

УДК 577.2

К 90-летию академика Александра Сергеевича Спирина

## ОТ ИНФОРМОСОМ К МИРУ мРНК

© 2021 г. А. С. Воронина<sup>1,\*</sup>, Е. С. Пшенникова<sup>1</sup>

Представлено академиком РАН В.А. Гвоздевым

Поступило 16.03.2021 г.

После доработки 17.03.2021 г.

Принято к публикации 17.03.2021 г.

Рассмотрены основные этапы и достижения в изучении судьбы мРНК эукариот, начавшиеся полвека назад с открытия А.С. Спириным информсом. Результаты даже самых последних исследований подтверждают гипотезы Спирина о структуре и функции информсом, называемых теперь м-РНК. В библиографии мы приводим лишь некоторые из опубликованных работ по перечисленным направлениям. Полный перечень их слишком велик.

*Ключевые слова:* мРНК, РНК-связывающие белки, тяжелые информсомы, регуляция трансляции

**DOI:** 10.31857/S2686738921040259

Одним из главных достижений Александра Сергеевича Спирина является открытие РНК-белковых комплексов – информсом [1–4]. Эти работы в основном были сделаны на базе Института биохимии им. А.Н. Баха АН СССР. А.С. Спирин с сотрудниками исследовали седиментационные и плотностные характеристики РНК из экстрактов зародышей костистой рыбы вьюна (*Misgurnus fossilis*) и морского ежа (*L. Pictus*). Оказалось, что пульс-меченная РНК в таких зародышах имеет широкое седиментационное распределение и выявляется в виде комплексов, имеющих плавучую плотность в растворах CsCl, равную 1.40–1.45 г/см<sup>3</sup>, в отличие от плотности полирибосом (1.51–1.52 г/см<sup>3</sup>) или рибосом (1.55–1.56 г/см<sup>3</sup>). Надо отметить, что в те годы метод равновесного центрифугирования в градиентах плотности солей Cs применяли только для изучения структуры ДНК. Для анализа нуклеопротеидов необходимо было предотвратить диссоциацию белка от РНК в растворе соли из-за большой ионной силы. А.С. Спирин первый предложил использовать для этой цели фиксацию формальдегидом [5]. Разделяя рибонуклеопротеиды (РНК) по плавучей плотности в таких градиентах, можно было оценить относитель-

ное содержание РНК и белка. Выведя эмпирически формулу зависимости % содержания белка в РНК от их плавучей плотности в растворе CsCl, удалось определить, что в рибосомах и полирибосомах соотношение белка и РНК примерно 1 : 1, а в мРНК-содержащих частицах количество белка достигает 75–80% [3]. Эти рибонуклеопротеидные комплексы были названы информсомами [1–4]. Был сделан вывод, что мРНК информсом не участвует в трансляции и запасается для более позднего использования. Присутствие в зародышах информсом объясняло феномен периодичности морфогенетической функции ядер, описанный и изученный выдающимся российским эмбриологом А.А. Нейфахом на зародышах иглокожих, рыб и амфибий [6]. Стало ясно, что во время оогенеза и эмбриогенеза мРНК после синтеза запасается впрок, для обеспечения дальнейшего развития. Такая мРНК была названа маскированной [7, 8]. Было предположено, что белки информсом участвуют в защите мРНК от деградации РНКазами во время транспортировки и хранения, а также в регуляции времени и места синтеза белка на этих матрицах.

Размер информсом варьирует из-за гетерогенности размеров мРНК [1, 4]. Кроме того, они могут агрегировать, что увеличивает их коэффициенты седиментации без изменения плавучей плотности. Такие агрегаты стали называть тяжелыми информсомами [4, 9].

В дальнейших работах сотрудников лаборатории А.С. Спирина была обнаружена специфическая фракция свободных белков, названных

<sup>1</sup> Институт биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, Россия

\*e-mail: voronina\_a@mail.ru

РНК-связывающими из-за способности образовывать комплексы с РНК. Эти комплексы не отличались по своим седиментационным свойствам и плавучей плотности от информосом. Они названы информосомо-подобными частицами [7, 10–13].

Открытием информосом заинтересовались как отечественные, так и зарубежные ученые. Появились публикации, описывающие информосомы в клетках разных эукариот, включая животных, растения, насекомых [14–16]. В клетках HeLa, зараженных вирусом осповакцины или в клетках куриных эмбрионов, зараженных вирусом Ньюкасла, обнаружены информосомы, содержащие вирус-специфическую мРНК [17, 18]. В ядрах клеток печени крыс учеными из лаборатории Г.П. Георгиева также обнаружены ново-синтезированные предшественники мРНК в частицах, имеющих плавучую плотность в CsCl 1.40 г/см<sup>3</sup>, как и информосомы [19]. Они были названы информософерами. В этих же препаратах ядер был найден и свободный РНК-связывающий белок [20]. Позднее Т. Педерсон описал в клетках HeLa гетерогенные ядерные РНП с плавучей плотностью в растворе CsCl около 1.40 г/см<sup>3</sup>, содержащие ядерную РНК [21]. При выходе мРНК из ядра в цитоплазму спектр белков, связанных с ней, изменялся. Сложные ядерные процессы, определяющие образование мРНП и экспорт их в цитоплазму, обобщены в обзоре [22].

мРНК в составе полирибосом эукариот также связана с большим количеством белков [23–25]. При активации белкового синтеза и связывании мРНК с рибосомами происходит частичная смена белкового состава мРНП.

РНК-связывающая активность эукариотических факторов инициации и элонгации, как и других белков, как-либо ассоциированных с РНК, обнаружена еще в семидесятые годы прошлого века. На основании этого А.С. Спирин выдвинул гипотезу о том, что на разных стадиях своей жизни мРНК сама несет на себе белки, требующиеся для ее биогенеза, транспорта из ядра в цитоплазму, существования во временно неактивной форме и функционирования как матрица в полисомах: *Omnia mea mesum porto* – все свое ношу с собой [26]. Согласно этой модели, одни белки связаны с РНК прочно, другие менее прочно, формируя облако вокруг РНК.

Дальнейшее изучение РНК-связывающих белков привело к обнаружению у них протеинкиназной активности [27, 28], способной менять сродство белков с РНК [29].

В работах лаборатории Л.П. Овчинникова, ученика Спирина, был выделен основной белок информосом из ретикулоцитов кролика [30]. Им оказался белок холодового шока УВ1, функционирующий и в ядре. Этот белок связывается с

РНК по всей ее длине, не зависимо от нуклеотидной последовательности. Показано, что трансляционная активность мРНК зависит от количества связавшегося с ней белка УВ-1. Этот многофункциональный белок в настоящее время активно изучается [31].

Применение в молекулярной биологии методов генной инженерии, иммуноокрашивания и современной микроскопии открыло новые перспективы в изучении судьбы мРНК. С помощью центрифугирования в градиентах плотности CsCl с последующей молекулярной гибридизацией нами была изучена кинетика демаскирования и последующего повторного маскирования индивидуальных мРНК после оплодотворения яиц лягушек *Xenopus laevis* и *Rana temporaria* [32, 33]. Показано, что во время эмбриогенеза активность каждой индивидуальной мРНК подвергается специфической регуляции.

Позже термин “информосомы” был забыт и заменен на “свободные мРНП”, а для изучения мРНП центрифугирование в градиенте плотности CsCl перестали применять. Кроме того, пренебрежительное отношение к нашей науке дало о себе знать. Когда в клетках обнаруживали некие тельца, их называли по содержащимся в них белкам или их функциям, никак не ассоциируя их с информосомами. Так, были описаны и изучены P-bodies, GW-bodies, storage-частицы, нейронные гранулы, EGP-bodies, стресс-гранулы и другие [обзор 34]. Анализ белкового состава этих телец и гранул показал, что белки эти относятся к белкам, обслуживающим мРНК и регулирующим трансляцию. Наконец, в составе этих частиц найдена была и мРНК, что указывало на то, что они и являются тяжелыми информосомами. Функции, которые осуществляют эти белки, оказались теми же, что предсказывал А.С. Спирин для белков информосом: транспорт из ядра, защита от РНК-аз (стабилизация), регуляция трансляции и регулируемый распад мРНК.

Что же известно о мРНП на сегодняшний день?

По современным представлениям, судьба конкретной мРНК в цитоплазме зависит от нуклеотидных последовательностей (цис-элементов) в ее нетранслируемых областях и связывающихся с ними белков, белковых комплексов и малых РНК (транс-факторов). Изменение спектра этих транс-факторов ведет к изменению статуса мРНК. Она может быть маскирована в виде мРНП или неактивного инициаторного комплекса, может передвигаться по клетке с помощью цитоскелета к месту будущей трансляции, заякориваться при локализации в определенном клеточном компартменте, может транслироваться в полисомах, покидать полисомы и переходить вновь в неактивное состояние, или подвергаться уничтоже-

нию. При этом время и место распада конкретных мРНК строго регулируются. Понятно, что спектр связанных с мРНК белков должен изменяться под воздействием определенных сигналов. Проводниками таких сигналов чаще всего выступают протеинкиназы, фосфорилирующие РНК-связывающие белки. Фосфорилирование изменяет константу связывания белков с РНК, что влияет на спектр белков, ассоциированных в данный момент. Не исключено, что неактивные мРНК скапливаются в местах ожидания сигнала к трансляции или транспортировке в определенный клеточный компартмент. Такое скопление способствует агрегации их в большие комплексы, даже гранулы, обнаруживаемые микроскопически. Строго говоря, все эти гранулы подходят под определение тяжелых информосом как агрегатов легких (индивидуальных) информосом. Современные работы по изучению структуры мРНК показали, что действительно, большие комплексы собираются из более мелких [35].

Что касается РНК-связывающих белков, то их уже описано более тысячи. Комбинаторика и конкуренция за места связывания и определяют многообразие влияний этих белков на судьбу мРНК [35, 36]. Количество работ о структуре и функции мРНК растет как снежной ком. Фундамент этого направления науки заложил полвека назад академик А.С. Спирин.

#### 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.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Belitsina N.V., Aitkhozhin M.A., Gavrilova L.P. and Spirin A.S.* The messenger ribonucleic acids of differentiating animal cells. // *Biokhimiya*. 1964. V. 29. P. 363–374.
2. *Spirin A.S., Belitsina N.V. and Aitkhozhin M.A.* Informational RNA in early embryogenesis. // *Zh. Obshch. Biol. (Mosc)*, 1964. V. 25. P. 321–338.
3. *Spirin A.S. and Nemer M.* Messenger RNA in early sea urchin embryos; cytoplasmic particles. // *Science*. 1965. V. 150. P. 214–217.
4. *Spirin A.S.* The Second Sir Hans Krebs Lecture, Informosomes. // *Eur. J. Biochem.* 1969. V. 10. P. 20–35.
5. *Spirin A.S., Belitsina N.V. and Lerman M.I.* Use of formaldehyde fixation for studies of ribonucleoprotein particles by caesium chloride density-gradient centrifugation. // *J. Mol. Biol.* 1965. V. 14. P. 611–615.
6. *Heйфaх A.A.* Сравнительное радиационное исследование морфогенетической функции ядер в развитии животных. // *Журнал общей биологии*. 1961. Т. 22. С. 42–57.
7. *Spirin A.S.* “Masked” forms of Mrna. // *Cur. Top. Dev. Biol.* 1966. V. 1. P. 1–38.
8. *Spirin A.S.* Storage of messenger RNA in eukaryotes: envelopment with protein, translational barrier at 5’ side, or conformational masking by 3’ side? // *Mol. Rep. Dev.*, 1994. V. 38. P. 107–117.
9. *Voronina A.S.* The size of RNA within the composition of heavy informosomes from loach embryo cytoplasm // *Biochemistry (Moscow)*. 1985. V. 50. P. 1300–1304.
10. *Овчинников Л.П., Воронина А.С., Степанов А.С., Белицина Н.В., Спирин А.С.* Информосомоподобные комплексы, образуемые при добавлении РНК к гомогенатам животных клеток. // *Молекулярная Биология*, 1968. Т. 2. С. 601–609.
11. *Stepanov A.S., Voronina A.S., Ovchinnikov L.P., Spirin A.S.* RNA-binding protein factor of animal cell extracts. // *FEBS Lett.* 1971. V. 18. P. 13–18.
12. *Степанов А.С., Воронина А.С.* Образование стабилизированных информосомоподобных частиц при физиологических температурах. // *Доклады АН СССР*. 1972. Т. 203. С. 1418–1421.
13. *Elizarov S.M., Stepanov A.S., Felgenhauer P.E., Chulitskaya E.V.* Involvement of RNA binding proteins in the formation of informosomes *in vivo*. // *FEBS Lett.* 1978. V. 93. P. 219–224.
14. *Kafatos F.C.* Cytoplasmic particles carrying rapidly labeled RNA in developing insect epidermis // *Proc Natl Acad Sci USA*. 1968. V. 59. P. 1251–1258.
15. *Aitkhozhin M.A., Doschanov Kh.J., Akhanov A.U.* Informosomes as a stored form of mRNA in wheat embryos. // *FEBS Lett.* 1976. V. 66. P. 124–126.
16. *Preobrazhensky A.A. and Spirin A.S.* Informosomes and their protein components: The present state of knowledge. // *Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.* 1978. V. 21. P. 1–138.
17. *Белицина Н.В., Овчинников Л.П., Спирин А.С., и др.* Информосомы клеток HeLa, зараженных вирусом осповакцины. // *Биохимия*. 1968. Т. 33. С. 727–735.
18. *Zaslavsky V.G., Zaides V.M., Volkova M.Y., et al.* Virus-specific informosome components in the extracts of newcastle disease virus infected cells. // *FEBS Lett.* 1971. V. 14. P. 133–136.
19. *Samarina O.P., Krichevskaya A.A., Georgiev G.P.* Nuclear ribonucleoprotein particles containing messenger ribonucleic acid. // *Nature*. 1966. V. 205. P. 1319–1322.
20. *Voronina A.S.* RNA-binding protein factor in the nuclear extract of rat liver cells. // *FEBS Lett.* 1973. V. 32. P. 310–312.
21. *Pederson T.* Proteins associated with heterogeneous nuclear RNA in eukaryotic cells. // *J. Mol. Biol.* 1974. V. 83. P. 163–183.
22. *Björk P., Wieslander L.* Integration of mRNP formation and export. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2017. V. 74. P. 2875–2897.
23. *Perry R.P., Kelly D.E.* Messenger RNA-protein complexes and newly synthesized ribosomal subunits: Analysis of

- free particles and components of polyribosomes. // *J. Mol. Biol.* 1968. V. 35. P. 37–59.
24. *Henshaw E.C.* Messenger RNA in rat liver polyribosomes: Evidence that it exists as ribonucleoprotein particles. // *J. Mol. Biol.* 1968. V. 36. P. 401–411.
25. *Blobel G.* A protein of molecular weight 78.000 bound to the polyadenylate region of eukaryotic messenger RNAs. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1973. V. 70. P. 924–928.
26. *Spirin A.S.* Eukaryotic messenger RNA and informosomes: *Omnia mea tecum porto.* // *FEBS Lett.* 1978. V. 88. P. 115–117.
27. *Auerbach S., Pederson, T.* Phosphorylation of messenger RNA-bound proteins in HeLa cells. // *Biochem Biophys Res Commun.* 1975. V. 63. P. 149–156.
28. *Stepanov A.S., Kandror K.V., Elizarov S.M.* Protein kinase activity in RNA-binding proteins of amphibia oocytes // *FEBS Lett.* 1982. V. 141. P. 157–160.
29. *Степанов А.С., Кандрор К.В.* Влияние самофосфорилирования РНК-связывающих белков на их РНК-связывающую активность. // *Доклады АН СССР.* 1984. Т. 275. С. 1227–1230.
30. *Minikh V.B., Ovshinnikov L.P.* Role of cytoplasmic mRNP proteins in translation. // *Biochemistry (Moscow),* 1992. V. 74. P. 477–483.
31. *Mordovkina D., Lyabin D.N., Smolin E.A., et al.* Y-box binding proteins in mRNP assembly, translation, and stability control. // *Biomolecules.* 2020. V. 10. P. 591.
32. *Воронина А.С., Потехина Е.С.* Трансляционная регуляция синтеза белков, ответственных за дорсо-вентральную дифференцировку зародышей шпорцевой лягушки. // *Онтогенез.* 1999. Т. 30. С. 83–90.
33. *Voronina A.S. and Pshennikova E.S.* Activity of specific mRNAs in early development of *Xenopus* and *Rana* embryos. // *J. Biol. Sci.* 2006. V. 6. P. 115–120.
34. *Воронина А.С., Пшенникова Е.С.* мРНП: от информсомом до стресс-гранул. // *Молекулярная биология.* 2010. Т. 44. С. 1–10.
35. *Quattrone A., Dassi E.* The architecture of the human RNA-binding protein regulatory network. // *iScience.* 2019. V. 21. P. 706–719.
36. *Eichler C.E., Hakes A.C., Hull B., Gavis E.R.* Compartmentalized oskar degradation in the germ plasm safeguards germline development. // *eLife.* 2020. V. 9. P. 49988.

*To the Academician Alexander Spirin 90th anniversary*

## FROM INFORMOSOMES TO THE WORLD OF mRNP

**A. S. Voronina<sup>a,#</sup> and E. S. Pshennikova<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *A.N. Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

<sup>#</sup> *e-mail: voronina\_a@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS V.A. Gvozdev

The main stages and achievements in the investigation of the fate of mRNA in eukaryotic cells, which began half a century ago with the discovery of informosomes by A.S. Spirin, there are discussed. The results of even the most recent studies confirm Spirin's hypotheses about the structure and function of the informosomes, now called mRNPs. In the bibliography, we present only small part of the published articles in these field. The full list is too large.

**Keywords:** mRNA, RNA-binding proteins, heavy informosomes, translation regulation