

## ВЗГЛЯДЫ АЛЕКСАНДРА СПИРИНА НА РИБОСОМУ КАК ТЕПЛОЙ ХРАПОВИК

© 2021 J. Frank

*Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Columbia University Medical Center,  
New York, NY 10032, USA*

Поступила в редакцию 13.05.2021

После доработки 13.05.2021

Принята к публикации 13.05.2021

DOI: 10.31857/S0320972521080030

Александр Спирин был настоящим провидцем в области изучения рибосом. Среди его многочисленных вкладов в изучение близкого моему сердцу процесса трансляции есть один, который я хотел бы особо выделить: мРНК-тРНК-транслокация. Это этап в рабочем цикле рибосомы, в котором происходит продвижение молекулы мРНК вместе со связанной с ней тРНК на расстояние одного кодона. Данный этап, в отличие от других шагов цикла, сопровождается очень большими конформационными изменениями, приводящими к вращению субъединиц рибосомы относительно друг друга по принципу храповика. Ещё задолго до того, как были изучены детали структуры рибосомы, Спирин [1, 2] и Марк Бретчер [3] независимо друг от друга выдвинули предположение о том, что процесс транслокации включает в себя движение двух её субъединиц относительно друг друга. Тем самым они объяснили саму суть двух-субъединичной архитектуры рибосомы, поддерживаемой на протяжении 3,5 миллиардов лет эволюции. Хотя вращение в явном виде не упоминалось ни в одной из их ранних работ, Бретчер писал, что он предложил гибридную модель транслокации, которая «предполагает некоторое относительное движение двух субъединиц рибосомы, обусловленное существованием двух разделяемых частиц, образующих 70S-рибосому», а Спирин аналогичным образом предположил, что «периодическое размыкание и смыкание субчастиц рибосомы является движущим механизмом, обеспечивающим смещение (транслокацию) тРНК, мРНК и синтезируемого рибосомой пептида во время трансляции». Такое озарение двух учёных, работавших независимо друг от друга и опиравшихся на скудную структурную информацию, доступную им в то время, весьма примечательно. Так же, как и ис-

тория о том, как детали этого процесса стали известны позже, красноречиво описанная Хораном и Ноллером четыре десятилетия спустя [4]. Спирин продолжил развивать свои идеи о механизмах транслокации, в то время как Бретчер выбрал другое направление исследований.

Здесь мне хотелось бы упомянуть о том, что в 1968 году я только что пришёл в лабораторию Вальтера Хоппе в качестве аспиранта, имевшего базовые знания в области физики, без каких-либо знаний по биологии, не говоря уже о загадках рибосомы. Вместо этого я начал думать о способах обработки изображений, получаемых с помощью электронного микроскопа, и о способах реконструкции молекул, не полагаясь на то, что они могут быть упорядочены в кристалле. Этот подход, предложенный в 1975 году [5], приобрёл важное значение при изучении молекул, которые действуют как молекулярные машины и постоянно претерпевают конформационные изменения.

Лишь спустя 25 лет после появления первой концепции нам в моей лаборатории удалось получить первые структурные доказательства межсубъединичного движения с использованием криоэлектронной микроскопии одиночных макромолекул [6]. К тому времени этот новый метод изучения структуры был в достаточной степени разработан, чтобы можно было детально исследовать архитектуру рибосом, вплоть до описания подвижных доменов субъединиц и определения расположения межсубъединичных мостиков. Также к тому времени в лаборатории Гарри Ноллера была экспериментально подтверждена гибридная модель Бретчера, в которой он постулировал существование промежуточного этапа во время транслокации [7].

В двух словах, полученные нами результаты криоэлектронной микроскопии были следую-



А.С. Спирина и Иоахим Франк. Пушкино. Сентябрь 2011 года

щими: сравнение рибосомы, связанной с ГТФ-формой фактора элонгации EF-G, с рибосомой, связанной с его ГДФ-формой, показало, что межсубъединичное вращение происходит примерно на семь градусов, вызывая смещение А-сайтов 30S- и 50S-субъединиц, соответствующее продвижению мРНК на один кодон. Спирина отметил экспериментальное подтверждение своих ранних идей в мини-обзоре, опубликованном в журнале «*FEBS Letters*» [8]. В этой статье он впервые представил концепцию рибосомы как молекулярной машины: «Предполагается, что в основе всех направленных движений внутри рибосомного комплекса лежат не механические механизмы передачи и “моторики” силового удара, а вызванные тепловым движением и химически-индуцированные изменения сродства сайтов связывания рибосомы с её лигандами (тРНК, мРНК, факторам элонгации)». Зарожде-

ние идеи о том, что рибосома представляет собой Броуновский тепловой храповик, можно увидеть в его раннем открытии «неферментативной транслокации», стимулируемой параклормеркурбензоатом [9]. Это означает, что смещение, необходимое для транслокации, по всей видимости, может достигаться только за счёт теплового движения субъединиц.

И снова Спирина значительно опередил свое время, поскольку доказательства теплового движения субъединиц относительно друг друга будут получены не ранее, чем спустя пять лет (учитывая статью в журнале «*FEBS Letters*», опубликованную в 2002 г. [8]), с помощью FRET-спектроскопии (FRET в растворе) в лаборатории Ноллера [10], а позднее – с помощью FRET-спектроскопии одиночных макромолекул в лабораториях Рубена Гонзалеса [11] и Такжепа Ха [12]. Наконец, исследования структуры рибосом с помощью криоэлектронной микроскопии подтвердили, что в состоянии теплового равновесия претранслокационные рибосомы существуют по крайней мере в трёх конформационных состояниях, связанных с храповидным межсубъединичным движением, включая промежуточную конформацию [13], как это было предсказано гибридной моделью и исследованиями с использованием FRET-спектроскопии.

Наиболее исчерпывающе взгляды Спирина на механизм транслокации, основанные на данных, накопленных к тому времени, изложены в статье в «*J. Biol. Chem.*» (2009) [14] и в главе книги, которая по моему приглашению была написана им совместно с Алексеем Финкельштейном [15]. С тех пор было выполнено много исследований, посвящённых деталям атомарной структуры рибосомы, которые способствовали нашему пониманию механизма транслокации [16]. Но для меня получение с помощью структурных методов и FRET-спектроскопии доказательств гипотезы, предложенной благодаря гениальной интуиции Спирина о транслокации мРНК-тРНК, универсального процесса, лежащего в основе жизни, является одной из величайших историй в науке, и я рад, что был её участником.

**Финансирование.** Эта работа была поддержана грантом № 1R35 GM139453 Национального Института Здоровья, предоставленного Иоахиму Франку.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в каче-

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

## СТВЕ ОБЪЕКТОВ.

1. Spirin, A. S. (1968). On the ribosome working mechanism: Hypothesis of locking-unlocking of subunits [In Russian], *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, **179**, 1467-1470.
2. Spirin, A. S. (1968). How does the ribosome work? A hypothesis based on the two subunit construction of the ribosome, *Curr. Mod. Biol.*, **2**, 115-127, doi: 10.1016/0303-2647(68)90017-8.
3. Bretscher, M. S. (1968) Translocation in protein synthesis: a hybrid structure model, *Nature*, **218**, 675-677, doi: 10.1038/218675a0.
4. Horan, L. H., and Noller, H. F. (2007) Intersubunit movement is required for ribosomal translocation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 4881-4885, doi: 10.1073/pnas.0700762104.
5. Frank, J. (1975) Averaging of low exposure electron micrographs of non-periodic objects, *Ultramicroscopy*, **1**, 159-162, doi: 10.1016/s0304-3991(75)80020-9.
6. Frank, J., and Agrawal, R. K. (2000) A ratchet-like intersubunit reorganization of the ribosome during translocation, *Nature*, **406**, 318-322, doi: 10.1038/35018597.
7. Moazed, D., and Noller, H. (1989) Intermediate states in the movement of transfer RNA in the ribosome, *Nature*, **342**, 142-148, doi: 10.1038/342142a0.
8. Spirin, A. (2002) Ribosome as a molecular machine, *FEBS Lett.*, **514**, 2-10, doi: 10.1016/s0014-5793(02)02309-8.
9. Gavrilova, L. P., and Spirin, A. (1971) Stimulation of "non-enzymic" translocation in ribosomes by p-chloro-mercuribenzoate, *FEBS Lett.*, **17**, 324-326, doi: 10.1016/0014-5793(71)80177-1.
10. Ermolenko, D. N., Majumdar, Z. K., Hickerson, R. P., Spiegel, P. C., Clegg, R. M., and Noller, H. F. (2007) Observation of intersubunit movement of the ribosome in solution using FRET, *J. Mol. Biol.*, **370**, 530-540, doi: 10.1016/j.jmb.2007.04.042.
11. Fei, J., Kosuri, P., MacDougall, D. D., and Gonzalez, Jr., R. L. (2008) Coupling of ribosomal L1 stalk and tRNA dynamics during translation elongation, *Mol. Cell*, **30**, 348-359, doi: 10.1016/j.molcel.2008.03.012.
12. Cornish, P. V., Ermolenko, D. N., Noller, H. F., and Ha, T. (2008) Spontaneous intersubunit rotation in single ribosomes, *Mol. Cell*, **30**, 578-588, doi: 10.1016/j.molcel.2008.05.004.
13. Agirrezabala, X., Liao, H., Schreiner, E., Fu, J., Ortiz-Meoz, R. F., et al. (2012) Structural characterization of mRNA-tRNA translocation intermediates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 6094-6099, doi: 10.1073/pnas.1201288109.
14. Spirin, A. S. (2009) The ribosome as a conveying thermal ratchet machine, *J. Biol. Chem.*, **284**, 21103-21119, doi: 10.1074/jbc.X109.001552.
15. Spirin, A. S., and Finkelstein, A. V. (2011) The ribosome as a Brownian ratchet machine, in *Molecular Machines in Biology* (Frank, J., ed.) Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 158-190, doi: 10.1017/CBO9781139003704.011.
16. Frank, J. (2017) The translation elongation cycle-capturing multiple states by cryo-electron microscopy, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **372**, 20160180,