

УДК 577.1, 577.213, 577.214.32, 577.22

А.С. СПИРИН О МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАШИНАХ И ПРОИСХОЖДЕНИИ ЖИЗНИ

Обзор

© 2021 А.Б. Четверин

*Институт белка РАН, 142290 Пущино, Московская область, Россия;
электронная почта: achetverin@yandex.ru*

Поступила в редакцию 17.05.2021

После доработки 17.05.2021

Принята к публикации 18.05.2021

Считалось, что рибосомная РНК кодирует белки, а гидролиз GTP снабжает синтез белка энергией. С приходом А.С. Спирина в науку все изменилось. Оказалось, что белки кодирует совсем другая РНК, а гидролиз GTP лишь ускоряет процесс, энергетически обеспеченный и без него. Именно Спирин впервые выдвинул идею броуновского храповика и объяснил, как и зачем молекулярные машины могли возникнуть в мире РНК.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мир РНК, эволюция, рибосома, броуновский храповик, гидролиз АТР, преобразование энергии, силовые удары.

DOI: 10.31857/S0320972521080042

ВВЕДЕНИЕ

При всей кажущейся разнородности тем, указанных в заголовке, основной персонаж здесь один: главный рибозим природы и главное увлечение Александра Сергеевича Спирина – рибосома. Ей он посвятил фактически всю свою научную жизнь, выясняя, как она устроена, как работает и как возникла. Одна из первых работ А.С. Спирина [1] стала указанием на то, что содержащаяся в рибосомах РНК, которая составляет основную часть РНК клетки, не кодирует белки, как тогда думали, а выполняет структурную роль. Рибосоме посвящена и его последняя научная публикация, вышедшая 61 год спустя [2].

Исследование структуры рибосом помогло Спирину сформулировать гипотезу, что рибосома является машиной, работающей благодаря подвижности ее двух субчастиц. Чтобы узнать, какой «двигатель» приводит субчастицы в движение, как он работает и что служит для него «топливом», Спирин занялся выяснением общих принципов функционирования клеточных механохимических систем. А когда подтвердилась его долго вынашиваемая мысль, что именно рибосомная РНК (рРНК) осуществляет катализ синтеза белка, ему захотелось понять, как такая машина могла возникнуть в мире РНК.

Принятые сокращения: Аа – аминокислота, аминокислота.

В результате возникла целостная концепция, которую я попытался здесь представить.

ВНАЧАЛЕ БЫЛА РНК

Свою научную работу Спирин начал со сравнения нуклеотидного состава РНК и ДНК бактерий под руководством Андрея Николаевича Белозерского. Это случилось в 1954 г., через год после выхода статей Дж. Уотсона и Ф. Крика о структуре ДНК и ее биологическом смысле [3, 4], положивших начало молекулярной биологии. Как писал сам Александр Сергеевич [5], тогда он был аспирантом Института биохимии им. А.Н. Баха АН СССР, но фактически работал в только что построенном здании биологического (тогда – биолого-почвенного) факультета МГУ им. М.В. Ломоносова на Ленинских горах, которое было официально открыто 1 сентября 1954 г. [6].

Из работ, опубликованных в то время, особо выделяется статья, вышедшая в 1957 г. в журнале «Биохимия» [1]. В обзоре «Ab ovo usque ad mala» («От начала до конца»), посвященном 50-летию ее публикации [7], Александр Сергеевич отметил, что эта статья дала начало трем новым направлениям молекулярной биологии: геномикой, изучению мРНК (информационных, или матричных, РНК) и, наконец, изучению некодирующих РНК. В ней впервые был

определен нуклеотидный состав суммарной РНК в организмах с сильно различающимся нуклеотидным составом ДНК. Такие попытки предпринимались и раньше, но были не слишком успешными ввиду того, что потери РНК из-за рибонуклеазной деградации в процессе выделения сильно искажали результат. Здесь же РНК не выделяли, а подвергали щелочному гидролизу непосредственно в составе промытой бактериальной массы, что исключало ошибки, вызванные потерями РНК. Был также разработан новый метод, позволяющий на одной хроматограмме видеть все 4 нуклеотидных основания, что позволило точнее определять их относительное содержание. Оказалось, что, хотя соотношение $(G + C)/(A + T)$ в ДНК 19 исследованных видов бактерий отличалось более, чем в 6 раз, соотношение $(G + C)/(A + U)$ в их РНК отличалось чуть больше, чем на 20%.

Осознать значение этого результата для молекулярной биологии можно, посмотрев на него с точки зрения Ф. Крика, изложенной в его концептуальной статье «О синтезе белка», опубликованной в 1958 г. [8], где он впервые сформулировал центральную догму молекулярной биологии (возможен перенос информации от нуклеиновой кислоты к нуклеиновой кислоте или к белку, но не от белка к белку или к нуклеиновой кислоте) и адапторную гипотезу (трансляция генетической информации в белок осуществляется с помощью молекул, связанных с аминокислотой и несущих 2–3 нуклеотида, комплементарных матрице). Наряду с этими двумя гениальными догадками, Ф. Крик выдвинул еще одну гипотезу — о природе «микросомных частиц» (в том же году названных «рибосомами» [9]), состоящих из РНК и белка. К тому моменту уже было известно, что именно в этих частицах находится основная часть клеточной РНК и что в них происходит синтез белка. Согласно гипотезе Крика, рибосомы подобны сферическим РНК-содержащим вирусам: внутри каждой находится кодируемая ДНК-геномом РНК-матрица для синтеза определенного белка, и в клетке существует столько разных рибосом, сколько в ней разных генов и разных белков. Отсюда следовало ожидать тесную корреляцию нуклеотидных составов клеточных ДНК и РНК — поэтому результат, опубликованный в «Биохимии» [1], был абсолютно неожиданным: он опровергал постулат о том, что рибосомные РНК служат матрицами для синтеза белков. Ф. Крик не мог прочесть статью на русском языке, однако он сразу же отреагировал на ее основные выводы, опубликованные в следующем году в журнале «Nature» [10], назвав сложившуюся ситуацию «сбивающей с толку» [11].

На самом же деле, эти статьи в «Биохимии» и «Nature» как раз ситуацию проясняли. Из них следовало, что РНК, кодирующая белки и соответствующая ДНК по нуклеотидному составу, существует, но она составляет лишь небольшую долю суммарной клеточной РНК и не входит в состав выделенных рибосом; сейчас она известна как матричная РНК (мРНК) [12]. Основная же масса клеточной РНК, содержащаяся в рибосомах, филогенетически консервативна и не служит матрицей для синтеза белка. Таким образом, статья в «Биохимии» [1], составившая основу кандидатской диссертации Спирина [13], стала первым указанием на существование как кодирующих, так и класса некодирующих РНК, к которому относятся рибосомные.

СТРУКТУРА РИБОСОМЫ ДЕРЖИТСЯ НА РНК

После публикации статей в «Биохимии» и «Nature» Спирин занялся изучением физических свойств высокомолекулярных РНК. Эта работа проводилась в основном в лаборатории химии и биохимии нуклеиновых кислот Института биохимии им. А.Н. Баха АН СССР, которую Спирин возглавил после защиты им докторской диссертации в 1962 г. [14].

Поскольку выяснилось, что некодирующая рибосомная РНК составляет большую часть РНК клетки, именно она привлекла внимание Спирина [5]. Однако сначала, в порядке тренировки, была исследована геномная РНК вируса табачной мозаики (ВТМ). Ее можно было относительно легко выделить в больших количествах*. Кроме того, целостность этой РНК могла быть однозначно установлена с помощью теста на инфекционность [15], и именно ее исследование привело к обнаружению скрытых внутренних разрывов в кажущейся неповрежденной высокомолекулярной РНК.

В отличие от РНК в составе вирусной частицы, выделенная ВТМ-РНК быстро теряла инфекционность при хранении даже в асептических условиях, хотя по всем физическим тестам (электронная микроскопия, спектральные исследования, седиментация, вискозиметрия) потерявшая инфекционность РНК не отличалась от свежесделанной [15]. Однако выяснилось, что поведение этих РНК начинает различаться

* Из 1 л сока, выжатого из зараженной ВТМ томатной ботвы, получали до 1 г чистого препарата вируса [15]. Когда в 1974 г. мы с Таней Власик и Колей Руткевичем пришли работать в лабораторию Спирина в Институте белка, нам показали большую колбу с высаженным сульфатом аммония ВТМ, сохранившуюся с тех пор в холодной комнате.

при нагревании выше 50 °С: вязкость инфекционной РНК резко увеличивалась, причем данный переход наблюдался в узком температурном диапазоне; вязкость же РНК, утратившей инфекционность, не только не возрастала, но даже падала при нагревании. Поскольку снижение вязкости указывало на уменьшение размера макромолекул, был сделан вывод, что при хранении «непрерывная одноцепоччатая структура нативной РНК переходит в прерывистую» [16].

Подобная история случилась и с рибосомными РНК. Так, Б.Д. Холл и П. Доти сообщили, что нагревание 18S (600 кДа) и 28S (1300 кДа) РНК из рибосом печени теленка приводит к падению их вязкости, сопровождающемуся распадом на фрагменты с молекулярной массой около 120 кДа. Авторы сделали вывод, что 18S и 28S РНК построены из 5 и 10 субъединиц соответственно, хотя оговорились, что остается возможность, что эти субъединицы возникают в результате скрытых расщеплений («hidden scissions») РНК рибонуклеазой [17].

То, что реализуется именно такая возможность, было показано в группе Спирина в следующем же году [18]. Для предотвращения рибонуклеазной дегградации РНК ее выделяли не из рибосом, а непосредственно из гомогенизированной ткани путем фенольной экстракции. Вязкость выделенной высокомолекулярной РНК, по размеру совпадающей с рибосомной РНК, изученной Холлом и Доти, при нагревании не уменьшалась – наоборот, подобно интактной ВТМ-РНК, скачкообразно возрастала. Наблюдаемое же Холлом и Доти падение вязкости наблюдалось, как и в случае ВТМ-РНК, лишь после хранения препарата рибосом, сопровождающегося дегградацией РНК. Несколько позже было показано, что при обработке рибосом рибонуклеазой действительно возникают скрытые разрывы в РНК, которые не приводят к видимым повреждениям рибосом и их субчастиц [19].

Таким образом, Спириным и сотрудниками было установлено, что рибосомные РНК являются ковалентно-непрерывными полинуклеотидными цепями. Также было показано, что в растворах с высокой ионной силой выделенные рибосомные РНК способны приобретать компактную конфигурацию [20], что пространственная структура РНК держится на водородных и электростатических (солевых) взаимодействиях [21–23] и что, понижая ионную силу раствора в отсутствие ионов Mg^{2+} , можно обратно развернуть рибосомные субчастицы в рибонуклеопротеидные тяжи, где рибосомные белки остаются связанными с РНК [24]. Отсюда, в частности, следовало, что в физиологических условиях рибосомные РНК являются весьма

жестким каркасом, на котором держится структура рибосомных субчастиц. Этот вывод стал решающим для понимания принципов структурной организации рибосом и, по-видимому, помог Спирину сформулировать модель работы рибосомы. Это произошло уже после того, как в июне 1967 г. он возглавил созданный им Институт белка АН СССР.

ЦИКЛИЧЕСКИ РАБОТАЮЩАЯ БИОХИМИЧЕСКАЯ МАШИНА

Именно так названа рибосома в знаменитой модели смыкания-размыкания рибосомных субчастиц, опубликованной в 1968 г. [25]. К тому времени с блеском подтвердилась адапторная гипотеза Крика [8]: было установлено, что аминокислоты для синтеза белка поступают в рибосому в виде аминоацил-тРНК (Аа-тРНК, синтезируемых аминоацил-тРНК-синтетазы из тРНК и аминокислот, активируемых с помощью АТР), содержащих антикодоны, комплементарные трехнуклеотидным кодонам (триплетам) связанной с рибосомой мРНК, и там из них синтезируется полипептидная цепь в виде пептидил-тРНК.

Было также установлено, что рибосома состоит из двух слабо связанных между собой субчастиц, причем мРНК и Аа-тРНК связываются с малой субчастицей (30S – у бактерий, 40S – у эукариот), а пептидил-тРНК – с большой (50S – у бактерий, 60S – у эукариот), и там же находится пептидилтрансферазный центр, где происходит катализ синтеза пептидных связей. Этот синтез происходит путем атаки пептидил-тРНК (ее сложноэфирной связи между карбоксильной группой последнего аминокислотного остатка и 3'-гидроксильной группой 3'-концевого нуклеотида тРНК) аминогруппой новой Аа-тРНК. В результате удлиненная на один аминокислотный остаток (а.о.) полипептидная цепь оказывается связанной с новой тРНК (а, следовательно, с малой субчастицей), а тРНК, входившая в состав пептидил-тРНК, оказывается деацелированной. После синтеза пептидной связи происходит акт транслокации, включающий смещение удлиненной пептидил-тРНК от малой к большой субчастице (к которой она имеет большее сродство), сопряженное с перемещением мРНК на один кодон и диссоциацией деацелированной тРНК от большой субчастицы в раствор. Теперь Аа-тРНК-связывающий центр малой субчастицы с установленным в нем новым кодоном готов принять следующую Аа-тРНК.

Таким образом, рибосома работает циклически: каждый цикл начинается связыванием

Аа-тРНК, продолжается синтезом очередной пептидной связи и заканчивается транслокацией (подробное описание этих событий с учетом новых данных можно найти в учебнике Спирина [26] и в его последних научных публикациях по этой проблеме [2, 5, 27]).

Особенностями рибосомы в сравнении с обычными ферментами являются большая масса субстратов (Аа-тРНК и пептидил-тРНК примерно на два порядка массивнее субстратов стандартных биохимических реакций) и строгая направленность катализируемого процесса: рибосома прочитывает матрицу в направлении от 5'- к 3'-концу, что задает последовательность аминокислот в белке. Модель смыкания-размыкания рибосомных субчастиц как раз и объясняет, как рибосома решает эти проблемы. Смыкание субчастиц приводит к сближению связанных с ними Аа-тРНК и пептидил-тРНК, в том числе групп, участвующих в пептидилтрансферазной реакции, а размыкание – к транслокации матрицы, которую увлекает за собой связанная с ней пептидил-тРНК [25]. Основные положения этой модели были подтверждены результатами работ по кристаллической структуре, криоэлектронной микроскопии и динамике рибосом [2, 5, 27].

В том же 1968 г. похожая модель была предложена британским ученым М. Бретчером [28], однако приоритет Спирина становится очевидным, если обратить внимание на даты поступления рукописей в редакции журналов: 29 января [25] и 26 апреля [28]. В своем докладе на конференции, посвященной его 80-летию юбилею, Александр Сергеевич рассказал, что почти одновременно с русской версией статьи, представленной в «Доклады АН СССР», он послал ее англоязычную версию в «Journal of Molecular Biology», однако та была отвергнута редакцией; много лет спустя Бретчер признался ему, что именно он был рецензентом рукописи. Поэтому англоязычную версию Спирина опубликовал в малоизвестном издании «Currents in Modern Biology» [29]. Зато в следующем году он с успехом представил свою модель по-английски на симпозиуме «The mechanism of protein synthesis» («Механизм синтеза белка») в Колд-Спринг-Харбор (США), где собрались все ведущие специалисты в этой области [30].

РИБОСОМА – МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАШИНА, РАБОТАЕТ ТОЛЬКО С ГИДРОЛИЗОМ GTP, А ЕСЛИ GTP НЕТ, ТО БЕЗ

Это – перефразированная восточная притча, которую Александр Сергеевич использовал в ка-

честве эпиграфа к одной из глав учебника по молекулярной биологии [31]: «Гиена – хищный зверь, охотится ночью только при луне, а если луны нет, то без». Эту же притчу он вспоминал на лекциях по энергетике рибосомы.

Если рибосома – машина, то что же является ее мотором и топливом? Ко времени создания модели смыкания-размыкания рибосомных субчастиц ответ на этот вопрос казался очевидным. Было известно, что для синтеза белка на рибосоме необходим GTP и белковые факторы элонгации Т (EF-Tu) и G (EF-G), обладающие GTPазной активностью и участвующие в связывании Аа-тРНК и транслокации соответственно. Таким образом, помимо молекулы АТФ, используемой при синтезе Аа-тРНК, на синтез каждой пептидной связи тратится не менее двух молекул GTP. Считалось, что, по аналогии с гидролизом АТФ при мышечном сокращении, энергия гидролиза GTP используется для перемещений мРНК и тРНК в рибосоме [32]. Поэтому было естественно предположить, что именно факторы элонгации смыкают и размыкают рибосомные субчастицы; они являются моторами, а топливом для них служит GTP [25, 29, 30].

Однако С. Пестка показал, что синтез полифенилаланина на поли(U)-матрице может происходить и в отсутствие факторов элонгации и GTP [33, 34]. В лаборатории Спирина этот результат был подтвержден, а затем было установлено, что обработка рибосом SH-реагентом *n*-хлормеркурибензоатом (который полностью инактивирует факторы элонгации) не только не подавляет, но даже стимулирует бесфакторный синтез полифенилаланина [35, 36]. Данный факт развеял последние подозрения в том, что наблюдаемый синтез обусловлен примесями факторов элонгации и GTP. В последующих работах лаборатории было показано, что в отсутствие факторов элонгации механизм синтеза белка рибосомами точно такой же, как и в их присутствии; разница лишь в том, что в присутствии факторов элонгации и GTP синтез происходит с большей скоростью и более устойчив к действию ингибиторов, в том числе антибиотиков (см. обзоры [37–39]).

Таким образом, к середине 1970-х гг. Спирина стало ясно, что синтез белка энергетически обеспечен и без GTP (достаточно того АТФ, что используется при синтезе Аа-тРНК) и что в случае бесфакторной трансляции все механические перемещения в процессе работы рибосомы осуществляются за счет броуновского движения [37]. Зачем же тогда нужны факторы элонгации и гидролиз GTP? Может быть, все-таки для того, чтобы придать движению субчастиц допол-

нительный импульс и тем самым увеличить мощность рибосомы-машины?

РАБОТА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАШИН НЕ СОПРОВОЖДАЕТСЯ ИЗМЕНЕНИЕМ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКА

Поставленные выше вопросы вызвали интерес А.С. Спирина и к другим механохимическим системам, работа которых сопровождается гидролизом нуклеозидтрифосфатов (НТФ). На биологическом факультете МГУ он инициировал работы по изучению клеточной подвижности (их проводили В.И. Гельфанд, В.А. Розенблат, Ф.К. Гюева и Н.А. Шанина) и кальциевого насоса (В.И. Мельгунов). О широте интересов Спирина в этой области можно судить по теме обзора, который он поручил мне подготовить в качестве курсовой работы в 1973-1974 учебном году: «Молекулярно-энергетические механизмы клеточной механики», куда, помимо работы рибосомы, вошли мышечное сокращение, сократительные системы вирусов, бактерий и эукариотических клеток, а также системы трансмембранного транспорта.

В этой связи его особенно интересовал вопрос о том, какого рода конформационные изменения происходят в белках, осуществляющих гидролиз НТФ, так как в то время весьма популярной была идея о том, что энергия гидролиза НТФ запасается в напряженной конформации белка и затем используется для совершения той или иной механической работы. Ожидалось, что при этом могут происходить «драматические» изменения во вторичной структуре белка типа перехода α -спираль \rightarrow β -структура, наблюдаемого в кератине [40, 41]. Поэтому целью моей дипломной работы [42] стал поиск различий в конформациях фактора элонгации EF-Tu в составе комплексов EF-Tu – GTP (\pm Aa-тРНК) и EF-Tu – GDP, соответствующих состоянию фактора до и после гидролиза GTP, а основной задачей кандидатской диссертации [43] – сравнение конформаций альтернативных Na- и K-форм Na,K-АТРазы. Однако каких-либо различий во вторичной структуре белков, превышающих ошибку измерений (2–3%), обнаружить не удалось и был сделан вывод, что, даже если изменения внутренней структуры имеют место, они носят исключительно локальный характер [44, 45].

Два факта – способность рибосомы работать без гидролиза GTP и отсутствие крупных конформационных изменений в белках-НТРазах – заставили А.С. Спирина усомниться в справедливости популярных представлений о принципах работы механохимических систем.

МОЖЕТ ЛИ БЕЛОК СЛУЖИТЬ МОТОРОМ?

Осенью 1980 г. Александр Сергеевич предложил мне вместе поработать над этой проблемой. Работа шла почти год, мы часто встречались и подолгу беседовали. Свои выводы и аргументы мы «обкатывали» в продолжительных и подчас жарких дискуссиях с признанными авторитетами в области физики белка и полимеров Дмитрием Сергеевичем Чернавским и Александром Юльевичем Гросбергом. В результате родилась статья «Биоэнергетика и синтез белка», опубликованная в английском [38] и русском [39] вариантах*.

Основная мысль этой статьи заключается в том, что в условиях теплового (броуновского) движения белок не может служить энергетическим посредником; в частности, нельзя сохранить энергию в «напряженной» конформации белка на время, сопоставимое со временем рабочего цикла молекулярной машины. Не будучи физиками, мы не смогли убедить в этом Д.С. Чернавского с помощью физических аргументов. Однако, будучи биохимиками, мы выдвинули другой аргумент – давно известный в биохимии принцип общего промежуточного продукта, который заключается в том, что единственным способом передачи химической энергии от одной биохимической реакции к другой является сопряжение этих реакций через высокоэнергетический интермедиат (с. 354–355 в [46]).

В качестве примера можно привести синтез Aa-тРНК, при котором АТФ служит для образования макроэргической сложноэфирной связи между аминокислотой и тРНК. Этот синтез происходит в две стадии: $Aa + AMP\sim PP \rightarrow Aa\sim AMP + PP_i$ и $Aa\sim AMP + тРНК \rightarrow Aa\sim тРНК + AMP$, катализируемые аминоксил-тРНК-синтетазой. Здесь тильдой (~) обозначены макроэргические связи, а АТФ изображен как AMP~PP. На первой стадии аминокислота «активируется», то есть переходит в форму высокоэнергетического производного – аминоксиладенилата (Aa~AMP), который на второй стадии реагирует с тРНК. Таким образом, Aa~AMP является высокоэнергетическим промежуточным продуктом для этих двух реакций. Аналогичный подход (активация субстратов) широко используется в органическом синтезе

* Это была первая наша совместная публикация, несмотря на то что с 1973 г. А.С. Спирин был моим научным руководителем, формулировал решаемые мной научные задачи и обсуждал результаты; раньше он отказывался быть соавтором в моих статьях, говоря, что его вклад недостаточно велик.

(например, в синтезе олигонуклеотидов), но там нет белков-ферментов.

Если бы белок мог служить энергетическим посредником, то с его помощью можно было бы осуществлять прямую реакцию конденсации аминокислоты и тРНК, сопрягая ее с гидролизом АТФ через фермент. Более того, гидролиз АТФ можно было бы использовать в качестве универсального источника энергии для любой эндергонической реакции. Однако такого способа сопряжения биохимических реакций в природе не обнаружено. Поэтому мы сделали вывод, что и в циклически работающих механохимических системах белок не может передавать энергию гидролиза НТР в другой, сопряженный в пространстве и времени, процесс. Из этого вывода, в частности, следовало, что факторы элонгации не могут служить моторами для рибосомы. В чем же тогда их функция?

ЭНЕРГОЗАВИСИМЫЙ КАТАЛИЗ

Факторы элонгации ускоряют синтез белка на 1–2 порядка, то есть являются катализаторами. Считается, что ферменты ускоряют реакции, разбивая их на ряд элементарных стадий, каждая из которых имеет меньший активационный барьер, чем неферментативная реакция. Это можно обнаружить по уменьшению величины энергии активации Аррениуса (E_a), сравнивая температурные зависимости скоростей ферментативной и неферментативной реакций.

Оказалось, что если температурные зависимости фактор-зависимой и бесфакторной трансляции определять при повышенной концентрации ионов Mg^{2+} , когда скорость-лимитирующей стадией является транслокация, то значения E_a совпадают [47]. Этот результат подтвердил сделанный ранее вывод, что факторы элонгации не изменяют механизм работы рибосомы, в частности механизм транслокации (не разбивают ее на несколько стадий). Он также указал на то, что ускорение процесса достигается через понижение энтропии системы (что не сказывается на температурной зависимости, то есть величине E_a); иными словами, факторы элонгации осуществляют энтропийный катализ [38, 39, 47].

По мысли А.С. Спирина, перемещения всех массивных компонентов транслирующей рибосомы (субчастиц, тРНК, матрицы) происходят за счет энергии броуновского движения [37]. В отсутствие факторов элонгации они происходят более или менее беспорядочно, так что продуктивные перемещения (по надлежащим траекториям) являются относительно редкими событиями.

Связывание факторов в нужном месте и в нужное время резко ограничивает число степеней свободы – фиксирует транслирующую рибосому так, что перемещения происходят по выделенным траекториям. Это значительно увеличивает вероятность осуществления (а, следовательно, скорость и помехоустойчивость) соответствующих стадий.

Но приведет ли такая фиксация к ускорению всего процесса? Ответ на этот вопрос дали эксперименты с негидролизруемыми аналогами GTP [37, 48]. Оказалось, что в присутствии GMP-P(CH₂)P или GMP-P(NH)P факторы элонгации практически так же хорошо катализировали кодон-зависимое связывание Аа-тРНК (EF-Tu) и транслокацию (EF-G), как в присутствии GTP, однако дальнейшие стадии цикла (пептидилтрансферазная реакция и связывание следующей Аа-тРНК соответственно) не осуществлялись. Для продолжения цикла комплекс фактора элонгации с негидролизруемым аналогом необходимо было отмыть от рибосомы (с помощью центрифугирования через сахарозную «подушку» [49] или пропускания буфера через колонку поли(U)-целлюлозы со связанными транслирующими рибосомами [50]). Таким образом, гидролиз GTP необходим, чтобы факторы ушли от рибосомы; иначе процесс не сможет продолжаться.

Важно отметить, что факторы задают траекторию перемещения массивных компонентов транслирующей рибосомы, но не направление этого движения [38, 39]. После того, как фактор потерял связь с рибосомой, все могло бы вернуться в исходное положение, если бы не произошло образования очередной пептидной связи (и, следовательно, удлинения полипептидной цепи) или если бы произошло обращение пептидилтрансферазной реакции. Таким образом, не факторы элонгации и гидролиз GTP, а именно растущая пептидил-тРНК является тем самым храповиком (см. ниже), который позволяет рибосоме работать за счет броуновского движения. (Дополнительным источником энергии для этого храповика может служить процесс сворачивания полипептидной цепи в белковую глобулу, который, как предсказал А.С. Спирин, происходит котрансляционно [51].)

БРОУНОВСКИЙ (ТЕПЛОЙ) ХРАПОВИК

Идею молекулярной машины, приводимой в действие броуновским (тепловым) движением, А.С. Спирин опубликовал еще в 1978 г. [37]. В 1982 г. было опубликовано подробное описание принципа действия такой машины на примере

работы рибосомы и сделан вывод, что на подобном же принципе должны работать все механохимические системы, в том числе система мышечного сокращения [38, 39]. Наконец, было показано, что направленность процесса работы рибосомы обеспечивается энергией синтеза пептидной связи; не было лишь произнесено слово «храповик».

Однако эта идея осталась почти незамеченной, хотя А.С. Спирин неоднократно возвращался к ней в последующих публикациях [52–54]. Исследователи, занимающиеся механохимическими системами, продолжали верить, что работа таких систем основана на «силовых ударах» (power strokes), питаемых энергией гидролиза АТФ [55, 56]. Лишь к середине 1990-х гг. некоторые ученые начали осознавать, что такой способ превращения химической энергии в механическую невозможен: расчет показывает, что суммарная мощность ударов, сыплющихся на молекулярную машину со всех сторон в результате теплового (броуновского) движения молекул растворителя, примерно в миллиард раз больше мощности, получаемой той же машиной от гидролиза АТФ [57]. Поэтому, если силовые удары на молекулярном уровне и происходят, то их осуществляет именно броуновское движение.

В качестве альтернативы была предложена идея броуновского (теплового) храповика — функционального аналога макроскопического храповика (шестерни с асимметричными зубьями, снабженной препятствующей обратному вращению собачкой), который превращает неупорядоченное тепловое движение в направленное движение молекулярной машины. Чтобы не допустить нарушения второго закона термодинамики, было постулировано, что броуновский храповик питается энергией сопряженного химического процесса [58–60]. По сути, это явилось повторением идеи А.С. Спирина, но лишь в одной статье на эту тему [61] дается ссылка на статью 1982 года [38].

Какой же процесс снабжает энергией броуновский храповик и, следовательно, является источником энергии, за счет которой молекулярная машина производит полезную работу? В частности, практически в каждой статье по мышечному сокращению содержится утверждение, что источником энергии для него является гидролиз АТФ, однако нигде не дается ссылка на работу, где бы это было неопровержимо доказано. Анализ литературы привел к классической статье В.А. Энгельгардта и М.Н. Любимовой, где было показано, что миозин обладает АТФазной активностью [62]. Этот результат затем подтвердили А. Сент-Дьердьи и

И. Банга [63]*. Однако из того факта, что гидролиз АТФ сопровождает работу мышц, еще не следует, что он служит источником энергии для мышечного сокращения.

Аналогия с мышечным сокращением позволила Ф. Липману предположить, что осуществляемый фактором элонгации G гидролиз GTP является источником энергии для транслокации пептидил-тРНК и мРНК в рибосому [32, 64]. Этот тезис казался настолько естественным и самоочевидным, что никто и не подумал бы сомневаться в его справедливости, если бы не было обнаружено, что весь процесс синтеза белка рибосомой, включая транслокацию, может происходить в отсутствие гидролиза GTP. И, хотя мышечного сокращения в отсутствие АТФ пока никто не видел, та же аналогия позволяет подозревать, что не гидролиз АТФ служит источником энергии для мышечного сокращения.

Как обсуждалось выше, факторы элонгации катализируют процесс, уже обеспеченный энергией. Этот катализ является энергозависимым, так как заключается в циклической фиксации-дефиксации массивных объектов, перемещаемых под действием броуновского движения. Подобная же циклическая фиксация-дефиксация массивных объектов (миозиновых и актиновых волокон) наблюдается и при сопряженном с гидролизом АТФ мышечном сокращении [55, 56]. Если биологические процессы следуют единой логике (а, по-видимому, именно этим соображением руководствовался Липманн, проводя аналогию между работой мышц и рибосомы), то вероятно, что и в этом случае энергия гидролиза NTP расходуется не на мышечное сокращение, а на его катализ. Источником же энергии для броуновского храповика в случае мышечного сокращения мог бы быть, например, клеточный метаболизм в целом (в том числе и гидролиз АТФ), изменяющий состояние клеточной среды в направлении, делающем процесс сокращения энергетически выгодным [38, 39]**.

После того, как термины «тепловой храповик» и «броуновский храповик» прижились и стали популярными, Спирин опубликовал ряд

* Вероятно, это самая короткая в истории науки статья. Она состоит лишь из двух фраз (мой перевод с английского): «Наши эксперименты подтверждают результаты В.А. Энгельгардта и М.Н. Любимовой, согласно которым аденозинтрифосфатаза связана с миозином. Фермент активируется Са; Са может быть замещен другими двухвалентными металлами».

** В этих статьях сказано: «Роль гидролиза АТФ в мышечном сокращении... состоит, на наш взгляд, в снятии активационных барьеров для сопряженного процесса... такая интерпретация позволяет рассматривать АТФ в качестве регулятора мышечной активности и скорости мышечного сокращения и, следовательно, мощности мышцы».

статей с целью «перевести» свои идеи о механизме работы и энергетике рибосомы на новый язык, а также детализировать модель смыкания-размыкания рибосомных субчастиц с учетом новых данных по структуре и функции рибосомы; при этом суть осталась неизменной [2, 5, 27, 65, 66].

РИБОСОМА И РНК-ПОЛИМЕРАЗА: ДВЕ МАШИНЫ В ОДНОЙ УПРЯЖКЕ

В номере журнала «Молекулярная биология», посвященном 80-летию Р.Б. Хесина-Лурье, одного из пионеров исследования транскрипции, Спирин опубликовал статью, где показал, что работа ДНК-зависимой РНК-полимеразы может быть целиком основана на модели броуновского храповика без привлечения каких-либо силовых ударов. По Спирину, РНК-полимераза построена и работает на тех же принципах, что и рибосома: она содержит несколько подвижных структурных блоков, взаимная ориентация которых изменяется в течение элонгационного цикла за счет броуновского движения; этот цикл включает транслокацию (направленное перемещение матрицы и растущей цепи РНК) и наращивание полимера на одно звено (синтез очередной межнуклеотидной связи*) [67].

В отличие от рибосомы, работа РНК-полимеразы не сопряжена с гидролизом какого-либо NTP; поэтому здесь в принципе не стоит вопрос о его вкладе в энергетический процесс, а также о том, что является храповиком: им может быть только синтезируемая цепь РНК, рост которой и определяет направление всего процесса.

Почему же при работе рибосомы, в отличие от РНК-полимеразы, тратится еще 2 молекулы GTP в каждом элонгационном цикле? Вероятно потому, что работа рибосомы связана с перемещением больших масс (помимо собственной массы, которая у рибосомы на порядок больше, ей надо переместить дополнительно 2–3 молекулы тРНК), а также потому, что ей надо за один цикл передвинуть матрицу на большее расстояние (три нуклеотида вместо одного).

В отсутствие гидролиза GTP скорость трансляции падает на 1–2 порядка [47], что, вероятно, несовместимо с жизнедеятельностью клет-

ки. В клетках же прокариот, где транскрипция и трансляция осуществляются в одном компартменте, эти процессы строго скоординированы [68]. Трансляция мРНК начинается в процессе ее синтеза, как только инициаторный кодон становится доступным для посадки рибосомы. Время элонгационного цикла рибосомы, связанного с перемещением мРНК на один кодон (3 нуклеотида), ровно в 3 раза больше, чем время синтеза одной межнуклеотидной связи РНК-полимеразой; таким образом, РНК-полимераза и рибосома читают свои матрицы с одинаковой скоростью. Более того, замедление трансляции (например, под действием антибиотика или при встрече с редкими кодонами) пропорционально замедляет транскрипцию. В норме транслирующая рибосома стимулирует транскрипцию, помогая РНК-полимеразе избежать «отката» (обращения транслокации, в результате которого полимеразы откатывается назад, на уже прочитанный участок ДНК-матрицы, а растущий конец мРНК, отождествленный с ДНК-матрицей, высвобождается из активного центра) [68]. Иными словами, подталкивая РНК-полимеразу сзади, рибосома помогает той избежать пробуксовывания храповика. Таким образом, рибосома и РНК-полимераза оказываются в одной упряжке и вместе «тащат воз» экспрессии генов, объединив свои энергетические ресурсы.

В конце статьи об энергетике РНК-полимеразы Спирин написал: «В дальнейших публикациях я постараюсь показать, что те же принципы могут быть применены для описания движения и других молекулярных машин – рибосомы, миозина, кинезина, динеина, трансмембранных АТР-синтаз и бактериальных жгутиков – без всяких «моторов», «роторов» и «статоров»» [67]. К сожалению, он успел сделать не все из запланированного.

ВНАЧАЛЕ БЫЛА РНК – 2

Если следовать хронологии Природы, то этот эпизод – о роли РНК в происхождении жизни – в данном сериале должен быть первым, так как его действие развивается задолго до возникновения клеток, рибосом и других современных молекулярных машин. Однако в жизни Спирина он стал продолжением его увлечения РНК, начавшегося почти на полвека раньше. Какое внимание Спирин уделял этому вопросу, можно увидеть из того факта, что ему он посвятил почти половину своего доклада, сделанного 15 мая 2002 г. на Общем собрании Российской академии наук при награждении Большой золотой медалью им. М.В. Ломоносова [69].

* Фактически на добавление одного звена и в полирибонуклеотид (РНК-полимераза), и в полипептид (рибосома) расходуется энергия связи между α - и β -фосфатами NTP: в первом случае – непосредственно при наращивании полимера, во втором – на стадии аминоацилирования тРНК. В обоих случаях сдвиг равновесия в сторону синтеза полимера происходит благодаря гидролизу образующегося пирофосфата (PPi).

По-видимому, интерес к роли РНК в происхождении жизни Спирина унаследовал от своего учителя А.Н. Белозерского, который сказал на Московском международном симпозиуме «Происхождение жизни на Земле» в августе 1957 г.: «Создается впечатление, что РНК, связанная с наиболее общими проявлениями жизнедеятельности, сформировалась на более раннем этапе развития жизни, в то время как возникновение ДНК связано с формированием более узких и филогенетически более поздних свойств организмов» [70]. По мнению Спирина [71], это была первая публичная постановка вопроса о древних формах жизни на основе РНК. Лишь десятилетие спустя Ф. Крик [72] и Л. Оргел [73] опубликовали согласованные концепции о первичности РНК при возникновении жизни, а почти через 30 лет, после открытия рибозимов [74, 75], когда выяснилось, что молекулы РНК могут выполнять практически все жизненно важные функции (генетические, структурные и каталитические) без помощи ДНК и белков, У. Гилберт ввел термин «мир РНК» [76]. Наконец, в 2000 г. было показано, что пептидилтрансферазный центр рибосомы целиком состоит из РНК и, следовательно, рибосома также является рибозимом [77]. Это отбросило последние сомнения в том, что «всемогущие» РНК [69, 78] появились раньше белков и, по-видимому, подогрело интерес Спирина к проблеме происхождения жизни.

Первую статью на эту тему Спирина опубликовал в год своего 70-летия [79]. Хотя к тому времени идея мира РНК стала общепринятой, оставалась неясным, как этот мир возник. Был продемонстрирован спонтанный синтез олигонуклеотидов из активированных рибонуклеотидов [80]. Было предложено несколько вариантов абиогенного происхождения мономерных нуклеотидов, в том числе синтез при грозовых разрядах в восстанавливающей (бескислородной) атмосфере, занос из космоса с метеоритами, а также синтез в глубоководных гидротермальных источниках – «черных курильщиках» [81]. Однако оставалась незаполненной большая логическая брешь: как короткие неупорядоченные олигонуклеотиды эволюционировали в молекулы РНК, обладающие уникальной пространственной структурой, разнообразными каталитическими функциями и способностью к воспроизведению?

В поисках ответа на этот вопрос Спирина обратил внимание на результаты, полученные при работе по проекту создания бесклеточной системы репликации РНК, целью которого была разработка универсального метода, позволяющего получать практически в неограниченном коли-

честве любую желаемую РНК. Для выполнения этого проекта Спирина в 1985 г. организовал в Институте белка АН СССР группу (позже трансформированную в лабораторию) биохимии вирусных РНК, руководить которой он поручил мне. Это стало полной неожиданностью для меня, до этого занимавшегося проблемами механохимического сопряжения и ионного транспорта [43]; тем самым Александр Сергеевич ввел меня в мир РНК, передав эстафету, полученную от Белозерского.

Создание этого проекта было обязано еще одному увлечению Спирина – крупномасштабному бесклеточному синтезу белков [82], для которого требовались большие количества мРНК. Он надеялся, что их можно будет нарабатывать с помощью Q β -репликазы (РНК-зависимой РНК-полимеразы бактериофага Q β), обладающей непревзойденной способностью размножать РНК *in vitro*. Раньше использованию Q β -репликазы для этой цели препятствовала ее крайне высокая избирательность (матричная специфичность). Однако в 1985 г. казалось [83], что это проблему можно обойти с помощью метода, изобретенного в Колумбийском университете учениками С. Спигельмана. Идея заключалась в том, чтобы внедрить целевую РНК внутрь молекулы эффективной природной матрицы Q β -репликазы [84]. И хотя определенный успех в этом направлении был достигнут при работе по проекту [85, 86], его главный результат заключался в ином.

ЗАГАДКА БЕЗМАТРИЧНОГО СИНТЕЗА РНК

Как фермент, эффективно синтезирующий РНК на РНК-матрице, Q β -репликаза давно привлекала внимание исследователей, увлеченных происхождением жизни. В 1975 г. сотрудниками М. Айгена была опубликована сенсационная статья, сообщившая о невероятно высокой скорости эволюции РНК в пробирке. Как было заявлено, в реакционной смеси, куда добавляли лишь чистые NTP и чистую Q β -репликазу, в пределах часа накапливалось большое количество РНК размером около 200 нуклеотидов (нт). Авторы сделали вывод, что эта РНК синтезирована *de novo*: сначала Q β -репликаза синтезировала без матрицы разнообразные случайные полирибонуклеотиды, которые в той же пробирке в пределах часа эволюционировали в ее эффективную матрицу [87].

Этот вывод мог осчастливить тех, кто был озадачен проблемой происхождения жизни, так как он сразу снимал проблему «геологического парадокса», гласящего, что для появления,

размножения и эволюции мира РНК в геологической истории Земли отводилось не более 100 млн лет [88]. Из этого вывода следовало, что достаточно в первичном бульоне возникнуть РНК-репликазе, как вся остальная эволюция произошла бы практически мгновенно. Однако в таком случае сводились бы почти к нулю шансы на успех в достижении цели, поставленной перед нами Спириным, так как вместо заданных РНК Q β -репликазы синтезировала бы те эффективные матрицы, которые возникли *de novo*.

Синтез РНК в отсутствие добавленной матрицы мы увидели в первом же эксперименте с Q β -репликазой. Однако нуклеотидная последовательность основного продукта синтеза показала, что он никак не мог возникнуть *de novo*: 80 нт из его общей длины в 120 нт совпали с фрагментом гена белка оболочки фага Q β , а 33 нт — с фрагментом аспартиловой тРНК *Escherichia coli*. Отсюда следовало, что данный продукт был синтезирован на матрице, образовавшейся в результате рекомбинации этих двух РНК [89].

Выяснить источник РНК-матриц в реакционной смеси удалось с помощью изобретенного нами метода молекулярных колоний. Оказалось, что если Q β -репликазную реакцию проводить не в жидкости, а в агарозном геле, то образуются дискретные колонии РНК, содержащие по 10^{10} – 10^{11} копий родительской молекулы и обнаруживаемые при окрашивании геля бромистым этидием. Число колоний возрастало, если гель держали открытым до начала реакции или если эксперимент проводили в комнате, где уже работали с реплицирующимися РНК. Отсюда следовало, что РНК-матрицы попадают в реакционную смесь из воздуха [90, 91].

С помощью того же метода удалось проследить процесс рекомбинации РНК. С этой целью в гель добавляли смесь фрагментов реплицируемой РНК, не способных к размножению Q β -репликазой. Образование реплицируемых молекул в результате рекомбинации фрагментов приводило к появлению колоний РНК [92]. Оказалось, что реплицируемые РНК появляются, даже если смесь фрагментов инкубируют без Q β -репликазы или какого-либо иного белка — единственным требованием является присутствие ионов Mg²⁺ — и что рекомбинация происходит путем перетрансэстерификации межнуклеотидных связей [93, 94]. Тем самым была продемонстрирована возможность спонтанного объединения коротких РНК в более длинные молекулы.

Обнаружение способности РНК к самопроизвольным перестройкам первичной структуры, изобретение способа размножения РНК в виде

молекулярных колоний, а также ранее сформулированные принципы работы молекулярных машин составили основу Спириной концепции возникновения и эволюции мира РНК.

ВОЗНИКНОВЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ МИРА РНК

Неэнзиматический синтез РНК. По мнению Спирина, обнаруженные нами спонтанные рекомбинации могли бы стать решением проблемы синтеза достаточно длинных РНК. Он предположил, что абиогенно синтезируемые олигорибонуклеотиды активно рекомбинировали посредством механизма спонтанной неэнзиматической трансэстерификации, приводя к образованию удлиненных цепей РНК и давая начало их многообразию. Именно этим путем в популяции олигонуклеотидов и полинуклеотидов могли появиться как каталитически активные виды РНК (рибозимы), так и другие виды РНК со специализированными функциями. Более того, неэнзиматическая рекомбинация олигонуклеотидов, рядом отождествленных с полинуклеотидной матрицей, могла обеспечить сшивание (сплайсинг) фрагментов, комплементарных этой матрице, в единую цепь. Именно таким способом, а не катализируемой полимеризацией мононуклеотидов, могло осуществляться первичное копирование (размножение) РНК [79]. К этому можно добавить, что, в отличие от полимеризации мономерных нуклеотидов, спонтанные рекомбинации олигонуклеотидов не требуют их предварительной активации [93].

И далее: «Появление достаточно длинных полирибонуклеотидов и генерация вариантов за счет спонтанных *цис*- и *транс*-перестроек должны были привести к случайному появлению рибозимов, и критическим этапом должно было стать возникновение в популяции РНК-рибозима, катализирующего процесс комплементарной репликации РНК... С появлением таких рибозимов — хотя бы одной молекулы на популяцию молекул РНК в каком-то небольшом водоеме — мир РНК обрел свою сущность как самосохраняющаяся и развивающаяся материя на древней Земле» [71].

Однако на этом этапе еще не могло быть биологической эволюции. Такой рибозим «одинаково хорошо должен был амплифицировать как редкие молекулы РНК, обладающие какими-либо полезными для популяции свойствами..., так и основную массу неактивных, балластных молекул РНК. Чтобы естественный отбор начал работать, необходима была какая-то форма компартиментализации, обособления отдельных

ансамблей РНК, в которых рибозимы и их продукты удерживались бы вместе. Только тогда естественный отбор мог отличить те РНК, чей продукт лучше, и те ансамбли, чьи РНК функционально лучше дополняют друг друга» [71].

Молекулярные колонии как доклеточная форма компарментализации. Согласно Спирину [95], идея «выделения из окружения» как условия эволюции макромолекул была впервые сформулирована А.И. Опариним [96]*. Однако предложенный Опариним способ компарментализации в виде коацерватных капель не мог быть реализован в мире РНК ввиду отсутствия полипептидов, полисахаридов и иных способных к коацервации полимеров [69]. Также не подходила компарментализация с помощью липидной оболочки (мембраны), так как еще не было ни липидов, ни систем трансмембранного транспорта для обмена веществ с внешней средой.

В этих условиях, по мнению Спирина, самым естественным способом компарментализации могли быть молекулярные колонии, образующиеся при размножении РНК на поверхности влажной глины после подсыхания лужи типа Дарвиновского пруда, населенной молекулами РНК и содержащей активированные нуклеотиды или их предшественники. Такой способ «временной» компарментализации создавал условия, с одной стороны, для действия естественного отбора, с другой — для эволюции всей популяции лужи путем систематического обогащения удачными вариантами РНК, подобно технологии SELEX [97] (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment; систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения).

Возможен был следующий сценарий [71, 95, 98]. Если при высыхании лужи в каком-то месте оказывались молекулы реплицирующего рибозима и нескольких других видов РНК, обеспечивающих связывание необходимых веществ и катализ необходимых реакций, то здесь вырастала смешанная колония РНК. Колонии с наиболее активными и лучше всего дополняющими друг друга вариантами молекул РНК росли быстрее других. При новом обводнении лужи, приводящем к растворению колоний, потом-

ство самых густонаселенных колоний начинало доминировать в популяции. В то же время обводнение создавало условия для «скрещивания» колоний. Наряду с внутри- и межмолекулярными рекомбинациями молекул и ошибками репликации это приводило, при очередном высыхании лужи, к появлению колоний РНК с новыми свойствами. Повторение циклов высыхания/обводнения приводило не только к размножению молекул РНК, но и к их лучшей адаптации к условиям существования, то есть к возникновению механизма естественного отбора. Колонии РНК могли распространяться на большие расстояния как сцепленные ансамбли в кусочках глины потоками воды (в виде суспензии глины) или ветром (в виде сухих частиц).

Такие колонии РНК удовлетворяют всем требованиям к «универсальному предшественнику» живых существ на Земле, сформулированным К. Вузом [99]: высокий уровень мутаций из-за несовершенства механизмов репликации генетического материала, свободный обмен генетическим материалом между прогенотами (предшественниками клеток) и коммунальный способ бытия этих предшественников — когда любые продукты и инновации одних становятся достоянием всех [69, 71, 95, 98].

Возникновение молекулярных машин. По мнению Спирина, эволюция мира РНК с неизбежностью вела к возникновению молекулярных машин. Потребность в таких машинах остро возникла при репликации РНК, продуктом которой был дуплекс — двойная спираль, образуемая комплементарными цепями РНК. С одной стороны, в таком виде РНК гораздо меньше подвержена гидролизу, чем в одноцепочечном состоянии, и это обеспечивало ее лучшую сохранность. С другой стороны, дуплекс не мог служить матрицей: для репликации его необходимо расплетать на составные комплементарные цепи [100].

Подобно ПЦР (полимеразной цепной реакции), репликация РНК могла бы осуществляться благодаря циклическим изменениям температуры: расплавление дуплекса происходило бы при повышении температуры, а копирование цепей — при ее понижении. Вероятно, необходимые экстремальные значения дневной и ночной температуры могли бы достигаться в то время в каком-то районе Земли, однако репликация происходила бы с очень низкой скоростью: всего один цикл в сутки. Возможно, так и было на заре мира РНК, но дальнейшее развитие требовало ускорения процесса.

Дуплекс расплетается при повышении температуры благодаря увеличению суммарной мощности ударов по нему молекул растворителя

* В частности, Опарин писал: «Момент выпадения геля, момент образования первородного студня является крайне важным этапом в процессе самозарождения жизни. В этот момент... совершился переход органического соединения в организованное тело... это тело стало в то же время индивидуумом... противопоставило себя окружающей его внешней среде». И далее: «Раста, развиваться могли только наиболее сильные и совершенные, все остальные или останавливались в своем развитии, или погибали».

(броуновского движения). Однако увеличения суммарной мощности ударов по мишени можно достичь не только путем повышения температуры, но и путем увеличения размера мишени. По-видимому, в этом и заключается принцип действия молекулярных машин: они «ловят» броуновское движение как парус ловит ветер и «делаются» им со связанным объектом; в данном случае — с участком дуплекса, который надо расплести.

Вероятно, по мере увеличения размера реплицирующего рибозима и повышения специфичности его взаимодействий с РНК он приобрел способность использовать броуновское движение для локального расплетания дуплекса при все более низкой температуре, пока, наконец, не начал осуществлять репликацию РНК в изотермических условиях. Иными словами, реплицирующий рибозим стал молекулярной машиной, способной направленно перемещаться вдоль дуплекса и синтезировать РНК, комплементарную матричной цепи дуплекса, за счет энергии броуновского движения. Как и в случае современной РНК-полимеразы, храповиком, обеспечивающим направленность («ректификацию») процесса, служила синтезируемая цепь РНК.

Другая возможность, рассмотренная А.С. Спириным, заключается в кооперировании реплицирующего рибозима (элонгазы) с рибозимом-хеликазой, способным локально расплести дуплекс при связывании с ним в комплексе с расщепляемым лигандом типа NTP и покидать расплетенный участок после расщепления лиганда, освобождая место для идущей следом элонгазы [100].

КРУГ ЗАМКНУЛСЯ

Дальнейшее развитие мира РНК привело к появлению еще одной молекулярной машины, состоящей из прорибосомной РНК, обладавшей пептидилтрансферазной активностью, и еще одной прорибосомной РНК, способной взаимодействовать как с первой прорибосомной РНК, так и с про-мРНК, а также с набором про-тРНК, специфически связывающих аминокислоты или

короткие пептиды. Такая машина уже могла транслировать нуклеотидную последовательность про-мРНК в аминокислотную последовательность полипептидных цепей, что обеспечило переход жизни на новую ступень развития [79].

Где бы ни происходили описанные события — на Земле, на других космических телах или в ядрах комет — для возникновения коммунального мира РНК должны были быть обеспечены следующие условия: (1) наличие жидкой воды и РНК-адсорбирующих поверхностей; (2) осуществление циклов подсушивания и увлажнения (или затопления), нагревания и охлаждения, замораживания и оттаивания; (3) защита от космического излучения [88, 95].

В завершение своего Ломоносовского доклада Спириным сказано: «Что же стало с миром РНК после распада коммуны? Хотя коммуна распалась, мир РНК сохранился в каждой клетке каждого живого организма. Основой современной жизни является наследуемый биосинтез белков, который определяет все признаки ныне существующих живых организмов. В качестве центрального звена этого процесса биосинтеза белков выступает совокупность взаимодействующих друг с другом молекул РНК различных типов, прежде всего рибосомной РНК, формирующей аппарат белкового синтеза, тРНК, доставляющей в рибосому активированные аминокислоты для построения полипептидных цепей белков, и мРНК, несущей в своей нуклеотидной последовательности программу для синтеза белка... Можно сказать, что совокупность молекул РНК — мир РНК — по-прежнему составляет ядро жизни» [69].

Очевидно, что потенциал идей Спирина еще далеко не исчерпан и, безусловно, они и дальше будут играть важную роль в развитии молекулярной биологии и смежных областей науки.

Финансирование. Работа не была финансирована какими-либо фондами или проектами.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Спиринов А. С., Белозерский А. Н., Шугаева Н. В., Ванюшин Б. Ф. (1957) Изучение видовой специфичности нуклеиновых кислот у бактерий, *Биохимия*, **22**, 744-754.
2. Финкельштейн А. В., Разин С. В., Спиринов А. С. (2018) Межсубъединичная подвижность рибосомы, *Молекулярная биология*, **52**, 921-934, doi: 10.1134/S0026898418060083.
3. Watson, J. D., and Crick, F. H. (1953) Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature*, **171**, 737-738, doi: 10.1038/171737a0.
4. Watson, J. D., and Crick, F. H. (1953) Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid, *Nature*, **171**, 964-967, doi: 10.1038/171964b0.

5. Spirin, A. S. (2009) The ribosome as a conveying thermal ratchet machine, *J. Biol. Chem.*, **284**, 21103-21119, doi: 10.1074/jbc.X109.001552.
6. Газета «Московский университет», 2 сентября 1954 г., URL: <http://letopis.msu.ru/content/letopis-biologicheskogo-fakulteta>.
7. Спири́н А. С. (2007) Ab ovo usque ad mala, *Биохимия*, **72**, 1573-1575, doi: 10.1134/s0006297907120012.
8. Crick, F. H. (1958) On protein synthesis, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **12**, 138-163.
9. Roberts, R. B. (1958) Introduction, in *Microsomal Particles and Protein Synthesis* (Roberts, R. B., ed.) Pergamon Press, N. Y., pp. vii-viii.
10. Belozersky, A. N., and Spirin, A. S. (1958) A correlation between the compositions of deoxyribonucleic and ribonucleic acids, *Nature*, **182**, 111-112, doi: 10.1038/182111a0.
11. Crick, F. H. (1959) The present position of the coding problem, *Brookhaven Symp. Biol.*, **12**, 35-39.
12. Jacob, F., and Monod, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins, *J. Mol. Biol.*, **3**, 318-356, doi: 10.1016/s0022-2836(61)80072-7.
13. Спири́н А. С. (1957) *Изучение видовой специфичности нуклеиновых кислот у бактерий*. Дис. канд. биол. наук, Институт биохимии им. А.Н. Баха АН СССР, Москва.
14. Спири́н А. С. (1962) *Макромолекулярная структура высокомолекулярных рибонуклеиновых кислот*. Дис. докт. биол. наук, Институт биохимии им. А.Н. Баха АН СССР, Москва.
15. Гаврилова Л. П., Спири́н А. С. (1959) Инфекционная рибонуклеиновая кислота вируса табачной мозаики и ее поведение в процессе потери инфекционности, *Биохимия*, **24**, 503-513.
16. Гаврилова Л. П., Спири́н А. С., Белозерский А. Н. (1959) Действие температуры на состояние макромолекулы вирусной рибонуклеиновой кислоты в растворе, *Докл. АН СССР*, **126**, 1121-1124.
17. Hall, B. D., and Doty, P. (1959) The preparation and physical chemical properties of ribonucleic acid from microsomal particles, *J. Mol. Biol.*, **1**, 111-126, doi: 10.1016/S0022-2836(59)80040-1.
18. Спири́н А. С., Мильман Л. С. (1960) Действие температуры на состояние макромолекул высокополимерной рибонуклеиновой кислоты из животных тканей, *Докл. АН СССР*, **134**, 717-720.
19. Шакулов Р. С., Айтхожин М. А., Спири́н А. С. (1962) О скрытой деградации рибосом, *Биохимия*, **27**, 744-751.
20. Kisselev, N. A., Gavrilova, L. P., and Spirin, A. S. (1961) On configurations of high-polymer ribonucleic acid macromolecules as revealed by electron microscopy, *J. Mol. Biol.*, **3**, 778-783, doi: 10.1016/s0022-2836(61)80083-1.
21. Спири́н А. С., Гаврилова Л. П., Бреслер С. Е., Мосевичкий М. И. (1959) Исследование макромолекулярных структур инфекционной рибонуклеиновой кислоты вируса табачной мозаики, *Биохимия*, **24**, 938-947.
22. Богданова Е. С., Гаврилова Л. П., Дворкин Г. А., Киселев Н. А., Спири́н А. С. (1962) Исследования макромолекулярной структуры высокополимерной (рибосомальной) рибонуклеиновой кислоты из *Escherichia coli*, *Биохимия*, **27**, 387-402.
23. Spirin, A. S. (1960) On macromolecular structure of native high-polymer ribonucleic acid in solution, *J. Mol. Biol.*, **2**, 436-446, doi: 10.1016/S0022-2836(60)80054-X.
24. Спири́н А. С., Киселев Н. А., Шакулов Р. С., Богданов А. А. (1963) Изучение структуры рибосом: обратимое разворачивание рибосомных частиц в рибонуклеопротеидные тяжи и модель укладки, *Биохимия*, **28**, 920-930.
25. Спири́н А. С. (1968) О механизме работы рибосомы. Гипотеза смыкания-размыкания субчастиц, *Докл. АН СССР*, **179**, 1467-1470.
26. Спири́н А. С. (2019) *Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка*, Лаборатория знаний, Москва.
27. 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.
28. Bretscher, M. S. (1968) Translocation in protein synthesis: A hybrid structure model, *Nature*, **218**, 675-677, doi: 10.1038/218675a0.
29. 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.
30. Spirin, A. S. (1969) A model of the functioning ribosome: locking and unlocking of the ribosome subparticles, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **34**, 197-207, doi: 10.1101/SQB.1969.034.01.026.
31. Спири́н А. С. (1986). *Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка*, Высшая школа, Москва.
32. Nishizuka, Y., and Lipmann, F. (1966) The interrelationship between guanosine triphosphatase and amino acid polymerization, *Arch. Biochem. Biophys.*, **116**, 344-351, doi: 10.1016/0003-9861(66)90040-3.
33. Pestka, S. (1968) Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. III. The formation of peptide bonds by ribosomes in the absence of supernatant enzymes, *J. Biol. Chem.*, **243**, 2810-2820, doi: 10.1016/S0021-9258(18)93445-9.
34. Pestka, S. (1969) Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. VI. Oligopeptide synthesis and translocation on ribosomes in the presence and absence of soluble transfer factors, *J. Biol. Chem.*, **244**, 1533-1539, doi: 10.1016/S0021-9258(18)91792-8.
35. Gavrilova, L. P., and Spirin, A. S. (1971) Stimulation of "non-enzymic" translocation in ribosomes by p-chloromercuribenzoate, *FEBS Lett.*, **17**, 324-326, doi: 10.1016/0014-5793(71)80177-1.
36. Гаврилова Л. П., Спири́н А. С. (1972) Изучение механизма транслокации в рибосомах. II. Активация спонтанной («неэнзиматической») транслокации в рибосомах *Escherichia coli* парахлормеркурибензоатом, *Молекуляр. биология*, **6**, 311-319.
37. Spirin, A. S. (1978) Energetics of the ribosome, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **21**, 39-62, doi: 10.1016/s0079-6603(08)60266-4.
38. Chetverin, A. B., and Spirin, A. S. (1982) Bioenergetics and protein synthesis, *Biochim. Biophys. Acta*, **683**, 153-179, doi: 10.1016/0304-4173(82)90009-x.
39. Четверин А. Б., Спири́н А. С. (1983) Биоэнергетика и синтез белка, *Успехи биол. химии*, **24**, 3-39.
40. Astbury, W. T., and Bell, F. O. (1941) Nature of the intramolecular fold in alpha-keratin and alpha-myosin, *Nature*, **147**, 696-699, doi: 10.1038/147696a0.
41. Pauling, L., and Corey, R. B. (1951) The structure of hair, muscle, and related proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **37**, 261-271, doi: 10.1073/pnas.37.5.261.
42. Четверин А. Б. (1975) *Выделение и очистка белковых факторов элонгации EF-Tu и EF-G и изучение некоторых их свойств*. Дипломная работа, МГУ, Москва.
43. Четверин А. Б. (1985) *Структурные основы функционирования Na, K-зависимой аденозинтрифосфатазы*. Дисс. канд. биол. наук, Институт белка АН СССР, Пушкино.
44. Chetverin, A. B., Venyaminov, S. Y., Emelyanenko, V. I., and Burstein, E. A. (1980) Lack of gross protein structure changes in the working cycle of (Na⁺, K⁺)-dependent adenosinetriphosphatase. Evidence from infrared and intrinsic fluorescence spectroscopy data, *Eur. J. Biochem.*, **108**, 149-156, doi: 10.1111/j.1432-1033.1980.tb04706.x.

45. Chetverin, A. B., and Brazhnikov, E. V. (1985) Do sodium and potassium forms of Na,K-ATPase differ in their secondary structure? *J. Biol. Chem.*, **260**, 7817-7819, doi: 10.1016/S0021-9258(17)39524-8.
46. Ленинджер А. Л. (1976) *Биохимия*, Мир, Москва.
47. Кахниашвили Д. Г., Спиринов А. С. (1977) Зависимость трансляции от температуры. Отсутствие влияния факторов элонгации и ГТФ на энергию активации, *Докл. АН СССР*, **234**, 958-963.
48. Kaziro, Y. (1978) The role of guanosine 5'-triphosphate in polypeptide chain elongation, *Biochim. Biophys. Acta*, **505**, 95-127, doi: 10.1016/0304-4173(78)90009-5.
49. Yokosawa, H., Kawakita, M., Arai, K., Inoue-Yokosawa, N., and Kaziro, Y. (1975) Binding of aminoacyl-tRNA to ribosomes promoted by elongation factor Tu. Studies on the role of GTP hydrolysis, *J. Biochem.*, **77**, 719-728, doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a130775.
50. Belitsina, N. V., Glukhova, M. A., and Spirin, A. S. (1975) Translocation in ribosomes by attachment-detachment of elongation factor G without GTP cleavage: evidence from a column-bound ribosome system, *FEBS Lett.*, **54**, 35-38, doi: 10.1016/0014-5793(75)81062-3.
51. Спиринов А. С. (1984) Котрансляционное сворачивание, компартментализация и модификация белка, *Молекуляр. биология*, **18**, 1445-1460.
52. Spirin, A. S. (1985) Ribosomal translocation: facts and models, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **32**, 75-114, doi: 10.1016/s0079-6603(08)60346-3.
53. Spirin, A. (1987) Structural dynamic aspects of protein synthesis on ribosomes, *Biochimie*, **69**, 949-956, doi: 10.1016/0300-9084(87)90228-8.
54. Spirin, A. S. (1988) Energetics and dynamics of the protein-synthesizing machinery, in *The Roots of Modern Biochemistry. Fritz Lippmann's Squiggle and its Consequences* (Kleinkauf, H., von Döhren, H., and Jaenicke, L., eds.) Walter de Gruyter and Co., Berlin, pp. 511-533.
55. Eisenberg, E., and Hill, T. L. (1985) Muscle contraction and free energy transduction in biological systems, *Science*, **227**, 999-1006, doi: 10.1126/science.3156404.
56. Cooke, R. (1986) The mechanism of muscle contraction, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, **21**, 53-118, doi: 10.3109/10409238609113609.
57. Astumian, R. D., and Hänggi, P. (2002) Brownian motors, *Phys. Today*, **55**, 33-39, doi: 10.1063/1.1535005.
58. Cordova, N. J., Ermentrout, B., and Oster, G. F. (1992) Dynamics of single-motor molecules: the thermal ratchet model, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 339-343, doi: 10.1073/pnas.89.1.339.
59. Magnasco, M. O. (1993) Forced thermal ratchets, *Phys. Rev. Lett.*, **71**, 1477-1481, doi: 10.1103/PhysRevLett.71.1477.
60. Hänggi, P., and Bartussek, R. (1996) Brownian rectifiers: how to convert Brownian motion into directed transport, *Lecture Notes Physics*, **476**, 294-308, doi: 10.1007/BFb0105447.
61. Chowdhury, D. (2013) Stochastic mechano-chemical kinetics of molecular motors: a multidisciplinary enterprise from a physicist's perspective, *Physics Rep.*, **529**, 1-197, doi: 10.1016/j.physrep.2013.03.005.
62. Engelhardt, W. A., and Ljubimova, M. N. (1939) Myosine and adenosinetriphosphatase, *Nature*, **144**, 668-669, doi: 10.1038/144668b0.
63. Szent-Györgyi, A., and Banga, I. (1941) Adenosinetriphosphatase, *Science*, **93**, 158, doi: 10.1126/science.93.2407.158.
64. Lipmann, F. (1969) Polypeptide chain elongation in protein biosynthesis, *Science*, **164**, 1024-1031, doi: 10.1126/science.164.3883.1024.
65. Spirin, A. S. (2002) Ribosome as a molecular machine, *FEBS Lett.*, **514**, 2-10, doi: 10.1016/s0014-5793(02)02309-8.
66. Spirin, A. S. (2004) The ribosome as an RNA-based molecular machine, *RNA Biol.*, **1**, 3-9, doi: 10.4161/rna.1.1.889.
67. Спиринов А. С. (2002) РНК-полимераза как молекулярная машина, *Молекуляр. биология*, **36**, 208-215.
68. Proshkin, S., Rahmouni, A. R., Mironov, A., and Nudler, E. (2010) Cooperation between translating ribosomes and RNA polymerase in transcription elongation, *Science*, **328**, 504-508, doi: 10.1126/science.1184939.
69. Спиринов А. С. (2003) Рибонуклеиновые кислоты как центральное звено живой материи, *Вестник РАН*, **73**, 117-127.
70. Белозерский А. Н. (1959) *О видовой специфичности нуклеиновых кислот у бактерий*. Труды Первого международного симпозиума о возникновении жизни на Земле, Москва, 19-24 августа 1957 г., с. 198-205.
71. Спиринов А. С. (2005) Мир РНК и его эволюция, *Молекуляр. биология*, **39**, 550-556.
72. Crick, F. H. (1968) The origin of the genetic code, *J. Mol. Biol.*, **38**, 367-379, doi: 10.1016/0022-2836(68)90392-6.
73. Orgel, L. E. (1968) Evolution of the genetic apparatus, *J. Mol. Biol.*, **38**, 381-393, doi: 10.1016/0022-2836(68)90393-8.
74. Kruger, K., Grabowski, P. J., Zaug, A. J., Sands, J., Gottschling, D. E., and Cech, T. R. (1982) Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of *Tetrahymena*, *Cell*, **31**, 147-157, doi: 10.1016/0092-8674(82)90414-7.
75. Guerrier-Takada, C., Gardiner, K., Marsh, T., Pace, N., and Altman, S. (1983) The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme, *Cell*, **35**, 849-857, doi: 10.1016/0092-8674(83)90117-4.
76. Gilbert, W. (1986) Origin of life: the RNA world, *Nature*, **319**, 618, doi: 10.1038/319618a0.
77. Nissen, P., Hansen, J., Ban, N., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2000) The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis, *Science*, **289**, 920-930, doi: 10.1126/science.289.5481.920.
78. Spirin, A. S. (2002) Omnipotent RNA, *FEBS Lett.*, **530**, 4-8, doi: 10.1016/s0014-5793(02)03434-8.
79. Спиринов А. С. (2001) Биосинтез белков, мир РНК и происхождение жизни, *Вестник РАН*, **71**, 320-328.
80. Ferris, J. P., and Ertem, G. (1992) Oligomerization of ribonucleotides on montmorillonite: reaction of the 5'-phosphorimidazolide of adenosine, *Science*, **257**, 1387-1389, doi: 10.1126/science.1529338.
81. Orgel, L. E. (1998) The origin of life – a review of facts and speculations, *Trends Biochem. Sci.*, **23**, 491-495, doi: 10.1016/s0968-0004(98)01300-0.
82. Spirin, A. S., Baranov, V. I., Ryabova, L. A., Ovodov, S. Y., and Alakhov, Y. B. (1988) A continuous cell-free translation system capable of producing polypeptides in high yield, *Science*, **242**, 1162-1164, doi: 10.1126/science.3055301.
83. Lewin, R. (1983) The birth of recombinant RNA technology, *Science*, **222**, 1313-1315, doi: 10.1126/science.6197753.
84. Miele, E. A., Mills, D. R., and Kramer, F. R. (1983) Autocatalytic replication of a recombinant RNA, *J. Mol. Biol.*, **171**, 281-295, doi: 10.1016/0022-2836(83)90094-3.
85. Morozov, I. Yu., Ugarov, V. I., Chetverin, A. B., and Spirin, A. S. (1993) Synergism in replication and translation of messenger RNA in a cell-free system, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 9325-9329, doi: 10.1073/pnas.90.20.9325.
86. Chetverin, A. B., and Spirin, A. S. (1995) Replicable RNA vectors: Prospects for cell-free gene amplification, expression and cloning, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **51**, 225-270, doi: 10.1016/s0079-6603(08)60880-6.

87. Sumper, M., and Luce, R. (1975) Evidence for *de novo* production of self-replicating and environmentally adapted RNA structures by bacteriophage Q β replicase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 162-166, doi: 10.1073/pnas.72.1.162.
88. Спири́н А. С. (2007) Когда, где и в каких условиях мог возникнуть и эволюционировать мир РНК? *Палеонт. журн.*, **5**, 11-19.
89. Munishkin, A. V., Voronin, L. A., and Chetverin, A. B. (1988) An *in vivo* recombinant RNA capable of autocatalytic synthesis by Q β replicase, *Nature*, **333**, 473-475, doi: 10.1038/333473a0.
90. Chetverin, A. B., Chetverina, H. V., and Munishkin, A. V. (1991) On the nature of spontaneous RNA synthesis by Q β replicase, *J. Mol. Biol.*, **222**, 3-9, doi: 10.1016/0022-2836(91)90729-p.
91. Chetverina, H. V. and Chetverin, A. B. (1993) Cloning of RNA molecules *in vitro*, *Nucleic Acids Res.*, **21**, 2349-2353, doi: 10.1093/nar/21.10.2349.
92. Chetverin, A. B., Chetverina, H. V., Demidenko, A. A., and Ugarov, V. I. (1997) Nonhomologous RNA recombination in a cell-free system: evidence for a transesterification mechanism guided by secondary structure, *Cell*, **88**, 503-513, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81890-5.
93. Chetverina, H. V., Demidenko, A. A., Ugarov, V. I., and Chetverin, A. B. (1999) Spontaneous rearrangements in RNA sequences, *FEBS Lett.*, **450**, 89-94, doi: 10.1016/s0014-5793(99)00469-x.
94. Четверин А. Б. (1999) Новый взгляд на рекомбинацию РНК, *Молекуляр. биология*, **33**, 985-996.
95. Spirin, A. S. (2010) Ancient RNA world, *Paleontol. J.*, **44**, 737-746, doi: 10.1134/S003103011007004X.
96. Опари́н А. И. (1924) *Происхождение жизни*, Московский рабочий, Москва.
97. Tuerk, C., and Gold, L. (1990) Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase, *Science*, **249**, 505-510, doi: 10.1126/science.2200121.
98. Спири́н А. С. (2005) Происхождение, возможные формы существования и размеры первозданных особей, *Палеонт. журн.*, **4**, 25-32.
99. Woese, C. (1998) The universal ancestor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 6854-6859, doi: 10.1073/pnas.95.12.6854.
100. Spirin, A. S. (2013) The emergence of molecular machines as a prerequisite of the ancient RNA world evolution, *Paleontol. J.*, **47**, 1016-1029, doi: 10.1134/S0031030113090190.

ALEXANDER SPIRIN ON MOLECULAR MACHINES AND THE ORIGIN OF LIFE

Review

A. B. Chetverin

*Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences,
142290 Pushchino, Moscow Region, Russia; e-mail: achetverin@yandex.ru*

Once it was believed that ribosomal RNA encodes proteins and GTP hydrolysis supplies the energy for protein synthesis. Everything has changed when Alexander Spirin joined the science. It turned out that proteins are encoded by a completely different RNA, and GTP hydrolysis only accelerates the process which is energetically ensured without it. It was Spirin who first put forward the idea of a Brownian ratchet and explained how and why molecular machines could arise in the RNA world.

Keywords: RNA world, ribosome, Brownian ratchet, ATP hydrolysis, energy transduction, power strokes