and Shoubridge, E.A. (2009) Mutation in TACO1, encoding a translational activator of COX I, results in cytochrome c oxidase deficiency and late-onset Leigh syndrome, *Nat. Genet.*, **41**, 833–837, doi: 10.1038/ng.390.
50. Green-Willms, N.S., Butler, C.A., Dunstan, H.M., and Fox, T.D. (2001) Pet111p, an inner membrane-bound translational activator that limits expression of the *Saccharomyces cerevisiae* mitochondrial gene COX2, *J. Biol. Chem.*, **276**, 6392–6397, doi: 10.1074/jbc.M009856200.
51. Rudler, D.L., Hughes, L.A., Perks, K.L., Richman, T.R., Kuznetsova, I., Ermer, J.A., Abudulai, L.N., Shearwood, A.J., Viola, H.M., Hool, L.C., Siira, S.J., Rackham, O., and Filipovska, A. (2019) Fidelity of translation initiation is required for coordinated respiratory complex assembly, *Sci. Adv.*, **5**, doi: 10.1126/sciadv.aay2118.

## PROTEIN BIOSYNTHESIS IN MITOCHONDRIA: PAST SIMPLE, PRESENT PERFECT, FUTURE INDEFINITE

### Review

**S. A. Levitskii, M. V. Baleva, I. V. Chicherin, I. A. Krasheninnikov, and P. A. Kamenski\***

*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119234 Moscow, Russia; E-mail: peter@protein.bio.msu.ru*

Received November 6, 2019

Revised December 6, 2019

Accepted December 9, 2019

Mitochondria are obligate organelles of vast majority of eukaryotic cells. They have many different functions that are critical for cellular homeostasis. The main role of mitochondria is cell supply with ATP which is synthesized in a chain of oxidative phosphorylation reactions on the organellar inner membrane. Mitochondria are believed to have an endosymbiotic origin. In course of evolution, they lost the major part of their genetic material as a result of genome reduction and gene transfer to nucleus. The majority of mitochondrial proteins are synthesized in cytosol and then imported to the organelles. However, almost all known mitochondria still contain genomes that are maintained and expressed. The process of protein biosynthesis in mitochondria – mitochondrial translation – substantially differs from those in bacteria and in cytosol of eukaryotic cells. Organellar translation is characterized by high degree of specialization and specific regulation mechanisms. In this review, we analyze available information on common principles of mitochondrial translation with special attention to the molecular mechanisms of protein biosynthesis initiation in mitochondria of yeast and mammals.

**Keywords:** mitochondria, translation, initiation, translation factor, initiation factor