

Клеточные «дворники»

По мере углубления знаний о живых клетках ученые находят в их функционировании все больше «подобия» городской инфраструктуре. Так, например, мы уже слышаны об «энергетических станциях» — митохондриях, «водопроводах» — аквапоринах, «почтальонах» — экзосомах и т.д., а в последнее время важным объектом исследования стала система утилизации клеточного «мусора». Что же собой представляет эта система и насколько она важна для нормальной жизни клетки и здоровья организма в целом?



«ПОЦЕЛУЙ СМЕРТИ», ИЛИ ПОЧТИ КАК У ПИРАТОВ

Если фабрика по производству белков — это рибосома, то фабрику, разрушающую белки, называют протеасомой. Она так же, как и рибосома, представляет собой специальное белковое образование — биологический комплекс в виде емкости цилиндрической формы, собранной из колец. Внутри расположен канал, на поверхности которого находятся активные центры, расщепляющие белки. Снаружи этот канал закрыт торцевыми подвижными крышками. В каждой клетке находится несколько тысяч протеасом, и все они предназначены природой для расщепления белка.

Какое-то время ученые полагали, что белковой молекуле попасть в этот «утилизующий контейнер» довольно просто. Однако если бы это было так, то любой белок, в том числе и нужный, попавший во «чрево» протеасомы, подвергался бы уничтожению. К тому же было неясно, почему туда попадает не любой, а строго определенный белок, именно тот, который следует утилизировать.

И вот тут «вышел на сцену» открытый еще в 1975 г. сравнительно небольшой белок, состоящий из 74 аминокислотных

остатков и имеющий молекулярную массу 8,5 кДа, — убиквитин [1]. Главной загадкой оставалось то, что он высококонсервативен и является одним из самых распространенных белков в природе: синтезируется во всех клетках эукариот (т.е. клетках, содержащих ядро) — от дрожжей до человека, а у человека — от клеток кожи до нейронов (отсюда и название: англ. ubiquitous — присутствующий везде). Долгое время таинственный белок «ускользал» от исследователей, и определить его функцию не удавалось. Однако в 1980 г. группа ученых высказала предположение о том, что решающей стадией в процессе утилизации белков является присоединение убиквитина к тому белку, который необходимо уничтожить. Результаты последующих исследований это подтвердили. Было установлено также, что вход в протеасому (фабрику уничтожения) обычно закрыт и попасть в нее может только тот белок, который имеет специальную метку, в этом случае вход в протеасому открывается. Роль такой метки играет убиквитин. Невольно напрашивается аналогия с обычаем, существовавшим у пиратов, — присылать «черную метку»

о чем рассказал Роберт Стивенсон в своем знаменитом романе «Остров сокровищ».

Авторы этого удивительного открытия — Аарон Чихановер, Аврам Хершко и Ирвин Розе в 2004 г. были удостоены Нобелевской премии по химии. Процесс прикрепления убиквитина к молекуле белка, подлежащего уничтожению, они назвали «поцелуй смерти».

НЕПРОСТОЙ МЕХАНИЗМ

Убиквитиновая метка выполняет функцию ключа, который открывает «молекулярные ворота» протеасомы. В образовании комплекса убиквитина с белком принимают участие три ферментные системы (E1, E2, E3), которые также открыли вышеупомянутые ученые. Вначале фермент E1 активирует молекулу убиквитина, после чего активированный убиквитин переносится на фермент E2. Фермент E3 распознает подлежащий деградации белок и присоединяет к нему убиквитин. Цепочка из нескольких молекул убиквитина служит ярлыком для распознавания белка, который подлежит утилизации. На входе в протеасому убиквитиновая метка отсоединяется, а белок расщепляется на короткие фрагменты. Описание этого механизма уже вошло в современные учебники

по биохимии клетки, однако в дальнейшем выяснилось, что все намного сложнее.

Впоследствии было установлено, что убиквитин образует довольно экзотические полимеры путем сшивки через боковые радикалы внутренних (не концевых) аминокислот. По всем канонам, аминокислоты соединяются посредством пептидной связи (NH₂-группа к COOH-группе). Однако C-концевая аминокислота (глицин) убиквитина связывается с боковой (ε) аминогруппой лизина другой молекулы «метки смерти»; эта молекула таким же образом связывается с третьей и так далее, пока не образуется целый полимер.

Потом ученые обнаружили, что есть два типа полимеров убиквитина, различающиеся по типу сшивки. Она может происходить через боковые цепи или 48-го, или 63-го остатка лизина. И оказалось, что «смертельный» для белков полиубиквитин — это только один тип полимера, сшиваемый через 48-й лизиновый остаток (Ub-48).

КОГДА «ДВОРНИКИ» НЕ СПРАВЛЯЮТСЯ

Дальнейшие исследования ученых из разных стран показали, что от того, как функционирует клеточный «дворник», зависят продолжительность фаз деления клеток (клеточного цикла), сборка новых молекул ДНК и структура хромосом. И когда в работе такого «дворника» случаются неполадки, возникают тяжелые заболевания.

Так, сбой в деградации белка, отвечающего за разделение хромосом в процессе деления клеток, приводит к неправильному числу хромосом в дочерних клетках, что может быть причиной выкидыша, болезни Дауна, а также злокачественного перерождения опухолей.

В любой клетке можно найти дефектные белковые молекулы: во-первых, могут ошибаться сами рибосомы, синтезирующие белки на матрице РНК, во-вторых, белки со временем стареют. Аминокислоты, из которых они состоят, приобретают нежелательные модификации, которые делают весь белок бесполезным, а в худшем случае — просто опасным. Многие

болезни, в том числе и нейродегенеративные (к которым относятся синдромы Альцгеймера, Паркинсона и т.д.), возникают как раз из-за накопления в клетке неправильных, дефектных, «поломанных» белковых молекул.

НЕОБХОДИМА, НО НЕДОСТАТОЧНА!

С каждым годом накапливается все больше свидетельств важной «жизненной» роли убиквитина. Любой гормон, любое внешнее воздействие, любой межклеточный «сигнал» приводит к каскадам убиквитинилирования — деубиквитинилирования сигнальных молекул — начиная с находящегося в плазматической мембране и заканчивая ядром клетки.

В 2008 г. была обнаружена дополнительная роль убиквитина — регулирование транскрипционного аппарата путем модификаций РНК-полимеразного комплекса [2].

В процессе дальнейших исследований стало ясно, что убиквитиновая метка для утилизации белка недостаточна, хотя и необходима. В клетке можно найти вполне здоровые, функциональные белки, работающие как раз тогда, когда нужно, у которых при том есть убиквитин. Как оказалось, «черная метка» иногда нужна некоторым молекулам для каких-то иных целей (например, от нее зависит внутриклеточная «прописка» белковой молекулы), и процесс присоединения и отсоединения ее идет постоянно. Иными словами, должен быть еще какой-то параметр, по которому фермент — «мусорщик» должен узнавать, что следует переработать.

Этой проблемой долгое время занималась группа Марка Кишнера из Гарвардского университета. Известно, что убиквитиновая добавка может состоять как из одной молекулы убиквитина, так и из нескольких — то есть если продолжить метафору с «черной меткой», белок может получить как одну метку, так и сразу несколько. От того, в каком виде белок ее получил, зависит его «судьба»: обычно сигналом к расщеплению в протеасоме служат именно несколько убиквитинов.

В клетке достаточно много ферментов, называемых убиквитин-лигазами, которые пришивают убиквитиновую «черную метку» к белковым молекулам. Один из них называется APC (anaphase promoting complex), от него зависит нормальный ход клеточного цикла: APC «навешивает» убиквитин на белки, которые не позволяют клетке разделиться [3]. При этом маленькие убиквитиновые молекулы могут быть присоединены к разным участкам большой мишени. В результате работы комплекса APC в клетке появляется набор белков, «разукрашенных» самыми разнообразными способами: у кого-то убиквитин всего один, у кого-то — цепочка из двух убиквитинов, у кого-то — три метки, но в разных местах молекулы, и т.д.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОДОЛЖАЮТСЯ

И вот здесь в дело вступает собственный протеасома, которая должна «решить», кого ей нужно расщепить, но как именно это происходит, ученые пока не знают. Так, группа исследователей из Университета Торонто (Канада) и Института биохимии Макса Планка (Германия) провела серию экспериментов с использованием ЯМР-спектроскопии для выяснения особенностей поведения белков, попавших в протеасому [4]. Однако, несмотря на полученные важные результаты, ученые пришли к выводу, что в работе протеасомы по-прежнему остается много загадок и «белых пятен».

Таким образом, исследование свойств убиквитинов, как и протеасом, продолжается, позволяя шаг за шагом все лучше разбираться в одном из фундаментальных процессов, который происходит в любой живой клетке. Полученные результаты будут иметь огромную практическую перспективу, ведь если бы мы точно знали, как клетка убирает внутри себя белковый мусор, то могли бы «распрощаться» со множеством заболеваний, связанных именно с плохой работой клеточных «дворников».

Подготовил Руслан Примак,
канд. хим. наук

Литература

- Schlesinger D.H., Goldstein G., Niall H.D. The complete amino acid sequence of ubiquitin, an adenylate cyclase stimulating polypeptide probably universal in living cells // *Biochemistry*. – 1975. – Vol. 14. – P. 2214-2218.
- Daulny A., Geng F., Muratani M. et al. Modulation of RNA polymerase II subunit composition by ubiquitylation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2008. – Vol. 105. – P. 19649-19654.
- Lu Y., Wang W., Kirschner M.W. Specificity of the Anaphase Promoting Complex: a single-molecule study // *Science*. 2015. Apr. 10; 348(6231): 1248737.
- Ruschak A.M., Religa T.L., Breuer S. et al. The proteasome antechamber maintains substrates in an unfolded state // *Nature*. – 2010. – Vol. 467. – P. 868-871.

Исследование свойств убиквитинов, как и протеасом, продолжается, позволяя шаг за шагом все лучше разбираться в одном из фундаментальных процессов, который происходит в любой живой клетке

