

ШЛЯХИ РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ

Генеральний секретар Королівської академії наук Швеції Гуннар Окіст, оголошуючи лауреатів Нобелівської премії, зауважив, що дослідження, які відзначені премією з фізики, «заклали основи сучасного інформаційного суспільства». Водночас, хоча я часто користуюся фото- і відеоапаратурою, зокрема тією, що у моєму мобільному телефоні, мені значно ближчі дві інші премії — з хімії та фізіології чи медицини. Їх і схарактеризуємо детальніше.

Почну з того, що читачеві, очевидно, добре відомо, — розподіл премій і, зрозуміло, лауреатів за досягнення з «хімії» та «фізіології і медицини» традиційний (за заповітом Альфреда Нобеля) і досить умовний. Зараз премії здебільшого присуджують за роботи в суміжних наукових галузях або за досягнення в науках, яких ще не було за часів А. Нобеля. Так і дві премії, про які йдеться нижче, присуджено за роботи, які більше можна віднести до молекулярної біології, молекулярної генетики чи сучасної біохімії. Обидві вони пов'язані з тим, як зберігається спадкова генетична інформація, як вона реалізується при створенні молекул протеїнів у живих клітинах або в модельних системах.

Якщо коротко, то Нобелівською премією з фізіології і медицини відзначено Елізабет Блекберн (Elizabeth Blackburn), Керол Грейдер (Carol Greider) і Джека Шостака (Jack Szostack) за відкриття механізмів, що захищають теломери хромосом від недореplikації завдяки діяльності ензиму теломеразу, а премію з хімії присуджено Венкатраману Рамакришнану (Venkatraman Ramakrishnan), Томасу Стейтцу (Thomas A. Steitz) та Аді Йонат (Ada E. Yonath) за встановлення тонких механізмів функціонування ри-

босом при синтезі на них протеїнів. Майже всі нагороджені вчені, крім ізраїльтянки Ади Йонат, є громадянами США і свої найкращі дослідження підготували в США. Проте лише Т. Стейтц і К. Грейдер народилися в США. Д-р Рамакришнан народився в Індії, Е. Блекберн — в Австралії, а Дж. Шостак — у Британії.

Премія відзначає дві групи досліджень, що проведені протягом багатьох років, тож кандидатам на премію довелося довго чекати того щасливого дня, коли вони дізналися, що стали Нобелівськими лауреатами, як чекають на такий день ще сотні, а той тисячі достойних претендентів. Так, у 2004 році мене запросили на наукову конференцію до Реховота (Ізраїль), присвячену 80-річчю видатного біохіміка й імунолога, колишнього президента Вайцманівського інституту професора Майкла Села. Я головував на одній із секцій цієї конференції, на якій із блискою доповіддю виступила Ада Йонат. Під час доповіді вона продемонструвала фільм, зроблений на основі результатів молекулярної графіки, де було детально відображено всі етапи синтезу протеїнів на рибосомі. Іще тоді М. Села зауважив: «Ада вже декілька років є ймовірним кандидатом на Нобелівську премію». Відтоді минуло п'ять років... .

ІЗ МРІЄЮ ПРО ВІЧНУ МОЛОДІСТЬ

Нобелівську премію в галузі медицини і фізіології у 2009 році вручено за відкриття ферменту теломерази, що захищає теломери хромосом під час розмноження клітин. Вивчення властивостей теломерази дає змогу зрозуміти, яким чином відбувається старіння клітин, як ракові клітини забезпечують собі «вічну молодість», і визначити шляхи пошуку нових протипухлинних ліків чи ліків, які гальмують старіння.

Із шкільної лави нам відомо, що генетичну інформацію організму закодовано в ядрі клітини в послідовності дезоксирибонуклеотидів ДНК. Цей код потім дешифрується і визначає здебільшого структуру протеїнів, які синтезуються поза ядром у цитоплазмі клітини на рибосомах. При поділі «материнської» клітини на дві «дочірні» для збереження генетичної інформації ДНК має подвоїтися. Це подвоєння ДНК, як на матриці, відбувається завдяки її дуплікації, яку каталізує ензим—ДНК-залежна ДНК-полімераза. Але ДНК у ядрі перебуває не у вільному стані, а в складі так званих хромосом — комплексів ДНК із протеїнами. Наприклад, добре відомо, що соматичні клітини людини мають 23 пари лінійних хромосом, і в кожній хромосомі є одна молекула двоспиральної ДНК — скрученої й упакованої відповідним чином разом із протеїнами. А на кінцях хромосом (не лише клітин людини, але й у більшості еукаріотів і навіть деяких прокаріотів) є структури, що називають теломерами, які складаються з повторювальних послідовностей ДНК. Навіщо потрібні теломери, коли вони не містять генів, що кодують білки? Чи мають теломери стосунок до магичної кількості можливих поділів звичайних клітин (рівної приблизно 50 і запропонованої Леонардом Хайфліком), після чого клітини припиняють ділення.

Цікаво, що першим, хто здогадався про функцію теломер ще наприкінці 60-х рр. XX ст., був зовсім молодий радянський

учений-імунолог Олексій Оловников, який працював в Інституті мікробіології та епідеміології ім. М.Ф. Гамалєї в Москві. Саме він першим висунув гіпотезу, що з кожним поділом клітини ДНК теломери зменшуються до певної межі, після якої реплікація ДНК припиняється, і поділ клітини стає неможливим. Я добре пам'ятаю наші, тоді молодих кандидатів наук, зустрічі з Олексієм і в Москві, і в Києві, дискусії про можливу функцію теломер і про те, що, на жаль, його гіпотезу в нас немає можливості експериментально перевірити. Разом із іншими молодими колегами ми жартома казали: «Олексію, ти маєш стати лауреатом Нобелівської премії». Як бачимо нині, тодішні жарти були дуже близькими до істини. Авторитет Олексія Матвійовича Оловникова визнано в усьому світі. Але його гіпотезу, опубліковану в провідних часописах, було експериментально доведено й розвинуто саме під керівництвом Е. Блекберн.

Справді, при поділі клітини дуплікація ДНК не може відбуватися до самого кінця кожної хромосоми, і кожен поділ супроводжується скороченням теломер до певної межі, коли припиняється проліферація клітин. Тобто механізм скорочення теломер відповідає за строк життя клітини, а порушення цього процесу може бути в основі безкінечного розмноження клітин. Теломери оберігають також хромосоми від гомологічних рекомбінацій та негомологічних з'єднань кінців хромосом.

Ензим, що регулює довжину теломер, називають теломеразою. Це рибонуклеопротеїновий комплекс, що складається з протеїнової і РНК-частин. Як ензим, теломераза є зворотною транскриптазою, що як матриця використовує зв'язану з нею особливу молекулу РНК, на якій проводить синтез ДНК для подовження теломер (чи для відтворення теломерами втраченої при поділі клітини частини теломерної ДНК). «Зворотною транскриптазою» цей ензим



Керол Грейдер

Джек Шостак

Елізабет Блекберн

називають тому, що він є РНК-залежною ДНК-полімеразою (колись догматично вважали, що напрям інформації іде завжди від ДНК до РНК і ніколи у зворотному напрямку). Теломераза додає до 3'-кінця ДНК хромосом повторювану послідовність із здебільшого шести дезоксирибонуклеотидів — 5'-TTAGGG. Такі повтори разом із відповідними протеїнами і є теломерами. Довжина теломер, тобто кількість повторів із шести (інколи і восьми) нуклеотидів, суттєво відрізняється в різних видів істот і може коливатися від сотень до багатьох тисяч пар основ — нуклеотидів. Теломераза активна в певних клітинах, які мають розмножуватися (проліферувати), наприклад, у клітинах зародків, клітинах епітелію кишок, дихальних шляхів, крові, у стовбурових і статевих клітинах тощо. Вона також активна в більшості (80–90%) злоякісних клітин. Звичайні соматичні клітини зазвичай не мають теломеразної активності.

Якщо теломераза може відновлювати структуру теломер, а їхня структура і довжина визначає проліферативну активність клітин, то виникає слушне запитання, чи можна штучно регулювати процеси старіння клітин і організмів (як прискорені, так і вповільнені) або впливати на ті захворювання, що супроводжуються неконтрольованим розмноженням клітин, передусім —

на злоякісний ріст. Правда, треба відразу ж зауважити очевидний компроміс — активація клітин під час боротьби з їх старінням підвищує ризик злоякісної трансформації клітин, а пригнічення проліферативного потенціалу клітин під час боротьби із злоякісним ростом прискорюватиме їх старіння та загибель. Тому зрозуміла важливість подальшого вивчення механізмів, що регулюють активність теломераз і функціонування теломер, для лікування злоякісних пухлин, великої кількості захворювань і станів організму, пов'язаних із порушенням процесів старіння клітин і органів, наприклад, атаксії-телангіектазії, прогерії, апластичної анемії людей похилого віку тощо.

Під час вивчення можливості активації теломерази було виявлено, що її РНК-складник постійно експресується майже в усіх клітинах, і тому для відтворення активності теломерази досить викликати експресію протеїнової частини цього ензиму, наприклад, індукцією відповідного гена чи його штучним перенесенням у клітини. Таким способом можна зробити культуру клітин практично безсмертною.

Відомі дані, щоправда, поки нечисленні, що «здоровий спосіб життя і харчування» зумовлює активацію теломерази та збільшення довжини теломер у певних тканинах (найчастіше цю довжину вимірюють у лей-

коцитах крові). І, навпаки, у людей із надмірною вагою або з інсулін-незалежним діабетом II типу спостережено кореляцію зі швидкістю скорочення теломер. До скорочення теломер може призводити стрес, зокрема оксидативний. Чи не є це свідченням того, що ми самі часто скорочуємо власне життя, ведучи «нездоровий спосіб життя»? Цікаві також дані про позитивну кореляцію між рівнем вітаміну D в організмі людей і довжиною теломер лейкоцитів крові, що підтверджує думку про позитивний ефект впливу вітаміну D на процеси старіння тканин і на захворювання, пов'язанні зі старінням. Цілком реально, що в майбутньому можна буде через регуляцію активності теломерази цілеспрямовано відновлювати клітини й органи, що піддаються старінню, чи, навпаки, припиняти ріст і розмноження клітин, що активно розмножуються.

Учені небезпідставно стверджують, що відкриття, подібні до цьогорічного Нобелівського, можуть стати одними з перших на шляху до розгадки таємниці «вічно молодого» життя, про що є багато міфів і легенд.

МЕХАНІЗМИ ТВОРЕННЯ ПРОТЕЇНІВ

Цьогоріч премію з хімії було вручено за вивчення тонких механізмів функціонування рибосом. Вище спрощено було викладено один із механізмів зберігання генетичної інформації в хромосомах ядра клітини. Але для реалізації цієї інформації код ДНК має перетворитися в код матричної РНК, яка відповідно на рибосомах має транслюватися в амінокислотну послідовність відповідних протеїнів. Тобто рибосоми є своєрідною фабрикою синтезу протеїнів клітини. Для цього вони повинні реалізувати щонайменше такі етапи синтезу протеїнів: розпізнавання і зв'язування з ініціювальним кодоном мРНК на початку синтезу протеїну, зчитування з мРНК за-

програмованої послідовності протеїну; вибір правильної амінокислоти і її активація; каталітичний акт із формуванням пептидного зв'язку між амінокислотами; механічний акт пересування рибосоми по мРНК (чи «протягування» мРНК рибосомою крізь себе) і термінація синтезу протеїнів. Усі етапи синтезу прискіпливо регулюються завдяки точній взаємодії відповідних атомів чи груп атомів молекул, що взаємодіють. Інакше білки синтезувалися б із помилками в первинній структурі (у послідовності амінокислот), що, звісно, неприйнятно для виконання протеїнами їхніх функцій.

Біохімічні механізми, що лежать в основі синтезу протеїнів на рибосомах, вивчають протягом 50 років. За цей час накопичено багато важливих даних щодо всіх етапів синтезу протеїнів, а також стосовно структури рибосом еукаріотів і прокаріотів, мітохондрій і протопластів; великих і малих субодиниць рибосом та їхніх протеїнових і рибонуклеїнових складників. Зокрема, було показано, що за загальною структурою рибосоми еукаріотів (80S) дуже схожі з рибосомами прокаріотів (70S), що рибосоми сформовані з комплексів РНК і протеїнів (тобто вони є рибонуклеопротеїнами), мають приблизно 20 нм у діаметрі і складаються з двох субодиниць — великої та малої. Мала субодиниця рибосоми зв'язується з мРНК, а велика — з тРНК та амінокислотою. Велика субодиниця рибосоми еукаріотів (60S) має у своєму складі три молекули рибосомальної РНК (5S, 28S і 5,8S) та близько 50 малих молекул протеїнів, мала субодиниця (40S) має одну молекулу рРНК (18S) і біля 33 протеїнів. Відповідно велика субодиниця бактеріальної рибосоми (50S) має дві молекули рРНК (5S і 23S) і 34 протеїни, а мала субодиниця (30S) — одну рРНК (16S), яка зв'язана з 21 молекулою протеїнів. Можливо, ці деталі не є такими важливими для читача, але вони пев-



Ада Йонат

Венкатраман Рамакришнан

Томас Стейтц

ною мірою віддзеркалюють великий розмір рибосом і складність їхньої надмолекулярної структури, необхідної для виконання чи не найважливішої функції клітини — синтезу протеїнів. Така складність структури рибосом довго не давала змоги вченим установити тонкі деталі їх функціонування, аж поки не було розроблено методики отримання кристалів рибосом для рентген-структурного аналізу та не з'явилися методи молекулярної чи атомної топографії для великих надмолекулярних комплексів. Прорив намітився у 2000 р., коли були опубліковані перші роботи з рентген-структурного аналізу рибосом бактерій і археа. Цим успішним публікаціям передувало багато років тривалої і наполегливої роботи. Так, Ада Йонат протягом 20 років провела декілька десятків тисяч (!) експериментів, щоб отримати кристали рибосом бактерій, які були б придатними для рентген-структурного аналізу. Відомо, що головною частиною аналізу є розшифрування відбитків від сотень тисяч атомів рибосоми, отриманих при опроміненні її кристалів рентгенівськими променями. Тут на допомогу потужній обчислювальній апаратурі, яку використовували для рентген-структур-

ного аналізу, прийшли дані електронної мікроскопії цих же кристалів. Електронна мікроскопія не мала високої роздільної здатності, але допомогла встановити загальну структуру рибосоми і, таким чином, зіставити й локалізувати рентгенівські відбитки. Доктори Рамакришнан і Стейтц проводили дослідження на синхротроні Брукгейвїнської національної лабораторії і опублікували результати своєї роботи майже одночасно з Адою Йонат у 2000 році. Якщо перші результати аналізів були з роздільною здатністю 5–7 ангстремів, то потім якість підвищилася до 2,8–3,5 ангстремів. Особливо важливим було дослідження молекулярної структури комплексів рибосом із мРНК (сайт «Р») та тРНК (сайт «А» для аміноацил-тРНК і сайт «Е» для вільної тРНК перед її виходом із рибосоми) і виявлення просторової структури каналу, у якому міститься щойно синтезований протеїн.

Одним із найцікавіших результатів опублікованих робіт був той, що в активному центрі рибосоми, відповідальному за каталітичне формування пептидного зв'язку, не було знайдено рибосомальних протеїнів. Протеїни рибосом здебільшого містяться на їхній поверхні і виконують роль

стабілізатора просторової структури. Тобто в ролі ензиму пептидил-трансферази виступає рибосомальна РНК! Так було спростовано ще одну з догм біохімії: «Не всі протеїни є ензимами, але всі ензими є протеїнами» — і доведено, що ензиматична активність властива також рибонуклеїновим кислотам. Такі РНК були названі «рибозимами». Щобільше, одна із сучасних гіпотез, пов'язаних із зародженням життя на землі, стверджує, що саме РНК, а не протеїни чи ДНК були першими і найважливішими макромолекулами в еволюції, які водночас були і носіями генетичної інформації, і ензимами, активність яких була вирішальною під час створення й розмноження первинних організмів на нашій планеті.

Знання тонкої структури і механізмів функціонування рибосом безпосередньо пов'язане з можливістю регуляції біосинтезу протеїнів у клітині й розв'язанням багатьох медичних проблем. Більшість антибіотиків було створено таким чином, щоб вони гальмували синтез бактеріальних протеїнів на бактеріальних рибосомах і не перешкоджали синтезу протеїнів у клітинах організмів, де ці бактерії містяться. Таким чином, зрозуміло, чому протибактерійні антибіотики не активні проти вірусів: ві-

руси не мають власних рибосом і власної протеїн-синтезувальної системи, але використовують рибосоми клітин господаря, де й розвиваються. Дані просторової структури (конформації) сайтів рибосом, що важливі для різних етапів синтезу протеїнів, дають можливість проводити сайт-специфічний синтез сполук, що стають інгібіторами процесів трансляції, а отже, потенційними ліками.

Відзначення Нобелівськими преміями описаних вище наукових відкриттів — ще одне свідчення важливості таких робіт для пізнання механізмів живого, використання досягнень науки на благо людства, а також того, яку велику увагу приділяють у світі сучасним медико-біологічним дослідженням. До цього можна додати, що нещодавно було відкрито «RNA interference» — процесу «сайленсингу» (чи інтерференції) синтезу протеїнів на рибосомах на основі двоспіральних «малих інтерферуючих» РНК, або мікроРНК. Це відкриття було відзначене Нобелівською премією 2006 р. Воно також створює можливості для цілеспрямованої регуляції, зокрема гальмування, синтезу окремих протеїнів і лікування багатьох захворювань людини, тварин і рослин.