



КОНФЕРЕНЦИЯ “МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ РНК: ТРАНСЛЯЦИЯ, СТАБИЛЬНОСТЬ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ мРНК”

Жьен (Франция), 13–18 сентября 1997 г.

О этот юг, о эта Ницца!
Ф. Тютчев

Фонд “European Science Foundation” финансирует и организует в Европе международные научные конференции в самых разных областях точных и естественных наук. На одну из таких конференций, посвященную трансляции, стабильности и локализации мРНК, в курортном местечке Жьен на атлантическом побережье Франции не очень далеко от Ниццы в сентябре 1997 г. собралось около сотни любителей РНК. Конференция была организована Лукасом Кюном (Kuehn) из Лозанны и Эльмаром Вале (Wahle) из Гиссена как неформальный обмен планами, идеями, достижениями. Неформальность мероприятия иллюстрировалась невозможностью сослаться на его материалы иначе как на частное сообщение и в значительной степени обеспечивалась небольшим числом участников в сочетании с изолированностью и относительной безлюдностью места проведения конференции. По окончании заседания научные дискуссии стихийно переносились на пляж, в ресторан или бар. Неизменными инициаторами вопросов и обсуждений на заседаниях наряду с Вале и Кюном были Matthias Hentze из Гейдельберга, Nahum Sonnenberg из Монреаля, Alan Sachs из Беркли (Калифорния), Roy Parker из Таксона (Аризона).

Первая же сессия, посвященная трансляции мРНК в эукариотах, показала, что отнесение этой тематики к молекулярной биологии РНК довольно условно. Действительно, РНК в этом процессе отводится весьма скромная роль. В центре внимания здесь белки. Основным регулятором эукариотической трансляции является эффективность связывания малой рибосомной субъединицы с кэпированным 5'-концом мРНК. Это связывание обеспечивается рядом иницирующих факторов: кэп-связывающим белком eIF4E, белком eIF4G, связывающимся с eIF4E и малой рибосомной субъединицей и опосредующим ее перемещение на 5'-конец мРНК, а также белками eIF4A, eIF2 и eIF3. Помимо этого эффективность инициации находится под контролем еще как минимум двух факультативных 4E-связывающих белков: 4EVP-1 и 4EVP-2. Эти белки конкурируют с eIF4G за связывание с eIF4E, ингибируя та-

ким образом образование преинициаторного комплекса. Активность этих белков, как и активность иницирующих факторов, модулируется фосфорилированием. Подробное обсуждение этих регуляторных механизмов представил Simon Morley (Брайтон). Он попытался выяснить, каким образом аппарат трансляции может реагировать на регуляторные сигналы, передаваемые протеинкиназами, и какие именно киназы осуществляют в этом случае передачу сигнала. Кристаллическая структура кэп-связывающего белка eIF4E (с него начинается образование преинициаторного комплекса) была показана на конференции Н. Зонненбергом. Расшифровка пространственной структуры позволила выявить механизм связывания этого белка с кэпом и инициаторным фактором eIF4G, а также с 4E-связывающими белками.

Обсуждались и более экзотические механизмы регуляции трансляции, например через посредство элемента реагирования на железо (IRE), который встречается в ряде мРНК белков, участвующих в метаболизме железа. Эти элементы могут быть использованы для искусственной регуляции экспрессии генов в зависимости от концентрации железа в среде. Об IRE и белках, участвующих в осуществлении их функций, говорили L. Kuehn и M. Hentze.

Большая часть регуляции трансляции осуществляется через 5'-нетранслируемую область (UTR), однако в этот процесс может быть вовлечена и 3'-UTR. Например, в 3'-UTR мРНК 15-липксигеназы присутствует так называемый элемент контроля дифференциации (DCE). В лаборатории М. Hentze были клонированы и экспрессированы гены белков, связывающихся с DCE и осуществляющих регуляцию инициации трансляции на уровне ассоциации рибосомных субъединиц. Вообще на конференции немало было сказано о взаимодействии 3'- и 5'-концов мРНК. Предположение о том, что такое взаимодействие существует, не было новостью. Было уже известно о ряде экспериментов *in vivo* и *in vitro*, свидетельствующих о таком взаимодействии, однако прямого подтверждения циклической

формы полисом пока не было. Своего рода сенсацией стал показанный Аланом Саксом (A. Sachs) имидж, сделанный с помощью сканирующей атомно-силовой микроскопии. Участники конференции смогли увидеть цепочки РНК с замком из белков, замыкающим их концы. Методическая находка состояла в том, что молекула мРНК по всей своей длине была гибридизована с кДНК и лишь 5'- и 3'-концевые фрагменты оставлены свободными. Это позволило растянуть молекулу РНК из глобулы в упругую нить и к тому же сделать ее более рельефной и доступной для детекции с помощью сканирующей микроскопии. Важно, что этот метод микроскопии позволяет проводить детекцию прямо в растворе – в данном случае в экстракте дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Весь отчет о конференции “Молекулярная биология РНК” был бы исключительно о белках, если бы не прокариоты. Дело в том, что у низших РНК демонстрирует свои возможности более откровенно. Ken Gerdes из Оденсе (Дания) занимается разгадкой механизма стабильного поддержания плазмиды R1 в клетках *Escherichia coli* за счет самоуничтожения клеток, утративших плазмиду в процессе деления. Такие клетки убиваются токсином, синтезирующимся в них с мРНК, попавшей в клетку во время деления. В клетках же, сохранивших плазмиду, синтез токсина блокируется очень лабильной антисмысловой РНК, постоянно транскрибируемой с плазмиды. Интересно, что полноразмерная РНК токсина принимает вторичную структуру, которая препятствует как инициации трансляции, так и связыванию антисмысловой РНК. Такая инертная мРНК накапливается в клетке, и ощутимое количество ее попадает в обе дочерние клетки при делении. Экзонуклеазная деградация 3'-конца приводит к перестройке вторичной структуры, делая молекулу трансляционно компетентной и способной связывать антисенс. Теперь уже только антисенс может спасти клетку от гибели.

О регуляторных элементах прокариотических мРНК, взаимодействующих с рибосомной РНК и таким образом влияющих на эффективность трансляции, говорил Eckart Fuchs из Гейдельберга.

Отдельная сессия была посвящена трансляции и стабильности мРНК в ооцитах и ранних эмбрионах. Оперативная регуляция этих процессов приобретает особую важность в эмбриогенезе, так как многие белки в этот период синтезируются с материнской мРНК, которая активируется или остается инертной в цитоплазме ооцита, яйцеклетки или эмбриона. Основными регуляторными механизмами здесь являются полиаденилирование и деаденилирование. Beverley Osborne из Ренна (Франция) рассказал о *цис*-элементах в мРНК, контролирующих эти процессы, и белках,

осуществляющих регуляцию. О другом способе поддержания мРНК в инертном состоянии – маскировании – говорила Nancy Standart из Кембриджа.

На сессии, посвященной стабильности мРНК, речь шла о механизмах деградации РНК в дрожжах (R. Parker и другие докладчики), о деградосомах *E. coli* (Agamemnon Caprousis из Тулузы), о влиянии трансляции и полиаденилирования на стабильность бактериальных мРНК (Philippe Regnier из Парижа) и, наконец, о деградации мРНК в животных клетках (E. Wahle; Gregory Goodall из Аделаиды и др.).

Последняя сессия была посвящена вопросам локализации мРНК. Особый интерес вызывает локализация мРНК в ооцитах, яйцеклетках и ранних эмбрионах, так как она порой является ключевым моментом дифференциации. Об этом докладывали Rolando Rivera-Pomar из Геттингена, Daniel St. Johnston из Кембриджа и Niki Gunkel из Гейдельберга. Механизм транспорта мРНК внутри цитоплазмы были посвящены сообщения Роберта Коена (R. Cohen) из Лоуренса (Канзас) и Ральфа-Петера Янсена (R.-P. Jansen) из Вены. Последний докладчик, John Hesketh из Абердина (Шотландия), осветил некоторые аспекты локализации мРНК в животных клетках.

Постерная сессия под открытым небом вобрала в себя более подробную информацию по теме конференции и ряд вопросов, не затронутых в устных сообщениях, такие, как рибозимы, РНК-содержащие вирусы, редактирование мРНК, внутренняя инициация трансляции у эукариот. Российская наука была представлена постером Р.Ш. Бибилашвили (Кардиологический центр РАМН, Москва) и его сотрудников, посвященным количественному определению короткоживущих мРНК. Такая малочисленность российских участников, по-видимому, объясняется не тем, что наши ученые бойкотировали это научное мероприятие, а просто отсутствием в конференционном бюджете грантов для стран Восточной Европы.

В заключение стоит отметить, что на конференции явно проявилась волна поиска (причем весьма успешного) новых белков, регулирующих важные клеточные процессы. Эта волна захлестнула современную молекулярную и клеточную биологию, и мир РНК не стал исключением. Было доложено о клонировании и экспрессии генов нескольких белков, участвующих в регуляции трансляции некоторых индивидуальных мРНК (L. Kuehn; Didier Poncet, Жуи-ан-Жоса, Франция; Edward Chu, Вест-Хейвен, Коннектикут; Veronique Kruys, Род-сен-Женез, Бельгия; M. Hentze; Martin Tabler, Гераклион, Греция; Miguel Freire, Версаль; Sabine Kafert, Ганновер; N. Standart; Marvin Wickens, Мэдисон, Висконсин), а также ряда белков с различными функциями, связанными с

РНК: белка, стабилизирующего мРНК (Jorg Nickelsen, Бохум, Германия), poly(A)-связывающего белка из лейшмании (Debora Smith, Лондон), новой рибонуклеазы из дрозофилы (Sarah Newbury, Портсмут), poly(A)-специфической 3'-экзонуклеазы млекопитающих (E. Wahle), белка, регулирующего локализацию РНК (Joel Yisraeli, Иерусалим), и др.

Это было подлинно рабочее совещание специалистов – строителей мира РНК, проходившее под девизом “Мы наш, мы новый мир построим”. Строят – и очень успешно.

К.Р. Бирх

*Институт экспериментальной медицины им.
Макса Планка, Геттинген
ИБХ РАН, Москва*