

# Selenocysteina — 21. aminokwas uniwersalnego kodu genetycznego

Jerzy Pawełkiewicz  
Katedra Biochemii  
Akademia Rolnicza  
Poznań

W większości podręczników biochemii uniwersalny kod genetyczny jest przedstawiany w postaci tablicy obejmującej 20 różnych aminokwasów oraz 3 kodony terminujące. W układzie tym kodon AUG posiada podwójną funkcję — jest odpowiedzialny za inicjację transkrypcji oraz za wprowadzenie metioniny do syntetyzowanego łańcucha polipeptydowego.

Do tego obrazu należy obecnie dodać kodon UGA jako również spełniający 2 funkcje — jako kodon terminujący oraz inkorporujący 21. aminokwas uniwersalnego kodu genetycznego — selenocysteinę.

Zagadnienie selenu jako pierwiastka śladowego od dawna interesowało żywnościowców, lekarzy, biochemików.

Do połowy lat pięćdziesiątych selen był uważany za pierwiastek toksyczny. Stwierdzono, np. że zwierzęta wypasane na terenach bogatych w selen często padały. Podawanie zwierzętom doświadczalnym związków selenu w stężeniach milimolarnych prowadziło do ich śmierci.

Również dla człowieka dzienna dawka selenu w ilości 0,8 mg wywołuje objawy zatrucia.

W drugiej połowie lat pięćdziesiątych zmienił się pogląd w sprawie roli selenu w żywieniu zwierząt i człowieka, kiedy wykazano, że również brak tego pierwiastka w diecie prowadzi do zaburzeń metabolicznych, które można było usunąć podając małe dawki selenu (np. w postaci  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ).

Okazało się przy tym, że dla większości organizmów stężenia dawek niezbędnych dla życia, a także o działaniu toksycznym różnią się tylko o około 1 rząd wielkości.

Dla poznania molekularnej roli selenu istotne było stwierdzenie występowania w niektórych białkach analogu cysteiny zawierającego w miejsce atomu siarki atom selenu — selenocysteiny.

W organizmach pro- i eukariotycznych znajdowano również selenometioninę, szczególnie w białkach bogatych w metioninę.

Różnica w występowaniu obu aminokwasów polega na tym, że o ile selenometionina może pojawić się w wyniku przypadkowej substytucji metioniny, to selenocysteina jest integralnym składnikiem określonego białka i występuje w nim w określonej pozycji w łańcuchu polipeptydowym.

Wśród prokariotycznych białek zawierających selenocysteinę można wymienić szereg enzymów: reduktazę glicynową, dehydrogenazę mrówczanową, hydrogenazę.

U wyższych eukariotów (ptaki, ssaki) znaleziono peroksydazę glutationową, dejodynazę tyroksyny, a wśród białek plazmy tzw. selenobiałko P powstające w wątrobie i zawierające 7 do 8 reszt selenocysteiny w cząsteczce.

W 1986 r. zsekwencjonowano gen H-dehydrogenazy mrówczanowej (jedynej z izoenzymatycznych form enzymu) *E. coli* (1), a także gen peroksydazy glutationowej myszy (2). Z analizy tych sekwencji wynikało nieoczekiwane, że selenocysteina pojawiała się w obu białkach w miejscu określonym kodonem terminującym TGA. Potwierdziły to i późniejsze analizy białek z selenocysteiną.

Spostrzeżenia te były punktem wyjścia dla wyjaśnienia zarówno syntezy selenocysteiny jak i inkorporacji tego aminokwasu do białek.

W roku 1987 Böck i inni (3) wykazali, że insercja selenocysteiny do cząsteczki dehydrogenazy mrówczanowej zależy u *E. coli* od kodonu UGA, oraz że przejście przez ten kodon (ang. *readthrough*) w procesie translacji zależy od obecności selenu w pożywce bakteryjnej. Obecność zmutowanego genu zawierającego w miejscu UGA kodon cysteiny UGC prowadzi do syntezy enzymu o bardzo zmniejszonej aktywności i to niezależnie od obecności czy nieobecności selenu w pożywce.

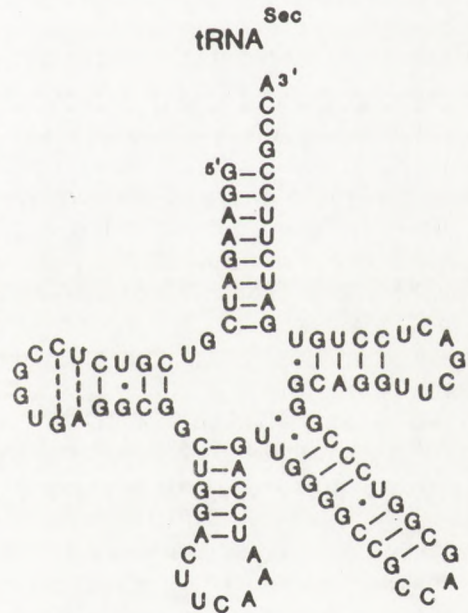
Dla bliższego wyjaśnienia zagadnienia analizowano cały szereg mutantów *E. coli* na ich zdolność degradacji mrówczanu.

Na tej drodze zidentyfikowano 4 geny nazwane sel A, sel B, sel C i sel D, które okazały się niezbędne dla syntezy i włączenia selenocysteiny do enzymu.

Centralną cząsteczką uczestniczącą w obu procesach okazał się produkt

genu sel C, specyficzna cząsteczka tRNA<sup>Sec</sup>. tRNA<sup>Sec</sup> nie jest jednak akceptorem selenocysteiny, lecz seryny, a proces aminoacylacji zachodzi z udziałem serylo-tRNA-syntetazy (rys. 1). Dopiero wtórnie ser-tRNA<sup>Secys</sup> jest przekształcana w Secys-tRNA<sup>Sec</sup>. Sama cząsteczka tRNA<sup>Sec</sup> odbiega też od kanonicznej struktury pozostałych tRNA tym, że łączy ramię aminoacylowe zawiera 8 a nie 7 par nukleotydowych, ma nietypową strukturę węzła pętli D oraz bardzo długie 22 nukleotydowe ekstra ramie.

Antykodonem tRNA<sup>Sec</sup> jest sekwencja UCA komplementarna do kodonu terminującego UGA.

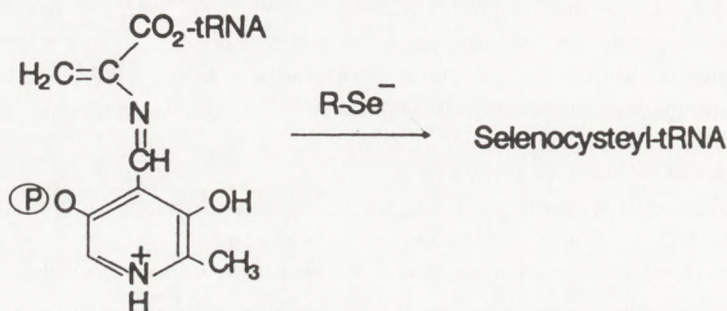


Rys. 1. Sekwencja nukleotydowa tRNA<sup>Sec</sup>.

Również eukariotyczny tRNA<sup>Sec</sup> posiada strukturę zmienioną w stosunku do struktury kanonicznego tRNA. Tak np. tRNA<sup>Sec</sup> z *Xenopus laevis* ma łożdę aminocyłową złożoną z 9 par nukleotydowych i prawdopodobnie zmienioną strukturę 3-rzędową (5).

Gen sel A programuje tworzenie się syntetazy selenocysteiny enzymu przekształcającego Ser-tRNA<sup>Sec</sup> w Secys-tRNA<sup>Sec</sup>. Enzym ten oczyszczony do stanu homogenności jest białkiem złożonym z 10 monomerycznych podjednostek, każda o c.c.z. 506670 Da zawierających fosforan pirydoksalu jako grupę czynną. Tworzy ona trwały kompleks z Ser-tRNA<sup>Sec</sup>, przy czym wiązaniu ulega tylko 1 cząsteczka Ser-tRNA<sup>Sec</sup> na dimer (6). Pośrednim związkiem w syntezie selenocysteiny jest aminoakrylo-tRNA<sup>Sec</sup> kowalently związane z grupą prostatyczną.

W obecności donora selenu RSe<sup>-</sup> tworzy się Secys-tRNA (rys. 2) (7).



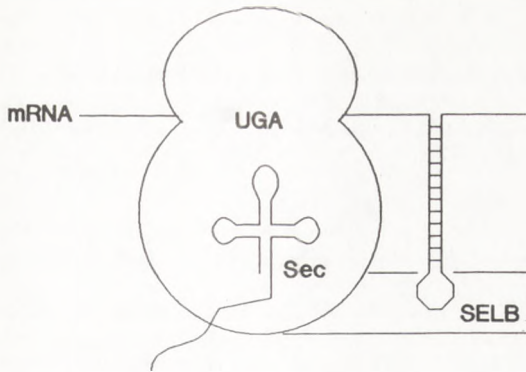
Rys. 2. Synteza selenocysteiny zachodzi na poziomie tRNA<sup>Sec</sup>.

Syntezę donora selenu kieruje produkt genu sel D — SELD. Tym donorem okazał się nieoczekiwanie fosfoselenian H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>SeH powstający w wyniku reakcji ATP z SeH<sup>-</sup> (8). Związek ten uczestniczy również w inkorporacji Se do 5-metyloamino-metylo-2-tiourydyny obecnego w niektórych tRNA (13).

Produkt genu sel B, białko SELB pełni funkcje czynnika elongacyjnego zastępującego czynnik EF-Tu przy wprowadzaniu selenocystein do łańcucha polipeptydowego w miejscu kodowanym przez UGA. Jest rzeczą interesującą, że powinowactwo Ser-tRNA<sup>Sec</sup> do EF-Tu · GTP jest prawie 100 razy mniejsze niż Ser-tRNA<sup>Ser</sup>, co może zapobiegać rozpoznawaniu kodonu UGA przez Ser-tRNA<sup>Sec</sup> (9).

Odmienna struktura tRNA<sup>Sec</sup> oraz obecność w układzie specyficznego czynnika elongacyjnego SELB nie wystarcza jednak dla wyjaśnienia dekodowania kodonu UGA jako selenocysteiny. Na przykład mutacje UGA do kodonów cysteiny UGC lub UGU w mRNA dehydrogenazy mrówczanowej nie znośzą wbudowania selenocysteiny.

Według Böcka (10) dla włączenia selenocysteiny wymagana jest również określona struktura drugorzędowa mRNA. Sądzi się, że sekwencja zlokalizowana po



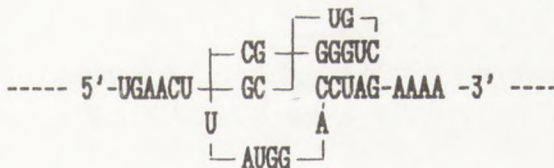
Rys. 3. Hipotetyczny model rybosomalnej inkorporacji selenocysteiny do łańcucha polipeptydowego.

stronie 3', UGA obejmująca ok. 40 nukleotydów, musi posiadać strukturę „szpilki do włosów”. Taka struktura ma tworzyć kompleks Secys-tRNA<sup>Sec</sup>:SELB umożliwiający wbudowanie selenocysteiny (rys. 3).

Jednak nie wszystkie mRNA selenobiałek spełniają ten wymóg. Na przykład selenobiałko A będące podjednostką reduktazy glicynowej u *Clostridium sticklandii* mogłoby utworzyć tego rodzaju strukturę szpilkową, ale obejmującą przeszło 100 nukleotydów (11).

Gdyby struktura szpilkowa miała hamować szybkość elongacji w miejscu UGA to w moim przekonaniu mogłaby spełniać ten warunek struktura pseudowęzła (12), która może się tworzyć w tym ostatnim przypadku (rys. 4). Obecność pseudowęzła opóźnia przesuwanie się rybosomów, co świadczy o zakwalifikowaniu selenocysteiny, kodowanej przez kodon UGA do uniwersalnego kodu genetycznego.

Interesująca jest przede wszystkim powszechność występowania specyficznych selenobiałek. Znalaziono je u bakterii, pierwotniaków, grzybów, roślin wyższych, zwierząt (łącznie z człowiekiem). Specyficzne tRNA<sup>Sec</sup> rozpoznające UGA znalaziono u bakterii, roślin i ssaków. Tylko niewielka częstotliwość występowania selenobiałek pozwoliła jakby zapomnieć o 21. aminokwasie uniwersalnego kodu genetycznego.



Rys. 4. Dopuszczalna energetycznie struktura pseudowęzła, która może pojawić się po kodonie UGA w mRNA podjednostki A reduktazy glicynowej *C. sticklandii*.

**Literatura**

1. Zinoni F., Birkmann A., Stadtman T. C., Böck A., (1986), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 4650.
2. Chambers J., Frampton J., Goldforb P., Affare N., McBain W., Harrison P. R., (1986), EMBO J., 5, 1221.
3. Zinoni F., Birkmann A., Leinfelder W., Böck A., (1987), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 3156.
4. Baron C., Heider J., Böck A., (1990), Nucleic Acids Res., 18, 6761.
5. Sturchler C., Westhof E., Carbon P., Krol A., (1993), Nucleic Acids Res., 21, 1073.
6. Engelhardt H., Forchhammer K., Müller S., Goldie K. N., Böck A., (1992), Molec. Microbiol., 6, 3461.
7. Forchhammer K., Böck A., (1991), J. Biol. Chem., 266, 6324.
8. Ehrenveich A., Forchhammer K., Tormay P., Veprek B., Böck A., (1992), Europ. J. Bioch., 206, 767.
9. Förster C., Ott G., Forchhammer K., Sprinzl M., (1990), Nucleic Acids Res., 18, 487.
10. Heider J., Baron C., Böck A., (1992), EMBO J., 11, 3759.
11. Garcia G. E., Stadtman T. C., (1992), J. Bacterial., 174, 7080.
12. Tu C., Tzeng T.-H., Bruen J. A., (1992), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 8636.
13. Veres Z., Thai L., Scholz T. D., Politino M., Balaban R. S., Stadtman T. C., (1992), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 2975.

**Selenocysteine — 21<sup>st</sup> amino acid of the universal genetic code****Summary**

Biosynthesis and properties of selenocysteine — 21<sup>st</sup> amino acid of the diverse genetic code are discussed. New structural peculiarities of Sec-tRNA<sup>Ser</sup> as mRNA are crucial for incorporation of selenocysteine into some proteins. Pseudoknot structure can be formed within mRNA and play a regulatory role in translation.

**Key words:**

genetic code, selenocysteine, biosynthesis.

**Adres dla korespondencji:**

Jerzy Pawełkiewicz, Katedra Biochemii, Akademia Rolnicza, ul. Wołyńska 35, 60 - 637 Poznań.