**ЛЕКЦИЯ 8**

**РИБОСОМЫ**

*Химический состав и строение рибосомы прокариот.*

*Химический состав и строение рибосомы эукариот.*

*Этапы биосинтеза белка*

Одним из основополагающих достижений биологии и в развитии представлений о биосинтезе белка было утверждение о том, что решающая роль в осуществлении этого процесса принадлежит нуклеиновым кислотам. Это произошло уже вначале 40-х гг. XX в. Процесс биосинтеза белка осуществляется при участии **белок-синтезирующих частиц клетки – рибосом.** Впервые рибосомы были обнаружены с помощью электронного микроскопа (их называли плотными частицами, гранулами Палада, малыми гранулярными частицами). Затем удалось выделить их биохимическими методами и показать в них наличие РНК. Состав оснований рибосомальной РНК существенно отличался от состава оснований ДНК. Доказано, что основной функцией рибосом является трансляция.

Внутри интерфазных ядер имеются ядрышки. Они были обнаружены Фонтана в 1774 г. Ядрышки – это наиболее плотные структуры в ядре. Они обнаружены почти во всех ядрах клеток эукариот. В 1930 г. показано, что возникновение ядрышек связано с определенными зонами на ядрышкообразующих хромосомах – ядрышковых организаторах.

Основной компонент ядрышка – белок (70–80 % от сухой массы), который и определяет высокую их плотность. В 1940 г. обнаружено, что ядрышки содержат РНК. Показано наличие в ядрышке ДНК. Далее было открытие того факта, что «ядрышковый организатор» является вместилищем генов рибосомных РНК.

Рибосомы на электронных фотографиях выглядят округлыми частицами диаметром 20–30 нм. Рибосомы присутствуют и в прокариотных, и эукариотных клетках.Они представлены в клетке огромным числом. За клеточный цикл их образуется 1107 штук.

В клетках существуют две разновидности рибосом:

• рибосомы собственно цитоплазмы;

• рибосомы, локализованные в митохондриях и хлоропластах.

**Рибосомы прокариот** имеют коэффициент седиментации 70S.

В цитоплазме эукариотных клеток локализованы 80S рибосомы, в хлоропластах – 70S рибосомы, рибосомы митохондрий разных групп эукариотзначительно различаются по коэффициенту седиментации, так у грибов иэвгленовых – 70–74S, у высших животных – 55–60S, у высших растений –78–80S. Размер прокариотной рибосомы составляет 20.17.17 нм, эукариотной рибосомы – 25.20.20 нм.

Каждая рибосома состоит из двух нуклеопротеидных субъединицнеравных размеров, формы и химического строения. Считалось, что обе субчастицы имеют округлую форму. Сейчас показано, что их конфигурация сложна (рисунок).



**Рисунок 8.1 – Модель рибосомы *Escherichia coli* . Красным цветом выделена большая субьединица, синим — малая субьединица. Более светлым оттенком показаны рибосомные белки, более темным – рРНК**

В малой субчастице все белки, входящие в ее состав, располагаются на поверхности и распределены более или менее равномерно;в большой субъединице многие белки, имеющие антигенные детерминаторы, сосредоточены в области канавки там, где обе субчастицы контактируют между собой.

Рибосомы, выделенные из разных источников, различаются между собой. Например, по количеству белка митохондриальные рибосомы превосходят рибосомы прокариот и цитоплазматические рибосомы. Значительные различия существуют и в качественном составе рибосомальных белков. Значительные различия между рибосомами установлены и при сопоставлении их РНК. Рибосомальные РНК митохондрий не гомологичны ни цитоплазматическим РНК, ни РНК рибосом прокариот. Вторичная структура РНК у митохондриальных рибосом менее стабильна, чем у прокариот и цитоплазматических рибосом эукариот. В РНК митохондриальных рибосом значительно меньше спиральных участков, структура, образованная ею, менее компактна и более рыхлая. тРНК митохондрий присущи своеобразные черты: они отличаются от цитоплазматических тРНК и тРНК прокариот по последовательности оснований, по содержанию Г-Ц пар, по характеру посттранскрипционных изменений, по вторичной структуре, по содержанию «минорных» оснований.

иРНК митохондрий включает большее количество полиадениловых остатков,

это характерно для иРНК эукариот, но не прокариот.

Структурная организация рибосом всех названных групп принципиально одинакова. Рибосома состоит из двух субъединиц: большой и малой. У рибосом 70S прокариот эти субъединицы имеют коэффициенты седиментации 50S и 30S, у рибосом 80S эукариот эти субъединицы имеют коэффициенты седиментации 60S и 40S. В нативном виде не все субчастицы объединяются в целые рибосомы, в клетке существует динамическое равновесие между целыми и диссоциированными на субчастицы. Нетранслирующие, неработающие рибосомы постоянно обмениваются субчастицами. Непосредственная сборка рибосом идет лишь в момент работы. Динамическое равновесие между целыми рибосомами и их субчастицами можносдвигать вправо или влево, изменяя содержание магния в растворе.

**Структура и внешний** вид рибосом зависят от наличия и концентрации магния. Практически вся РНК рибосом присутствует в виде Mg-соли. Если снижать количество магния, то происходит диссоциация рибосом на субчастицы.

Рибосомы 70S и 80S различаются по стабильности: 70S начинают диссоциировать раньше, чем 80S.

Субчастицы рибосом состоят из РНК и белка. РНК имеет V-образнуюили Y-образную форму, слагает каркас, к которому крепятся белки, создавая плотно упакованный рибонуклеопротеид(РНП). При снижении концентрации магния может происходить изменение конформации РНК и разворачивание тяжа. В субчастице 45S скачком изменяется укладка РНП и возникаетболее рыхлая структура, коэффициент седиментации которой равен 35S, затем осуществляется скачкообразный переход в состояние 22S, далее наблюдается уже плавное разворачивание тяжа до полностью расправленной нити РНП с коэффициентом седиментации 5S. В состав цитоплазматических рибосом эукариотных клеток входят четыре молекулы РНК с коэффициентами седиментации: 28S, 18S, 5,8S и 5S; в рибосомах прокариотных клеток – тримолекулы РНК: 23S, 16Sи 5S.

В состав малой субъединицы входит по одной молекуле РНК, а в состав большой – две у клеток прокариот, три у клеток эукариот. Для образования рибосом необходимо наличие всех типов рибосомных РНК и наличие всех рибосомных белков. rРНК и рибосомальные белки. Молекулы rРНК в рибосомах имеют участки сдвоенных спиралей – шпильки. Это короткие двуспиральные участки молекулы, образованы комплементарно связанными нуклеотидами. Около 2/3 нуклеотидов РНК организовано в шпильки. Остальная часть молекулы представлена однотяжевыми, «аморфными» участками, где сосредоточены пуриновые основания.

С «аморфными» участками, в основном, и связаны белки рибосом. Локализация белков в РНП задается последовательностью расположения нуклеотидов в РНК. Белки РНП связаны кооперативно. Белковый состав рибосом очень гетерогенен. Молекулярный вес рибосомальных белков варьирует от 5000–7000 до 50000–70000. Число белковых молекул в рибосомах эукариот составляет около 100, прокариот – около 50. Белки большой и малой субъединиц различаются по аминокислотному составу и молекулярному весу.

Большая часть рибосомальных белков имеет основной характер, для многих из них установлена первичная структура.

**Структурные превращения рибосом**. Белки рибосом могут самопроизвольно собираться с rРНК в функционирующую рибосому, т.е. способны «узнавать» свое место в субъединицах. Этому способствует rРНК, исполняющая структурную роль при сборке субъединиц наряду с другими функциями, в том числе узнавания mРНК и тРНК.

При укладке тяжа РНП в субъединицах рибосом образуются белковые активные центры. На малой субчастице в месте ее контакта с большой находится иРНК-связывающий участок, на малой субчастице имеется еще один активный центр – участок, удерживающий аминоацил-тРНК. На большой субчастице располагается участок, удерживающий аминоацил-тРНК после ее переброса на большую субчастицу, и пептидил-тРНК связывающий участок.

Внутри этих участков выделяют еще один, частично перекрывающийся с ними, – пептидилтрансферазный центр, который катализирует образование

пептидных связей.

**Полисомы**. Во время синтеза белка одну молекулу мРНК могут транслировать несколько рибосом. Рибосомы, связанные с одной молекулой мРНК, образуют полирибосому (полисому). Полисомы могут находиться в свободном состоянии в цитоплазме. Они могут быть связаны с мембранами шероховатой ЭПС или с наружной мембраной ядерной оболочки. Размер полисом определяется длиной молекулы мРНК. Для животных клеток показано, что с мембраной контактирует непосредственно большая субъединица. Воздействие на растение неблагоприятных факторов внешней среды вызывает разрушение полисом.

**Функционирование рибосом**. Синтез белка, осуществляемый рибосомами, тесно связан с деятельностью ядра (синтез мРНК, тРНК, 5S РНК); ядрышка (синтез rРНК, сборка субъединиц рибосом); цитоплазмы (синтез белкарибосом, системы активации аминокислот, сборка рибосом); митохондрий и хлоропластов (синтез АТФ).

Для синтеза белка необходим выход в цитоплазму из ядра:

• молекулы мРНК, несущей информацию о последовательности аминокислот в будущей полипептидной цепи в форме кода из различных кодонов нуклеотидов – А, Г, У;

• субъединиц рибосом;

• тРНК, специфических для аминокислот, содержащих антикодоны, которые комплементарны к соответствующим кодонам мРНК.

В цитоплазме тРНК участвует в процессе активации аминокислот вприсутствии АТФ с помощью аминоацил-тРНК-синтетаз. Синтетазы высоко

специфичны по отношению к соответствующим тРНК и аминокислотам. Образовавшаяся аминоацил-тРНК содержит эфирную связь, энергия которой

используется при синтезе пептидной связи. Синтез полипептидной цепи в рибосомах происходит в процессе трансляции.

Этапы трансляции:

1. Инициация.

2. Элонгация.

3. Терминация.

4. Освобождение.

**Этапы трансляции.**

***Инициация*** синтеза белка включаетузнавание белками малой субъединицы участка инициации в молекуле мРНК и образование комплекса 40S-мРНК. Этот же участок мРНК с последовательностью оснований АУГ или ГУГ у 5 -конца молекулы узнает специальная инициаторная метионил-тРНК, которая присоединяется к комплексу 40S-мРНК.

Соединение требует участия не менее пяти белковых факторов инициации и ГТФ.

Комплекс 40S-мРНК-мет.-тРНК-факторы инициации присоединяет 60S

субчастицу, факторы инициации освобождаются с затратой ГТФ.

***Элонгация.*** Здесь важную роль играют два участка в большой субъединице рибосом: пептидильный (П) и аминоацильный (А).

В П-участке прикрепляется инициаторная мет.-тРНК, в А-участке – новая аминоацил-тРНК, антикодон которой соответствует очередному кодону мРНК в А-участке. Между карбоксильной группой метионина или концевой аминокислотой уже начавшей возникать пептидной цепи и свободной аминогруппой новой аминокислоты, принесенной тРНК, образуется пептидная связь за счет энергии гидролиза эфирной связи у комплекса в П-участкес помощью пептидил-трансферазы 60S-субъединицы. Пептидная цепь, оказавшаяся в А-участке, перемещается в П-участок при перемещении большой единицы на один кодон в направлении от 5 –конца к 3 –концу мРНК. Приэтом уходит деацилированная тРНК из П-участка. Освобождается А-участок. Процесс повторяется. Реакции осуществляются с участием факторов элонгации, ГТФ, ионов K и Mg.

Синтез пептида заканчивается, когда терминаторный участок мРНК достигает А-участка в транслирующей рибосоме. Терминаторный участок может иметь несколько сигнальных последовательностей.

***Освобождение.*** Участвует белковый фактор освобождения, происходит отщепление белковой цепи от последней тРНК в П-участке и освобождениет РНК. Освободившаяся рибосома диссоциирует на субъединицы при участии одного из факторов инициации. Малая субъединица может соединяться с новой молекулой мРНК, произойдет сборка рибосомы и полисомы, которая после окончания процесса трансляции вновь диссоциирует на субъединицы.

Эти обратимые превращения рибосом получили название **рибосомального цикла.**

Таким образом, все белоксинтезирующие системы, в частности, рибосомы, имеют сходную структурно-биохимическую организацию. Однако существует и большое количество модификаций как в пределах одной клетки, так и между разными клетками.

***Синтез рибосом***. Ядрышко – это источник рибосом. Количество ядрышек в клетках от 1 до 5. Количество в клетках их не постоянно, например, в половых клетках количество ядрышек может достигать несколько сотен, среди растительных объектов число ядрышек может доходить до 100.

Увеличение числа ядрышек называется амплификацией ядрышек. Число ядрышек зависит от «ядрышковых организаторов», которые локализованы во вторичных перетяжках хромосом. Чем больше число «ядрышковых организаторов», тем больше ядрышек. Число ядрышек увеличивается согласно плоидности ядра. Показано, что количество ядрышек несколько меньше числа «ядрышковых организаторов». Это связано с тем, что при образовании ядрышек «ядрышковые организаторы» могут сливаться. Доказано, что «ядрышковые организаторы» представляют полицистронные участки. Они содержат множество одинаковых генов (полиизогенные участки), т.е. рибосомные гены собраны в группы (кластеры).



**Рисунок 8.2 – Схема синтеза рибосом в клетках** [**эукариот**](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D1%83%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%82%D1%8B)**.
1. Синтез** [**мРНК**](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%A0%D0%9D%D0%9A) **рибосомных белков РНК полимеразой II. 2. Экспорт мРНК из ядра. 3. Узнавание мРНК рибосомой и 4. синтез рибосомных белков. 5. Синтез предшественника** [**рРНК**](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D1%80%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D0%BD%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B5_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D1%8B) **(45S – предшественник) РНК полимеразой I. 6. Синтез 5S pРНК РНК полимеразой III. 7. Сборка большой рибонуклеопротеидной частицы, включающей 45S-предшественник, импортированные из цитоплазмы рибосомные белки, а также специальные ядрышковые белки и РНК, принимающие участие в созревании рибосомных субчастиц. 8. Присоединение 5S рРНК, нарезание предшественника и отделение малой рибосомной субчастицы. 9. Дозревание большой субчастицы, высвобождение ядрышковых белков и РНК. 10. Выход рибосомных субчастиц из ядра. 11. Вовлечение их в трансляцию.**

В ядрах встречаются ядрышки, не связанные с ядрышковыми организаторами. В целях обеспечения продукции большего количества рибосом происходит дополнительная репликация генов rРНК. Их копии могут либо включаться в состав хромосом, либо становиться свободными. Эти ядрышки называют ***амплифицированными****.* Необходимы для синтеза большого количества запасных продуктов.

В структуре ядрышка различают:

• глобулярный центр;

• фибриллярный центр;

• плотный фибриллярный компонент (ПФК);

• хроматин;

• белковый сетчатый матрикс.

На поверхности фибриллярного центра происходит активация транскрипционных единиц – связывание с факторами транскрипции и РНК-полимеразой I, которая начинает считывать первичный транскрипт rРНК. По мере прохождения первой РНК-полимеразы на освобождающийся участок транскрипционной единицы садится следующая РНК-полимераза и начинается синтез новой rРНК. На одном r-гене могут находиться до сотни РНК-полимераз I. От них отходят транскрипты разной степени завершенности.

Конечный продукт – пре-rРНК или 45S rРНК. Растущие цепи rРНК одеваются рибосомными белками, поступающими в ядро из цитоплазмы. Образуются цепи РНП – предшественников. Вокруг фибриллярного центра образуется зона ФПК. Конечный продукт синтеза – РНП тяж, имеющий константу седиментации около 80S и содержащий одну молекулу 45S rРНК. После отделения 45S rРНК в терминальной точке транскрипционной единицы происходит расщепление 45S rРНК (***процессинг*).** Образуются 40S и 60S субчастицы. Синтез малых субчастиц происходит за 30 мин, больших – за 60 мин. В ядрышке 60S субъединица связывается с 5S rРНК, которая синтезируется вне ядрышка. Рибосомные субъединицы выходят из ядра в цитоплазму. Связываются с дополнительными белками. 40S субъединица первоначально связывается с иРНК, а затем с 60S субчастицей. Образуется 80S рибосома.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какая основная функция рибосом? 2. Что является основным компонентом ядрышка? 3. В каких клетках присутствуют рибосомы? 4. Какие существуют разновидности рибосом? 5. Какой коэффициент седиментации имеют рибосомы прокариот? 6. В чем отличие рибосом, выделенных из разных источников? 7. От чего зависит структура и внешний вид рибосом? 8. Каков молекулярный вес рибосомальных белков? 9. Что образуется при укладке тяжа РНП в субъединицах рибосом? 10. Как называются рибосомы, связанные с одной молекулой мРНК? 11. Выход чего необходим в цитоплазму из ядра для синтеза белка? 12. В чем сущность каждого этапа трансляции? 13. Что представляют собой ядрышковые организаторы? 14. Какие ядрышки называют амплифицированными? 15. Что происходит на поверхности фибриллярного центра?