

ПРИРОДА

№ 1, 2000 г.

Лауреаты Нобелевской премии за 1999 год

По физиологии и медицине

-

Г. Блобель

© "Природа"

*Использование или распространение этого материала
в коммерческих целях
возможно лишь с разрешения редакции*



Образовательный сетевой выпуск

VIVOS VOCO! - ЗОВУ ЖИВЫХ!

<http://www.accessnet.ru/vivovoco>

сверхбыстрых процессов связан с возможностью управления ими. Уже первые успехи в изучении динамики реакций в реальном времени навели на мысль, что можно пускать химическую реакцию по заранее запланированному пути и с заданной скоростью. Расчеты дали обнадеживающие результаты: подбирая в сложных последовательностях лазерных импульсов длины их волн и времена задержек, можно концентрировать элементарное возбуждение в любой части молекулы. В некоторых простых случаях удалось экспериментально осуществить селективный разрыв химической связи. Это означает, что в химической динамике появилось новое направление — *химия отдельных связей*.

Прежде чем техника селективного разрыва или образования отдельных связей найдет примене-

ние в практическом химическом синтезе, пройдет еще много времени. Но есть надежда, что лазерное управление химической динамикой когда-нибудь станет общедоступной техникой синтеза, с помощью которой можно будет “вытворять химические чудеса”, недоступные обычным препаративным методам. И химики, пользуясь своей самой быстрой в мире фемтосекундной “камерой”, смогут снимать неординарные “химические фильмы”.

© **В.В.Еремин**,
кандидат физико-математических наук
химический факультет Московского
государственного университета
им.М.В.Ломоносова ■

⁴ Femtosecond Chemistry / Ed. J.Manz and L.Woste. Weinheim, 1995; Femtochemistry: Ultrafast Chemical and Physical Processes in Molecular Systems / Ed. M.Chergui. Singapore, 1996; Femtochemistry and Fentobiology / Ed. V.Sundstrom. Singapore, 1997.

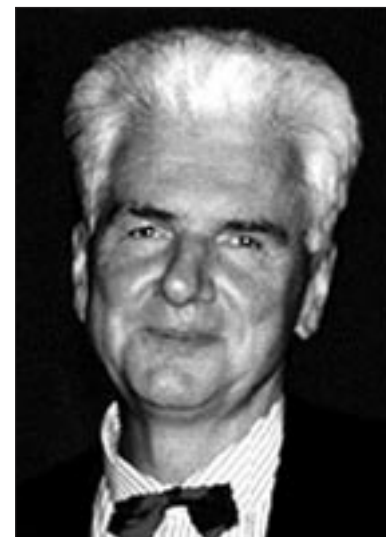
Нобелевская премия по физиологии и медицине за 1999 г. присуждена Г.Блобелю за открытие “у белков внутренних сигналов, которые определяют их транспорт и локализацию в клетке”.

Гюнтер Блобель (Günter Blobel) родился 21 мая 1936 г. в Вальтерсдорфе (Германия). В 1960 г. он закончил университет в Тюбингене и получил звание врача, а свою научную карьеру сделал в США. Несколько лет Блобель занимался онкологией в Висконсинском университете (г.Мадисон), здесь защитил кандидатскую диссертацию. С 1967 г. и по настоящее время работает в Рокфеллеровском универси-

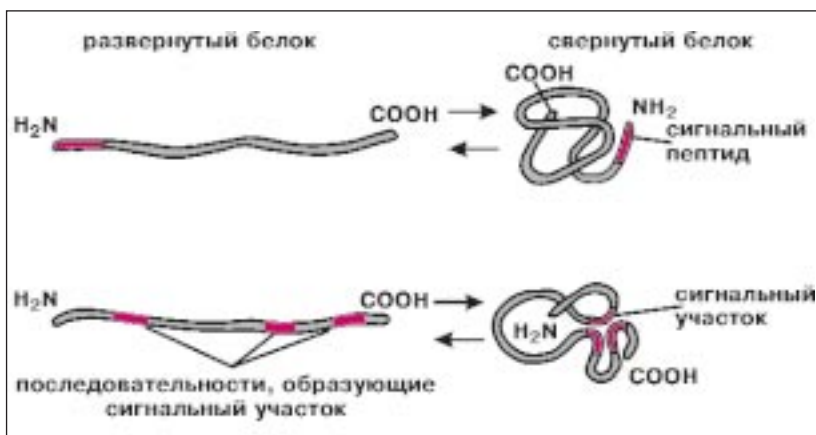
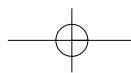
тете в Нью-Йорке.

Труды Блобеля высоко оценены и американским, и международным научным сообществом: он — член Национальной академии наук США и ряда престижных обществ; имеет множество наград, в том числе медаль Варбурга, премии Макса Планка, Альберта Ласкера, короля Фейсала. Блобель прославился также меценатством в Германии — помогает восстанавливать архитектуру и искусство Дрездена.

В конце 60-х годов Блобель работал в Рокфеллеровском институте — в знаменитой лаборатории Дж.Палладе, где изучались структура клетки и механизмы секреции вновь синтезированных белков.



Г.Блобель



Два варианта транспортных сигналов.

(Дж.Палладе, А.Клод и К.де Дюв в 1974 г. удостоены Нобелевской премии за открытия, касающиеся структурной и функциональной организации клетки.) Так что исследования Блобеля соответствовали традиционному направлению лаборатории: он изучал, как только что образовавшийся белок, предназначенный для выведения (секреции) из клетки, связывается со специализированной внутриклеточной органеллой — эндоплазматическим ретикуломом. И в 1971 г. сформулировал первую версию «сигнальной гипотезы». В ней он высказал мысль, что секретируемые белки содержат внутренний сигнал, который направляет их к мембранам и способствует проникновению через них.

В 1975 г. Блобель описывает разные стадии этого процесса и в элегантных биохимических экспериментах подтверждает, что белки действительно перемещаются через мембрану эндоплазматического ретикулула (проникая в его полость через канал) благодаря сигналу. Этот сигнал представляет собой неотъемлемую часть белковой молекулы, особую аминокислотную последовательность.

В течение 20 лет Блобель и его коллеги шаг за шагом исследовали молекулярные механизмы транспорта белков и в конце концов доказали не только верность «сигнальной гипотезы», но и ее универсальность: механизм переноса белков одинаков у всех эвкариот —

дрожжей, растений, животных.

Уже давно известно, что белковая молекула — это цепочка соединенных между собой аминокислотных остатков, длина которой может быть очень разной — от немногих десятков до нескольких тысяч остатков. Любой белок синтезируется рибосомами, которые локализованы в цитоплазме, а свои функции он может выполнять или тут же, в цитоплазме, или в определенной органелле, или за пределами клетки. Только цитоплазматические белки не встречают препятствий, так как после окончания синтеза сразу оказываются в клеточном пространстве. Для всех прочих существуют казались бы непреодолимые барьеры — мембраны, которыми окружена любая органелла и сама клетка. Каким образом крупная белковая молекула проходит через тончайший слой мембраны, не повредив его? Благодаря чему каждый белок попадает в предназначенное ему место? Блобель в своих экспериментах нашел ответ на оба этих вопроса.

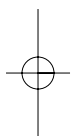
В содружестве с исследователями других лабораторий он выявил весь механизм транспорта и в 1980 г. сформулировал общий принцип сортировки белков и их доставки в клеточные органеллы или за пределы клетки. Теперь «сигнальная гипотеза» Блобеля прочно вошла в учебники молекулярной биологии.

Как же транспортируются вновь синтезированные белки в клетках

эвкариот?

Именно сигнальная последовательность определяет, будет ли белок проникать через мембрану определенной органеллы и проходить внутрь ее, останется ли встроенным в мембрану (ее каналы, как известно, формируются белками), или ему предстоит экспортироваться из клетки (такова судьба секреторных белков, многие из которых обладают гормональной активностью). Этот сигнальный участок выполняет две функции: как почтовый адрес на конверте, указывает точное место назначения белка и, подобно застежке-молнии, скрепляет его с рецептором на мембране органеллы. Адрес-застежка состоит из 10—30 аминокислотных остатков и может располагаться как на конце полипептидной цепи, так и внутри ее в виде линейно удаленных друг от друга фрагментов (в глобулярном белке они пространственно сближены и потому образуют единую часть).

Синтез белковой молекулы начинается с сигнального участка, посредством которого рибосома прикрепляется к рецептору на мембране эндоплазматического ретикулула и проходит через ее канал, затягивая постепенно удлиняющуюся цепь белка в полость ретикулула. Уже ненужный сигнальный участок отщепляется специальным ферментом, а белок может остаться здесь же, если имеет в своей структуре стоп-сигнал — небольшой фрагмент на другом конце цепи. Дальше, если это не конечная станция, на противоположной мембране ретикулула возникает выпячивание, постепенно образуется пузырек, содержащий транспортируемый белок. Пузырек, везикула, отрывается от мембраны ретикулула и сливается с ближайшей цистерной аппарата Гольджи. Поскольку везикула и цистерна сливаются своими мембранами, на этом отрезке пути белку уже не приходится преодолевать мембранный барьер. Так последовательным переносом в транспортных везикулах белок добирается до места своего назначения и удерживается там, как и в полости эндоплазматического ретикулула, с по-



мощью короткого сигнального пептида, находящегося в С-концевом участке белковой молекулы.

По этой схеме образуется инсулин, широко известный гормон белковой природы, состоящий из двух небольших цепей, соединенных между собой дисульфидными мостиками. Но синтезируется он в поджелудочной железе (на мембранах эндоплазматического ретикулума бета-островков Лангерганса) рибосомами в виде предшественника — препроинсулина. Его единственная полипептидная цепь образована 109 аминокислотными остатками, причем 23 из них, расположенных на N-конце цепи, представляют собой именно тот сигнальный пептид, который и определяет начало пути. По завершении синтеза препроинсулин оказывается внутри эндоплазматического ретикулума, где гидрофобный сигнальный фрагмент отщепляется и остается проинсулин (с первого по 86-й остаток, если не считать сигнальный пептид), в молекуле которого все сульфгидрильные группы уже замкнуты так же, как в зрелом инсулине. Везикулы с проинсулином переносятся в аппарат Гольджи, и там мембранная протеиназа выщепляет из его молекулы фрагмент 31—65. В результате образуется инсулин: две цепи — А и В, соединенные между собой S-S-мостиками. Везикулы, формируемые аппаратом Гольджи, захватывают готовый инсулин, пептид 31—65, часть проинсулина (около 5% от количества инсулина) и ионы Zn^{2+} (они, взаимодействуя с инсулином, изменяют его пространственную структуру и препятствуют растворению). После присоединения инсулиновых гранул к плазматическим мембранам в межклеточное пространство высвобождается весь секрет везикул.

Синтез препроинсулина и его превращение в проинсулин происходит за одну-две минуты, транспорт последнего от эндоплазматического ретикулума до аппарата Гольджи занимает 10—20 мин. "Созревание" везикул, несущих инсулин дальше к плазматической мембране, протекает в течение одного-двух часов. При действии глюкозы на бета-клетки поджелудочной же-

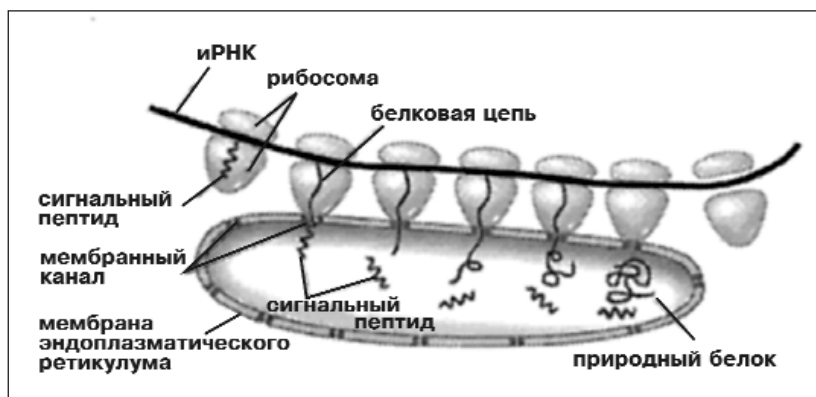
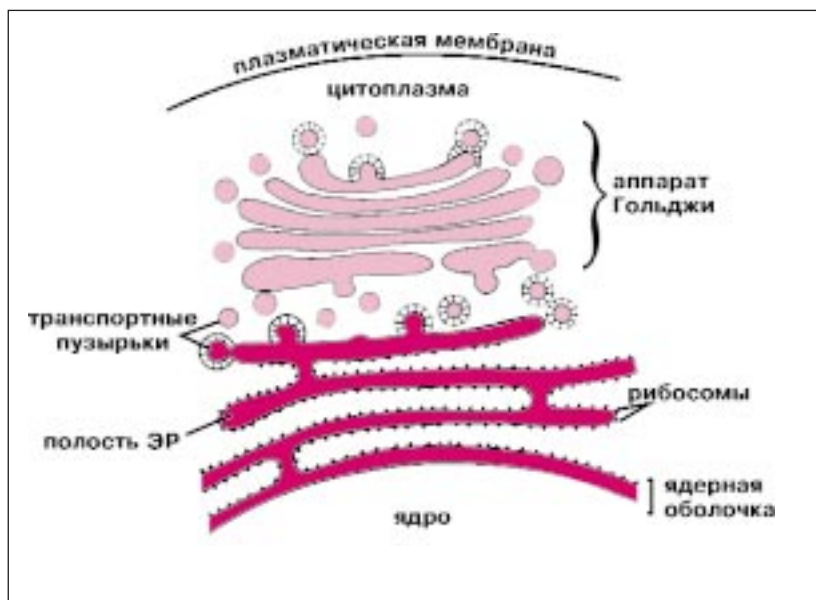


Схема белкового биосинтеза.



Перенос секреторных белков. В процессе биосинтеза белок сразу попадает в полость эндоплазматического ретикулума (ЭР), откуда в транспортных везикулках, которые отщипываются от этой органеллы, достигают ближайшего структурного элемента аппарата Гольджи. В нем в свою очередь формируются такие же везикулки, которые несут белок дальше — через цитоплазму к клеточной стенке.

лезы стимулируется главным образом слияние инсулиновых везикул с плазматическими мембранами, что приводит к усиленной секреции этого гормона. Таким образом, от начала синтеза секреторируемых белков до момента их появления в местах секреции проходит один—три часа.

Итак, сигнальные фрагменты есть у каждого синтезируемого белка (если не нарушен процесс синтеза). Размер и структура фрагмента специфичны не для вида белковых молекул (хотя аминокислотная последовательность сигнала может и различаться), а для места их назначения. Иными слова-

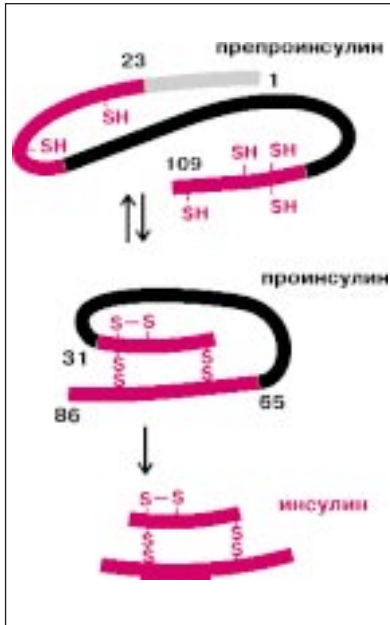


Схема биосинтеза инсулина.

ее часть переносится через мембрану, а другая остается снаружи. Бывает и не по одному старт- и стоп-сигналу, если белковая молекула прошивает мембрану несколько раз.

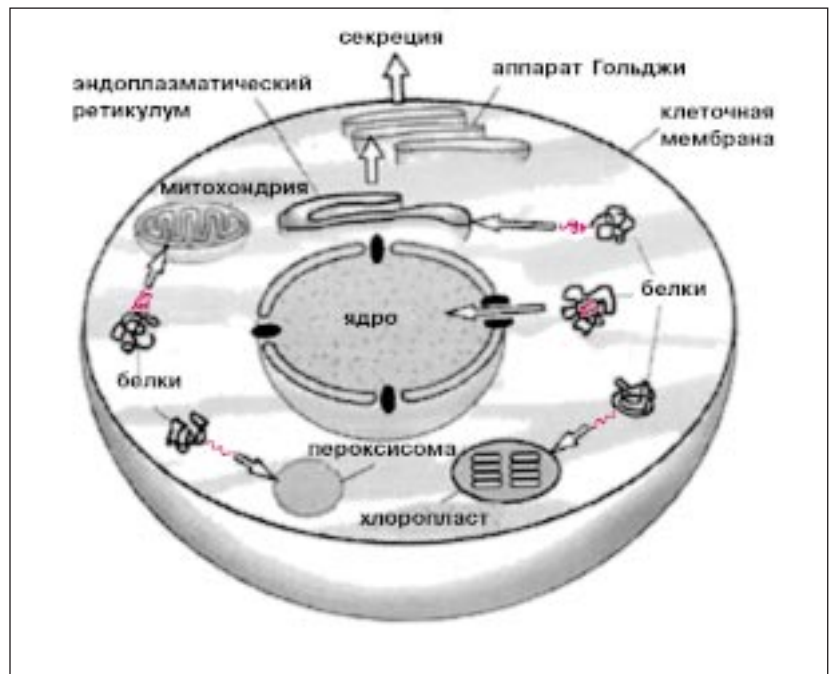
Перенос белков в клеточное ядро принципиально отличается от механизмов их доставки в другие органеллы. Белки, а их множество (среди них есть и очень крупные, например громадные молекулы ферментов, состоящие из нескольких субъединиц), попадают из цитоплазмы в ядро не через липидные слои его оболочки, а через водные поры. В клеточном ядре млекопитающих их число составляет три—четыре тысячи, они пронизывают его двойную мембрану и окружены поровыми комплексами из набора больших белковых гранул. Эти поры работают, подобно

клапану, т.е. способны открываться по сигналу транспортируемого белка и закрываться, когда он достигает ядерной плазмы (нуклеоплазмы). Сигнальные участки у одних ядерных белков могут располагаться на N-конце их цепи, у других — внутри нее.

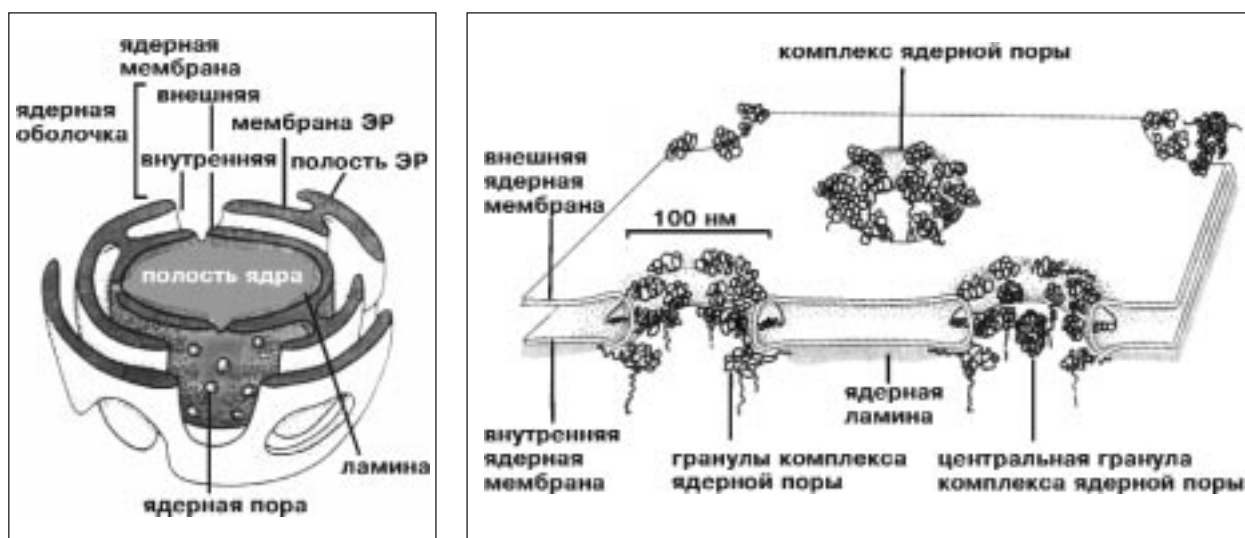
В лаборатории Блобеля продолжается изучение транспорта белков в митохондрии и хлоропласты, исследуются механизмы ядерного экспорта и импорта белков и нуклеопротеидов (белковых комплексов с РНК или ДНК). В последние годы удалось выяснить, что транспортируемые в ядро белки распознаются и присоединяются к комплексу переносчиков кардиоферин-бета-2. Более того, уже установлена его третичная структура. Блобель полагает, что и экспорт, и импорт белков опо-

ми, белки, направляемые, например, в лизосомы, имеют сигнальный фрагмент (его принято называть топогенетическим сигналом), отличный от того, который управляет движением белков в пероксисоме, а тем более — в ядро.

Транспорт белков совсем не так прост, как может показаться. Он требует энергии, источником которой в большинстве случаев служит АТФ; участия ферментов для модификации, часто необходимой белку, чтобы он выполнял свои функции; иногда — и модификации самого сигнального пептида; определенного электрохимического градиента на внутренней мембране митохондрий, если белок поступает в эти органеллы; сам сигнальный участок должен содержать не только точный адрес доставки, но и фрагмент, распознаваемый специальным ферментом (так называемой сигнальной пептидазой), который отщепляет его, пептид, от белковой молекулы. Если белок должен быть встроен в мембрану, у него имеется (в простейшем случае) еще и стоп-пептид, с помощью которого молекула закоривается в липидном слое мембраны так, что одна



Примеры белкового транспорта, управляемого сигнальными фрагментами (показаны цветом). Видно, что белок направляется в определенную органеллу благодаря наличию у него сигнальной структуры, специфичной именно для этой органеллы.



Трехмерная модель ядра в поперечном срезе (слева) и схема небольшого участка ядерной оболочки. Водные поры, по периметру которых находятся крупные белковые гранулы, насквозь пронизывают двойную мембрану ядра и служат как для экспорта, так и для импорта белков и белково-нуклеиновых комплексов.

средованы одними и теми же сигналами. На экспериментальных доказательствах этого и сосредоточены усилия нового нобелевского лауреата и его коллег.

Важность расшифровки транспортного механизма для понимания жизнедеятельности клетки неоспорима. Но за этим кроются и медицинские аспекты. Из примера синтеза инсулина ясна роль сигнального пептида в образовании столь необходимого медицинской практике гормона. А в здравоохранении применяются и многие другие препараты белковой природы, например гормон роста, интерферон, эритропоэтин, которые пока производятся не совсем идеальными для этого бактериями. Новая стратегия получения таких препаратов может быть основана на знании структуры кодирующего сортировочный сигнал генного участка и использования методов генной инженерии.

Результаты исследований Блобеля помогают понять и молекулярные механизмы различных наследственных заболеваний. Они могут быть обусловлены доставкой белка в ошибочное место из-за того, что сигнальный пептид не от-

щепляется от белка, а остается связанным с ним, как при первичной гипероксалурии, вызывающей образование камней в почках человека в раннем возрасте. Некоторые формы гиперхолестеринемии (т.е. повышенного содержания в крови холестерина) обусловлены несовершенством транспортных сигналов. Еще одна наследственная болезнь — муковисцидоз (фиброзно-кистозная дегенерация) — связана с тем, что белки не достигают места своего назначения.

Исследования, начатые около 30 лет назад и продолжающиеся до сих пор, принесли Блобелю самую престижную научную награду. Кто знает, не пополнится ли сонм нобелевских лауреатов новыми именами за работы в этой удивительной области знаний о живом — клеточной биологии.

© Член-корреспондент РАН

В.А.Ткачук

Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава РФ

Л.П.Белянова,

кандидат химических наук

Москва ■