

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**О.В. Воронкова, И.Е. Есимова, И.А. Осихов,  
Р.Р. Хасанова, О.Ю. Рыбалкина, Е.А. Трифонова,  
А.Г. Семенов, М.С. Костромеева, С.Л. Коптелова**

# **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Томск  
Издательство СибГМУ  
2021

УДК 577.21:616-056.7](075.8)  
ББК 52.54я73+28.7я73  
М 750

**Авторы:**

Воронкова О.В., Есимова И.Е., Осихов И.А., Хасанова Р.Р., Рыбалкина О.Ю.,  
Трифорова Е.А., Семенов А.Г., Костромеева М.С., Коптелова С.Л.

М 750 **Молекулярные основы наследственности:** учебное пособие /  
О.В. Воронкова [и др.]. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2021. – 115 с.

В учебном пособии рассматриваются механизмы хранения, передачи и реализации генетической информации в клетке, составляющие материальную основу наследственности живых организмов. Представлена информация о строении нуклеиновых кислот, описаны эксперименты, доказывающие роль ДНК и РНК в хранении и передаче наследственной информации; охарактеризованы основные этапы экспрессии генов; описаны особенности регуляции генетической активности у про- и эукариот на уровне транскрипции, трансляции, посттрансляционной модификации белков, а также эпигенетические механизмы регуляции.

Пособие предназначено для студентов медицинских вузов, осваивающих основные образовательные программы специалитета «Лечебное дело», «Педиатрия», «Стоматология», «Медицинская биохимия», «Медицинская биофизика», «Медицинская кибернетика», «Медико-профилактическое дело», а также ординаторов, врачей и провизоров различных специальностей, повышающих квалификацию по вопросам общей, молекулярной, медицинской и лабораторной генетики в рамках непрерывного медицинского и фармацевтического образования.

УДК 577.21:616-056.7](075.8)  
ББК 52.54я73+28.7я73

**Рецензент:**

**Назаренко М.С.** – д-р мед. наук, руководитель лаборатории популяционной генетики ФГБУН ТНИМЦ РАН (г. Томск).

*Утверждено и рекомендовано к печати методической комиссией по направлению подготовки 31.05.01 Лечебное дело ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол №3 от 23 апреля 2021 г.).*

© Воронкова О.В., Есимова И.Е., Осихов И.А., Хасанова Р.Р.,  
Рыбалкина О.Ю., Трифонова Е.А., Семенов А.Г.,  
Костромеева М.С., Коптелова С.Л., 2021  
© Издательство СибГМУ, 2021

# СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>РАЗДЕЛ I. РОЛЬ ДНК В ХРАНЕНИИ И ПЕРЕДАЧЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ .....</b>	<b>6</b>
1.1. История открытия и изучения нуклеиновых кислот .....	6
1.2. Доказательства роли ДНК в хранении и передаче наследственной информации .....	11
1.3. Химический состав и строение нуклеиновых кислот .....	18
1.4. Репликация ДНК .....	25
<b>РАЗДЕЛ II. БИОСИНТЕЗ МОЛЕКУЛ РНК. ПРОЦЕССИНГ .....</b>	<b>42</b>
2.1. Виды и функции РНК в клетке .....	42
2.2. Транскрипция: биосинтез РНК .....	46
2.3. Посттранскрипционная модификация РНК (процессинг).....	58
<b>РАЗДЕЛ III. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД. ТРАНСЛЯЦИЯ .....</b>	<b>66</b>
3.1. Строение и функции белков .....	66
3.2. Генетический код и его свойства .....	71
3.3. Трансляция: биосинтез белка .....	75
3.4. Посттрансляционная модификация и фолдинг белков .....	81
<b>РАЗДЕЛ IV. РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ .....</b>	<b>89</b>
4.1. Регуляция активности генов у прокариот .....	90
4.2. Регуляция активности генов у эукариот .....	98
<b>ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ .....</b>	<b>114</b>
<b>РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....</b>	<b>115</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Внедрение в биологию в середине XX века новых физических и химических методов исследования, в частности, радиоизотопных методов, рентгеноструктурного анализа, хроматографии, электрофореза, градиентного высокоскоростного центрифугирования, способствовало глубокому и точному изучению строения и функций отдельных компонентов живой клетки на субклеточном и молекулярном уровнях. Расшифровка структуры ДНК (Френсис Крик, Джеймс Уотсон, Морис Уилкинс, 1953) явилась революцией в молекулярной биологии и предвосхитила период важнейших открытий с общим направлением – формирование представлений о сущности жизни, о природе наследственности и изменчивости живых организмов. Одним из следствий создания модели ДНК стала расшифровка генетического кода – принципа записи генетической информации в клетке (Маршалл Ниренберг, 1968).

После расшифровки генетического кода и определения принципа записи генетической информации ученые задумались над тем, каким образом осуществляется перенос информации с ДНК на белок. Исследования в этой области завершились описанием полного механизма реализации генетической информации, включающего два этапа: транскрипцию и трансляцию. Постепенно разрабатывались схемы механизмов регуляции генов у про- и эукариот, чему способствовало установление прерывистой структуры некоторых генов и описание механизма сплайсинга. Произошло смещение фокуса генетических исследований с объектов классической генетики (растения и животные) на более простые формы жизни – прокариотические организмы, что повысило разрешающую способность и точность генетического анализа. Под влиянием прогресса в изучении структуры и функции генов у ученых возникла идея манипуляции ими, в первую очередь, путем переноса генов из клетки в клетку. Так появилось новое направление науки – генная инженерия. Уже в начале 70-х годов XX века были получены первые результаты экспериментов в области геной инженерии. В этот же период были начаты работы по секвенированию геномов разных биообъектов, начиная с бактериофагов и

заканчивая человеком.

За свою недолгую историю молекулярная генетика достигла значительных успехов, расширив представления о природе наследственности и изменчивости, и трансформировалась в ведущее и наиболее быстро развивающееся направление биологии. Для решения практических задач, в том числе в области генной инженерии и молекулярной медицины, разрабатываются рациональные способы активного воздействия на внутриклеточные процессы биосинтеза биологически важных веществ, а также надмолекулярных структур, вплоть до субклеточных элементов.

В настоящем учебном пособии рассматриваются фундаментальные принципы хранения, воспроизведения, передачи и реализации наследственной информации в клетке. Представлена информация о строении нуклеиновых кислот, описаны эксперименты, доказывающие роль ДНК и РНК в хранении и передаче наследственной информации; охарактеризованы основные этапы экспрессии генов; описаны особенности регуляции генетической активности у про- и эукариот на уровне транскрипции, трансляции, посттрансляционной модификации белков, а также эпигенетические механизмы регуляции.

В конце каждого раздела приведены вопросы и тестовые задания для контроля знаний при самостоятельной подготовке; в конце учебного пособия представлен список литературы для получения дополнительной информации по рассматриваемым разделам.

Учебное пособие предназначено для студентов медицинских вузов, осваивающих основные образовательные программы специалитета «Лечебное дело», «Педиатрия», «Стоматология», «Медицинская биохимия», «Медицинская биофизика», «Медицинская кибернетика», «Медико-профилактическое дело», а также ординаторов, врачей и провизоров различных специальностей, повышающих квалификацию по вопросам общей, молекулярной, медицинской и лабораторной генетики в рамках непрерывного медицинского и фармацевтического образования.

# РОЛЬ ДНК В ХРАНЕНИИ И ПЕРЕДАЧЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

## 1.1. История открытия и изучения нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты были открыты в 1869 г. швейцарским физиологом **Фридрихом Мишером** (1844–1895). В то время Ф. Мишер работал в Германии и проводил исследования химического состава животных клеток, а в качестве объекта для изучения использовал лейкоциты. Для того чтобы получать материал для исследования, Мишер заручился сотрудничеством с врачами местного хирургического госпиталя, и те стали доставлять ему в лабораторию использованные перевязочные материалы, снятые с гнойных ран пациентов. Ученый отмывал лейкоциты с повязок (по большей части ядра клеток) и выделял из них белки для исследования. В процессе работы Мишер обнаружил, что кроме белков в растворе присутствует «неизвестное вещество», которое при подкислении раствора выпадало в осадок в виде белых хлопьев или нитей, а при подщелачивании снова растворялось, что свидетельствовало о его кислотном характере. Мишер установил, что выделенное им вещество в своем составе содержит большое количество азота и фосфора. Поскольку в то время о подобных субстанциях ничего не было известно, Фридрих Мишер пришёл к выводу, что он открыл некое новое вещество, которое назвал «нуклеином» (от латинского *nucleus* – ядро).



**Фридрих Мишер**

На момент, когда Мишер совершил свое открытие, о значении ядра в клетке ничего не было известно, однако за почти три года до

открытия нуклеина, в 1866 г., немецкий естествоиспытатель Эрнст Геккель высказал предположение о том, что ядро отвечает за передачу наследственных признаков. Вернувшись в Швейцарию, Фридрих Мишер продолжил исследования нуклеина, выделяя его из молок лососёвых рыб. В статье об обнаружении нуклеина в молоках, опубликованной в 1874 г., Мишер писал, что это вещество явно связано с процессом оплодотворения. Однако он отверг мысль о том, что в нуклеине может быть закодирована наследственная информация: соединение казалось ему слишком простым для хранения всего разнообразия наследственных признаков.

В 1879 году к изучению открытого Ф. Мишером соединения приступил немецкий биохимик и физиолог **Альбрехт Коссель** (1853–1927). В своих исследованиях он пришёл к выводу, что нуклеин состоит из белкового и небелкового компонентов. Он разделил эти компоненты и изучил состав белковой и небелковой частей. Коссель впервые описал основные белки ядра – гистоны, изучил свойства и распространение их в природе. Им были открыты аминокислота гистидин и пиримидиновые азотистые основания тимин и цитозин, разработаны способы получения и методы количественного определения гексоновых оснований. В 1910 г. Альбрехту Косселю была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине за «вклад в изучение химии клетки, внесенный исследованиями белков, включая нуклеиновые вещества».

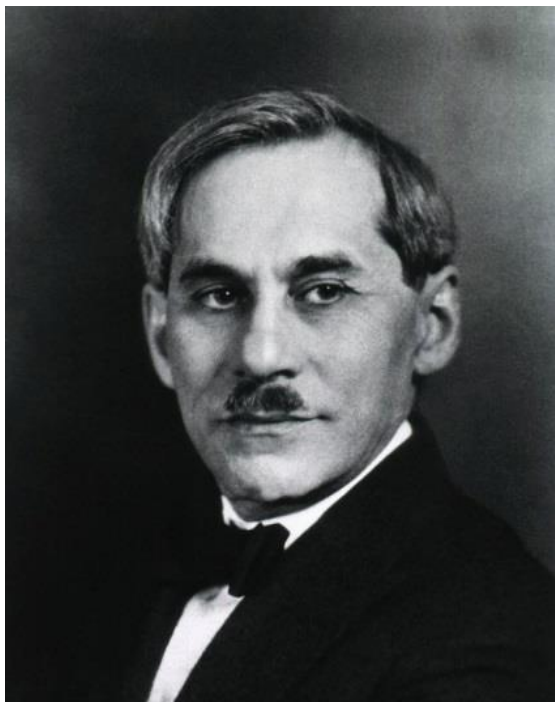
В этих исследованиях также принимал участие немецкий химик **Эмиль Герман Фишер** (1852–1919). В 1897 году Эмиль Фишер впервые выделил другие основные компоненты нуклеиновых кислот – пуриновые азотистые основания аденин и гуанин. В 1902 г. Фишеру была вручена Нобелевская премия по химии «в качестве признания его особых заслуг, связанных с экспериментами по синтезу веществ с са-



**Эмиль Герман Фишер**

харидными и пуриновыми группами». Таким образом, к концу XIX в. была открыта большая часть основных компонентов нуклеиновых кислот.

Как известно, существуют две разновидности нуклеиновых кислот: дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК). Различия в названиях обусловлены тем, что молекула ДНК содержит сахар дезоксирибозу, а молекула РНК – рибозу.



**Фашель Аронович  
Левин**

В 1909 году русский биохимик **Фашель Аронович Левин** (1869–1940) впервые выделил и идентифицировал сахар D-рибозу, который определяет специфику первого типа нуклеиновых кислот – РНК. И только почти 20 лет спустя в 1930 г., после серии непрерывных и неудачных попыток Левину удалось выделить и идентифицировать дезоксирибозу – сахар, определяющий второй тип нуклеиновых кислот – ДНК.

Опираясь на результаты и опыт, полученные в лабораториях А. Косселя и Э. Фишера, Левин дополнил представление том, что нуклеиновые кислоты являются полимерами, образованными из мономеров – нуклеотидов, в состав которых входят пуриновые основания – аденин и гуанин, и пиримидиновые – тимин, цитозин и урацил. Методом мягкого гидролиза нуклеиновых кислот он выделил нуклеотиды и с помощью метилирования определил и описал их структуру.

До 1930-х годов существовало мнение о том, что ДНК характерна только для животных, а РНК – для растений, поскольку ДНК была выделена из тимуса теленка (тимонуклеиновая кислота), а РНК – из дрожжей.



В 1934 году советский биолог и биохимик **Андрей Николаевич Белозерский** (1905–1972), работавший на кафедре биохимии растений МГУ, впервые обнаружил ДНК в клетках растений. Полученные А.Н. Белозерским результаты позволили отвергнуть деление нуклеиновых кислот на «животные» и «растительные» и утвердить представление об универсальном распространении ДНК как в растительных, так и в животных клетках. Изучая бактерии, А.Н. Белозерский отметил высокое содержание в их клетках нуклеиновых кислот, составляющих до 30% от сухого веса, в отличие от высших организмов. Работы по изучению нуклеотидного состава ДНК и РНК у бактерий послужили началом многочисленных исследований состава нуклеиновых кислот у других организмов – актиномицетов, грибов, водорослей, высших растений.



**Андрей Николаевич  
Белозерский**

В 1950–1953 гг. американский биохимик **Эрвин Чаргафф** (1905–2002) проводил исследования по изучению химического состава и структуры нуклеиновых кислот. Чаргафф выделял нуклеиновые

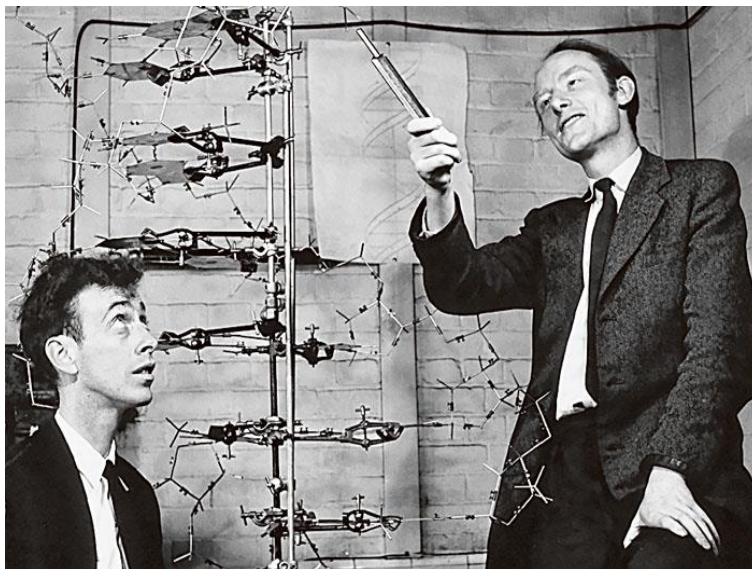


**Эрвин Чаргафф**

кислоты из разных биообъектов и определял количественное содержание азотистых оснований, входящих в их состав. Им было установлено, что соотношение азотистых оснований хотя и отличается у разных организмов, но всегда количество аденина в молекуле ДНК равно количеству тимина, а количество гуанина равно количеству цитозина. Кроме того, Чаргафф доказал, что ДНК обладает видовой специфичностью, и отверг гипотезы о существовании многих разновидностей ДНК. Закономерности, отражающие коли-

чественное соотношение азотистых оснований в молекуле ДНК получили название «правила Чаргаффа». В дальнейшем этими правилами воспользовались Френсис Крик и Джеймс Уотсон при определении структуры ДНК в виде двойной спирали.

В 1953 году **Джеймс Уотсон** (1928) и **Френсис Крик** (1916–2004) обосновали существование двойной спирали ДНК и впервые предложили модель молекулы, которая объяснила все факты, обусловленные пространственным расположением атомов и наличием химических связей между ними. Модель наглядно продемонстрировала то, каким образом молекула передает информацию и воспроизводит сама себя. По сути, был открыт способ записи и воспроизведения генетической информации на молекулярном уровне. Джеймс Уотсон и Френсис Крик выделили два основных структурных свойства ДНК: ее двуспиральность и комплементарность – соответствие цепей ДНК друг другу.



Джеймс Уотсон и Френсис Крик

В основе открытия Д. Уотсона и Ф. Крика лежали результаты рентгеноструктурного анализа ДНК, полученные учеными **Морисом Уилкинсом** (1916–2004) и **Розалиндой Франклин** (1920–1958). Р. Франклин известна в большей степени своей работой над получением рентгенограмм структуры ДНК (рис. 1).



*Рис. 1. Рентгенограмма волокон натриевой соли тимусной ДНК в В-форме, полученная Розалиндой Франклин (опубликована в 1953 году в журнале «Nature»: Franklin R.E., Gosling R.G. «Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate»).*

Сделанные ею снимки отличались особой чёткостью и подготовили почву для выводов о структуре ДНК, сделанных Д. Уотсоном и Ф. Криком. 1953 год считается датой становления новой биологической науки – молекулярной биологии. В свою очередь она заложила основу возникновения многих самостоятельных научных дисциплин – молекулярной генетики, цитогенетики, геной инженерии и др. Открытие структуры и механизма функционирования ДНК в качестве носителя наследственной информации явилось началом современного этапа в изучении нуклеиновых кислот.

## **1.2. Доказательства роли ДНК в хранении и передаче наследственной информации**

Нуклеиновые кислоты были открыты в XIX веке, однако долгое время их биологическая функция оставалась невыясненной. Существовало мнение, что нуклеиновые кислоты являются одной из форм депонирования фосфора в организме. Даже в начале XX века многие биологи считали, что ДНК не имеет никакого отношения к наследственности, полагая, что слишком простые по составу и строению молекулы ДНК не могут нести информацию о колоссальном разнообразии органического мира. Тем не менее, в научном мире возникали предположения о природе факторов наследственности. Наиболее вероятной в передаче наследственных признаков рассматривалась роль белков, поскольку взаимосвязь белков и признаков была очевидной. Обнаружение ДНК не только в клетках животных, но растений и бактерий способствовало более глубокому исследованию ее роли в обеспечении наследственности.

Начало исследований было положено в 1928 г. Английский врач, генетик **Фредерик Гриффит**, работая над созданием вакцины против пневмонии, провел серию экспериментов, в которых было обнаружено «трансформирующее начало» – фактор, который превращал (трансформировал) непатогенные штаммы пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) в патогенные штаммы при их совместном

культивировании.

Суть экспериментов Фредерика Гриффита заключалась в следующем (рис. 2). Он инфицировал мышей двумя штаммами пневмококков: первый штамм – патогенные пневмококки типа III-S (от англ. *smooth* – гладкий, так как этот штамм образует крупные гладкие колонии на питательной среде); второй штамм – непатогенные пневмококки типа II-R (от англ. *rough* – шероховатый, так как этот штамм на питательной среде образует мелкие шероховатые колонии). Бактерии типа III-S имеют полисахаридную капсулу, она обеспечивает их недоступность для факторов иммунной системы, а, следовательно, обуславливает их патогенность – у зараженных мышей развивается тяжелая пневмония с летальным исходом (рис. 2Б). Пневмококки штамма II-R не имеют защитной капсулы, а, следовательно, не способны вызвать пневмонию у лабораторных животных (рис. 2А).

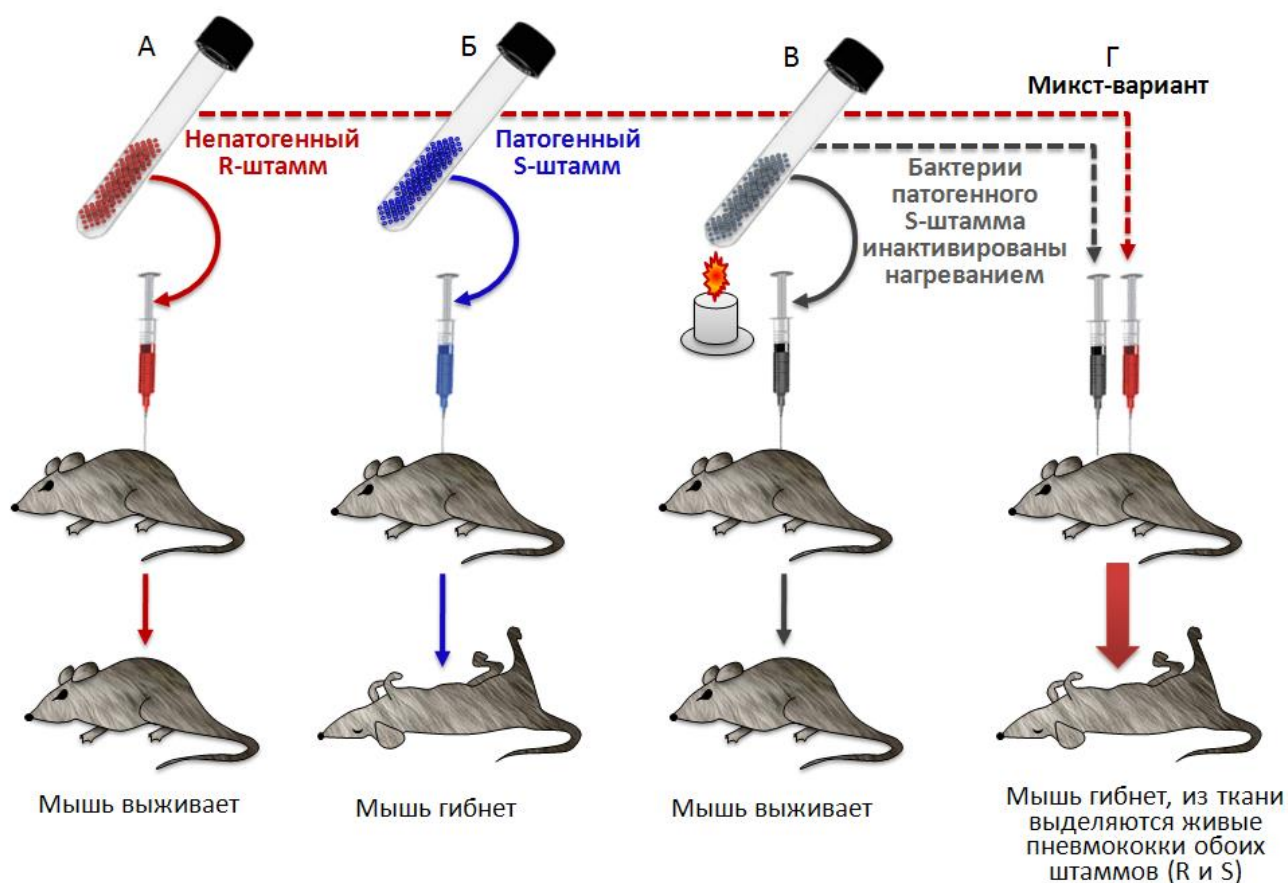


Рис. 2. Схема экспериментов Ф. Гриффита

В ходе эксперимента Гриффит инактивировал нагреванием бактерии патогенного штамма III-S и вводил их лабораторным животным. Инактивированные пневмококки III-S (рис. 2B), равно как и живые бактерии II-R (рис. 2A), не вызывали гибели мышей.

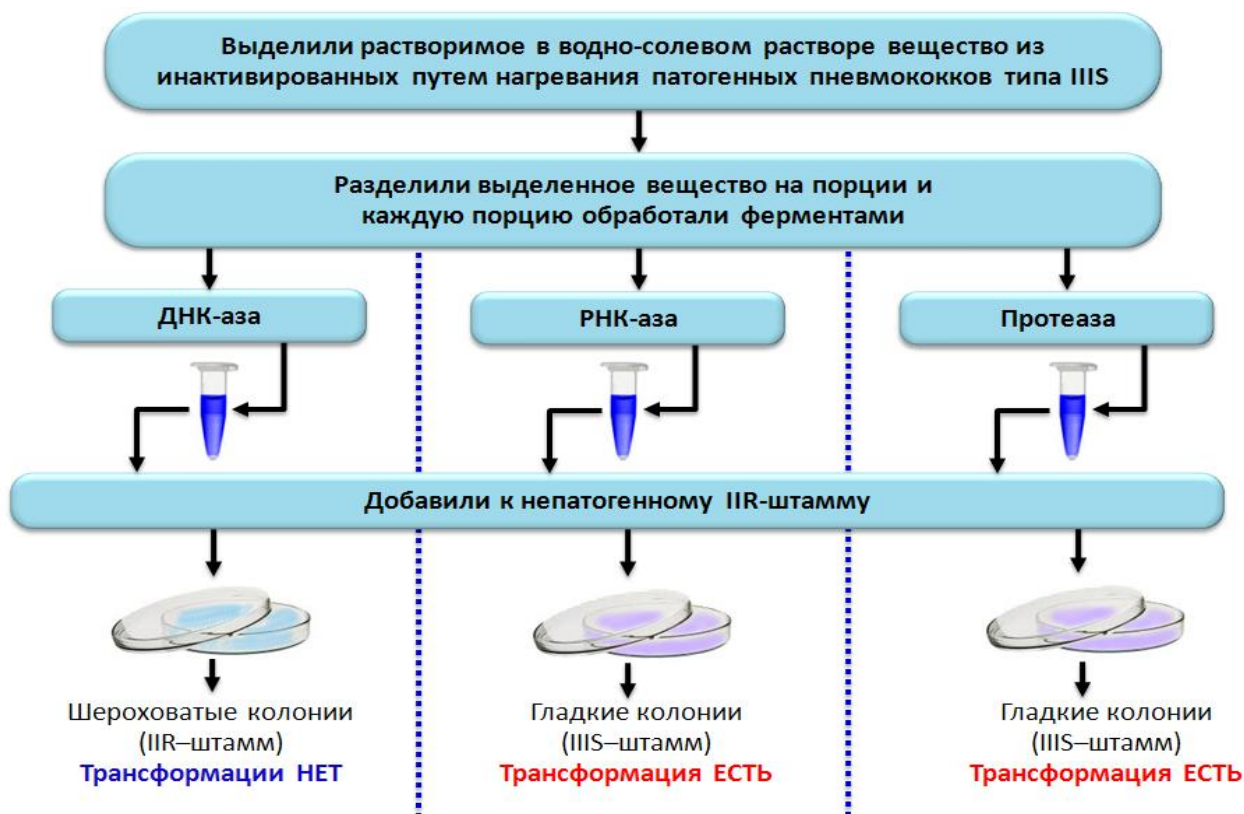
Неожиданным оказались результаты эксперимента, в ходе которого мышам была введена смесь инактивированных нагреванием патогенных пневмококков III-S и живых непатогенных пневмококков II-R – животные погибли в результате развившейся пневмонии, а в их организме были обнаружены живые пневмококки обоих типов (рис. 2Г).

В настоящее время известно, что «трансформирующим началом» в эксперименте Гриффита являлась ДНК штамма III-S. Нагревание убивало патогенные бактерии, однако их ДНК оставалась неповрежденной и в ходе эксперимента захватывалась бактериями штамма II-R. В этом и заключается суть явления трансформации – генетического изменения клеток в результате включения в их геном экзогенной ДНК. ДНК бактерий штамма III-S содержит гены, кодирующие компоненты, необходимые для синтеза полисахаридной оболочки. Бактерии штамма II-R, получившие эти гены, оказались способными синтезировать капсулу, а, следовательно, вызывали пневмонию у мышей.

Таким образом, Ф. Гриффит предположил, что существует некий «трансформирующий фактор», который заставляет пневмококков превращаться из одного штамма в другой – из непатогенного в патогенный. Точная природа «трансформирующего фактора» была установлена в экспериментах Освальда Эвери, Колина Маклеода и Маклина Маккарти в 1944 г. (рис. 3). В ходе их эксперимента пневмококки, образующие гладкие колонии (тип III-S), были инактивированы нагреванием. Из них была извлечена смесь активных компонентов, содержащих белки, нуклеиновые кислоты, липополисахариды. Смесь была добавлена к культуре непатогенных пневмококков. Для подтверждения того, что действующим началом трансформации является именно ДНК, но не РНК, белки или другие компоненты клет-



ки, ученые предварительно обработали смесь протеазами (трипсином и химотрипсином, разрушающими белки) и рибонуклеазой (разрушающей РНК), но эта обработка никак не повлияла на трансформирующие свойства – добавление соответствующих растворов к культуре непатогенных пневмококков типа II-R приводило к их



трансформации в патогенные штаммы III-S.

Рис. 3. Схема экспериментов О. Эвери, К. Маклеода и М. Маккарти

Лишь обработка ДНКазой, разрушающей ДНК, приводила к разрушению трансформирующего начала (рис. 3). Таким образом, было установлено, что действующим началом бактериальной трансформации является именно ДНК.

В начале 50-х годов XX века были опубликованы результаты нескольких экспериментов, доказавших, что у ДНК-содержащих вирусов, как и у бактерий, наследственная информация также заключена в ДНК (у РНК-содержащих вирусов генетическая информация записана в РНК). Один из экспериментов был выполнен в 1952 году

американскими учеными **Джошуа Ледербергом** и **Нортоном Циндером**, обнаружившими явление трансдукции – формы горизонтального переноса генов, при которой передача генетического материала от одной клетки к другой происходит с помощью вируса (в случае бактерий – бактериофага). В своём эксперименте они использовали два разных штамма бактерий *Salmonella typhimurium*, вызывающих тифоидную лихорадку у мышей. Бактерии штамма 2А имели мутацию  $H^-$ , блокирующую синтез аминокислоты гистидина, и поэтому нуждались в нем при культивировании. Штамм 22А имел мутацию  $T^-$ , блокирующую синтез триптофана, а, следовательно, не размножался в отсутствие этой аминокислоты в среде для культивирования. Кроме того, бактерии штамма 22А содержали в себе умеренный фаг Р22 в лизогенном (репрессированном) состоянии, при котором геном фага встраивается в ДНК бактерии, реплицируется вместе с ней, но процесс не сопровождается сборкой вирусных частиц и разрушением бактериальной клетки-хозяина. При переходе к продуктивной фазе жизненного цикла умеренный бактериофаг Р22, размножаясь в клетке бактерии *Salmonella typhimurium*, способен включать в свою ДНК небольшие фрагменты ДНК бактерии-хозяина. Заражая новые бактерии, вирус может передавать им эти фрагменты ДНК, принадлежащие бактерии, бывшей ранее его хозяином (явление трансдукции).

Для эксперимента была использована U-образная трубка, которая в изогнутой части была разделена бактериальным фильтром (рис. 4).

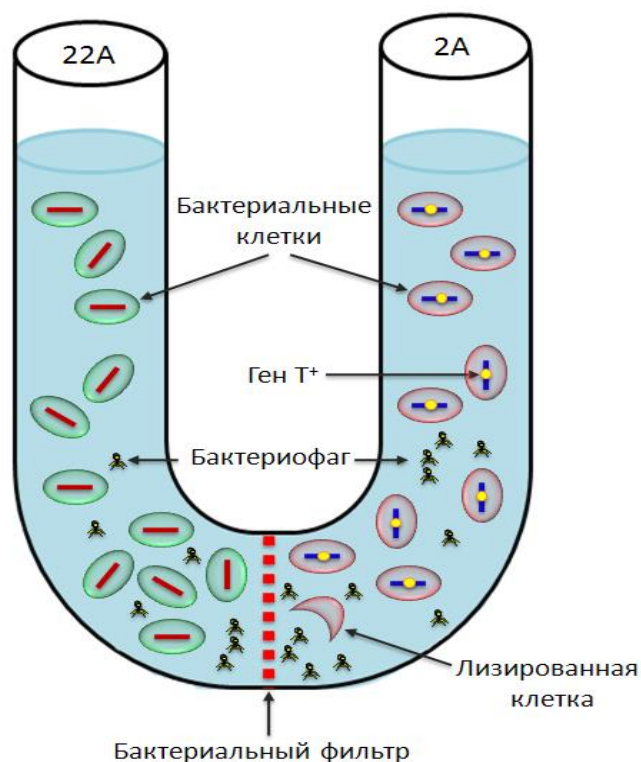


Рис. 4. Схема эксперимента Д. Ледерберга и Н. Циндера

Трубку заполняли питательной средой. В одну половину были помещены бактерии штамма 2А (с блоком синтеза гистидина, но способные синтезировать триптофан), а в другую – бактерии штамма 22А (с блоком синтеза триптофана, но содержащие фаг Р22). При этом бактериальные клетки не могли проникать сквозь бактериальный фильтр из одной части трубки в другую, а вирусные частицы свободно проходили через фильтр. После инкубации этих двух разных штаммов в трубке исследователи произвели рассев клеток обоих штаммов. При рассеве клеток штамма 22А на среде, лишённой триптофана, вопреки ожиданиям было обнаружено небольшое число колоний. Следовательно, некоторые клетки штамма 22А приобрели способность синтезировать триптофан и смогли развиваться в колонии на среде без этой аминокислоты. Это могло произойти только в том случае, если фаг, вышедший из клеток лизогенного штамма 22А, проник через фильтр, внедрился в некоторые клетки штамма 2А, лизировал их после своего размножения, захватив при этом фрагменты ДНК бактерий 2А с геном, отвечающим за синтез триптофана. Затем вирус инфицировал бактерии штамма 22А и передавал им фрагмент ДНК с геном, кодирующим ферменты синтеза аминокислоты триптофан и принадлежавшим ранее штамму 2А (явление трансдукции).

Другой эксперимент с использованием бактериофагов был проведён в 1952 году американскими генетиками **Алфредом Херши и Мартой Чейз**. Эксперимент проводился с использованием культуры кишечной палочки *Escherichia coli* и паразитирующего на ней ДНК-содержащего бактериофага Т2, структура которого к тому времени была выяснена с помощью электронного микроскопа. Было установлено, что бактериофаг состоит из белковой оболочки (капсида), внутри которой находится генетический материал – ДНК. Цель эксперимента заключалась в том, чтобы определить какой из элементов, белковый капсид или ДНК, вирус передает бактериальной клетке при ее инфицировании. На первом этапе необходимо было получить бактериофаги, помеченные радиоактивными маркерами – изотопом фос-



фора  $^{32}\text{P}$  (включается в состав ДНК) либо изотопом серы  $^{35}\text{S}$  (включается в состав белков капсида). Для этого в среды, на которых культивировались *E. coli* с бактериофагами, были добавлены соответствующие радиоактивные изотопы –  $^{35}\text{S}$  (рис. 5А) и  $^{32}\text{P}$  (рис. 5Б).

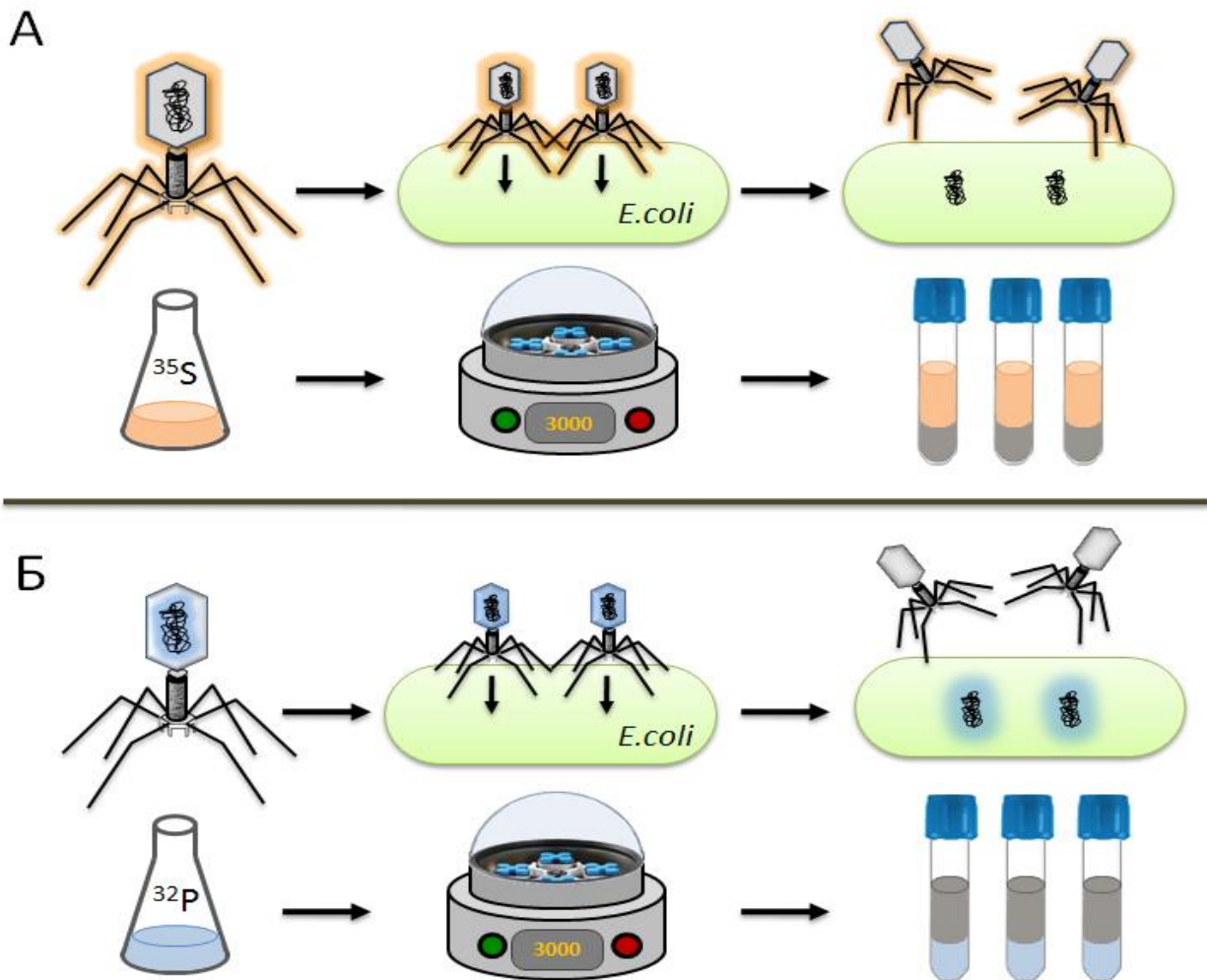


Рис. 5. Схема экспериментов А. Херши и М. Чейз

После выращивания и выделения радиоактивно-меченых бактериофагов их добавляли к чистой культуре *E. coli* и позволяли бактериофагам инфицировать бактерии. Через определенное время посредством резкого встряхивания проб оболочки фага отделяли от поверхности бактериальных клеток, растворы центрифугировали и определяли радиоактивность осадка (бактериальная фракция) и надосадочной жидкости (фаговая фракция). Оказалось, что в пробах с бактериофагами, помеченными серой  $^{35}\text{S}$ , радиоактивной была надосадоч-

ная жидкость, а в пробах с бактериофагами, помеченными фосфором  $^{32}\text{P}$ , – осадок. Это свидетельствовало о том, что материалом, которым бактериофаги инфицируют *E. coli*, является именно ДНК, а не белок. Проведенный эксперимент был признан одним из решающих доказательств того факта, что генетическая информация (информация о структуре белков) содержится именно в ДНК.

### 1.3. Химический состав и строение нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты представляют собой макромолекулы, образованные повторяющимися структурами – нуклеотидами (рис. 6). По химическому строению нуклеиновые кислоты могут различаться. Поэтому их разделяют на две группы – дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК).

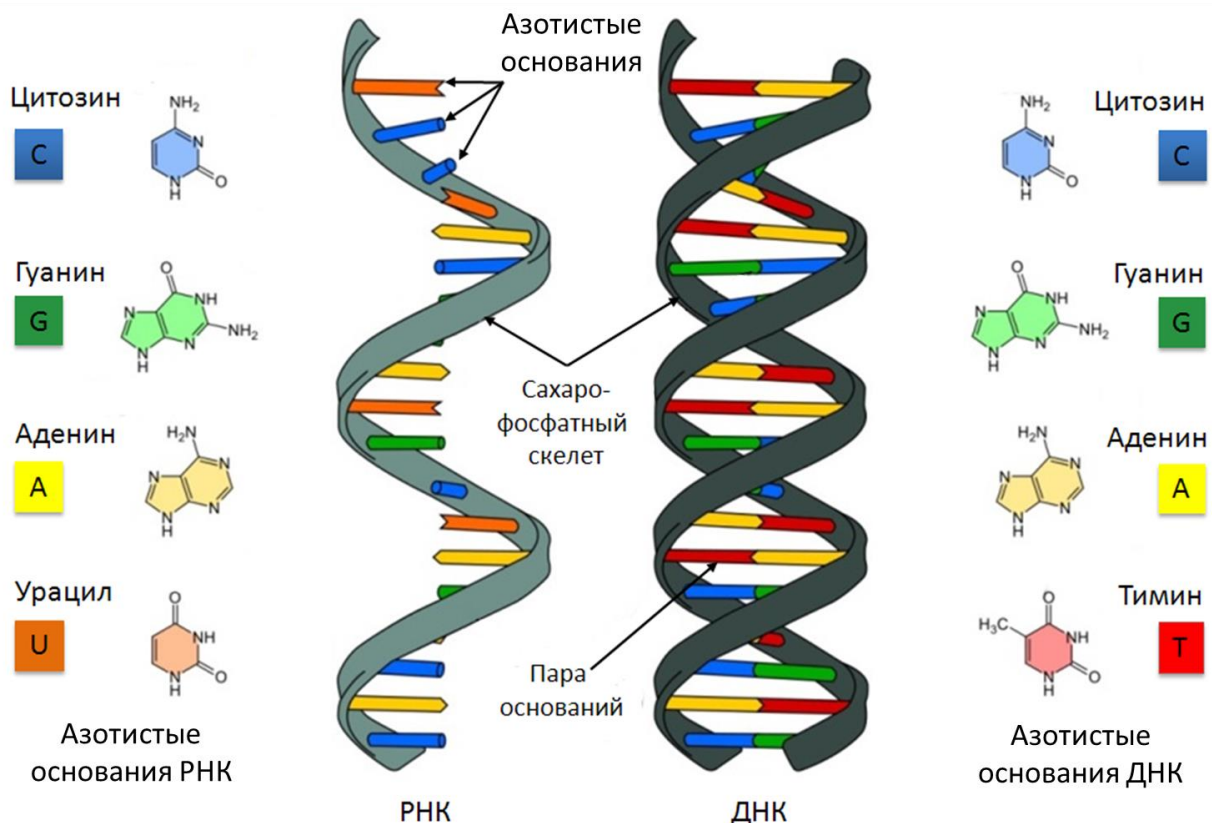


Рис 6. Строение нуклеиновых кислот

В состав нуклеотида входят три химических составляющих (рис. 7): циклическое азотистое основание (производное пурина или пири-

мидина); сахар (пентоза), включающий пять атомов углерода (С) и определенное число атомов водорода (Н) и кислорода (О); остаток фосфорной кислоты. В составе ДНК пентоза является дезоксирибозой, а в составе РНК – рибозой. Пятичленное кольцо сахара образовано четырьмя атомами углерода и одним атомом кислорода, пятый атом углерода включен в группу НО-СН<sub>2</sub>.

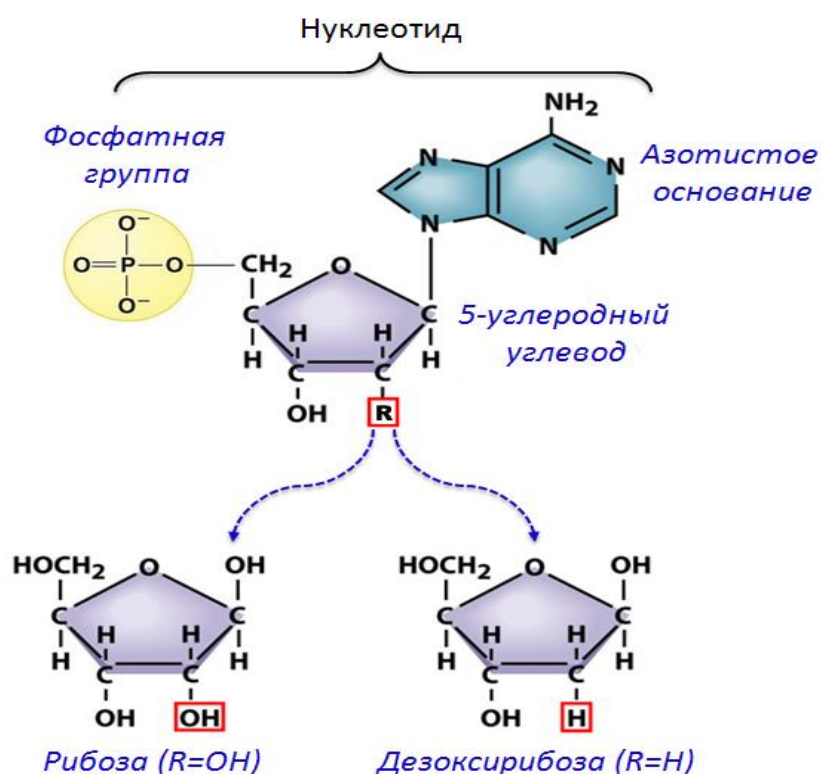


Рис. 7. Химический состав нуклеотида

Чтобы не допускать ошибок при нумерации атомов азотистых оснований и сахаров, положения атомов углерода в молекуле пентозы обозначены по порядку с номерами и штрихом от 1' до 5'. Следует отметить, что обозначение номеров атомов углерода и их расположение в кольце относительно азотистого основания (С-1'), ОН-группы (С-3') и остатка фосфорной кислоты (С-5') имеет важное значение, так как процессы транскрипции и трансляции с молекул нуклеиновых кислот происходят всегда в строго определенных направлениях, при этом атомы углерода в пентозе будут служить указателями направлений данных процессов. Так, например, присоединение новых нуклео-

тидов в процессе репликации в строящейся цепи ДНК происходит к 3'-концу, а направление репликации обозначается так: 5'→3' (см. раздел 1.4. Репликация ДНК)

Отличием рибозы от дезоксирибозы является то, что в рибозе С-2' атом имеет ОН-группу (рис. 7). В молекуле пентозы в составе ДНК к первому атому С-1' присоединено одно из четырех типов азотистых оснований: пуриновых (аденин (А) и гуанин (Г)) и пиримидиновых (тимин (Т) и цитозин (Ц)). В состав молекулы РНК вместо тимина (Т) входит урацил (У).

Пиримидины (тимин, цитозин и урацил) включают в себя шестичленное кольцо, два атома азота и четыре атома углерода. Все атомы нумеруются от 1 до 6. Цитозин отличается от тимина группами, присоединенными к углероду во 2-м и 6-м положениях. Пурины (аденин и гуанин) представляют собой сложные гетероциклические соединения в составе с пиримидином и имидазолом, с четырьмя атомами азота и пятью атомами углерода. Атомы в составе гетероцикла имеют нумерацию от 1 до 9. Аденин отличается от гуанина группами во 2-м и 6-м положении углерода (рис. 8).

#### Пиримидиновые азотистые основания



#### Пуриновые азотистые основания

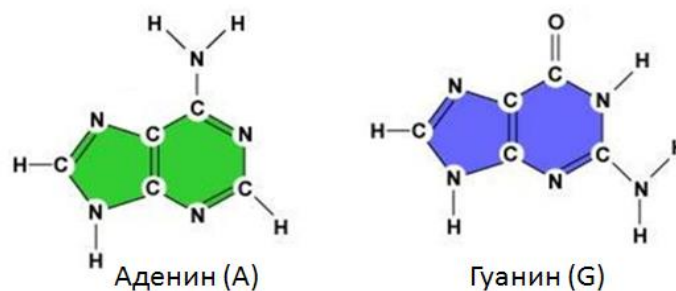


Рис. 8. Пиримидиновые и пуриновые азотистые основания, входящие в

Некоторые нуклеиновые кислоты в своем составе помимо традиционных (А, Г, Т, Ц и У) содержат в небольших количествах и другие азотистые основания, которые называются минорными. Минорные основания – необычные и метилированные формы обычных азотистых оснований (рис. 9). К примеру, количество минорных оснований достаточно высоко в транспортной РНК – до 10 % от всех нуклеотидов.

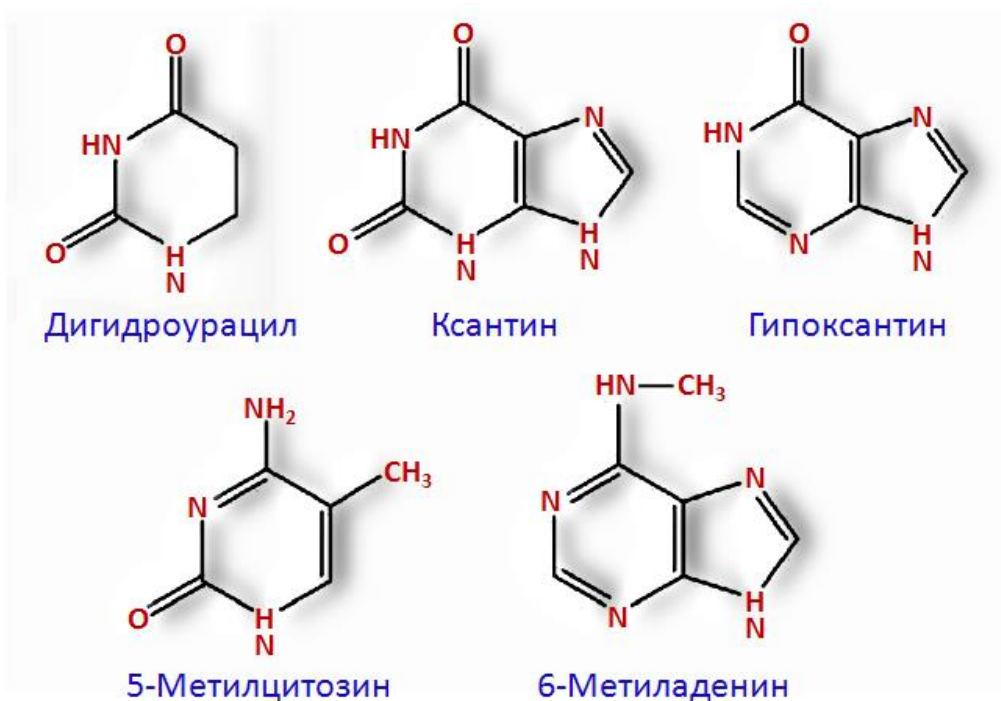


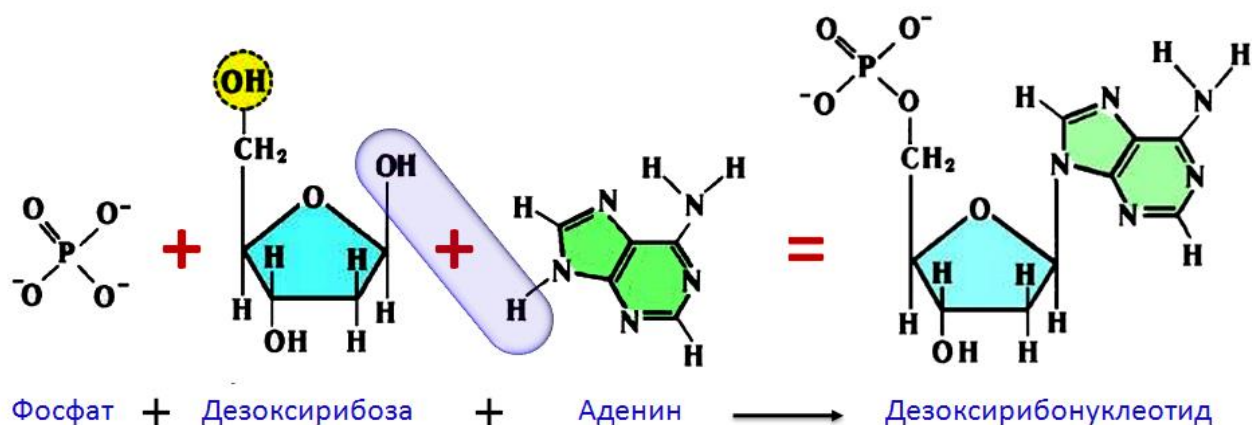
Рис. 9. Минорные азотистые основания, обнаруженные в структуре нуклеиновых кислот

Соединения пуринов (А или Г) и пиримидинов (Ц, Т или У) с остатком сахара формируют структуру «нуклеозид». После присоединения к нуклеозиду фосфатной группы образуется нуклеотид (или нуклеозид-монофосфат), который содержит азотистое основание, сахар и фосфатную группу. Фосфатная группа соединяется с нуклеозидом в положении 5', заменяя ОН-группу в дезоксирибозе.

Соединение нуклеотидов в полимерные макромолекулы нуклеиновых кислот осуществляется посредством взаимодействия гидроксила пентозы одного нуклеотида с фосфатом другого нуклеотида. Та-



ким образом, формируется фосфодиэфирная связь между двумя нуклеотидами с последовательным образованием полинуклеотидной цепи и сахарофосфатного остова молекулы ДНК (рис. 10).



*Рис. 10. Образование дезоксирибонуклеотида путем соединения азотистого основания дезоксирибозы и фосфата*

Для полинуклеотидной цепи характерно наличие 5' и 3'-концов. Синтез цепей происходит при помощи фермента ДНК-полимеразы – основного фермента репликации (см. раздел 1.4. Репликация ДНК). Фермент присоединяет фосфатную группу одного нуклеотида к ОН-группе в 3'-положении предыдущего нуклеотида. Благодаря такому свойству ДНК-полимеразы, рост полинуклеотидной цепи идет только на одном конце со свободным гидроксилом в 3'-положении, а для начала цепи всегда характерно наличие в 5'-положении фосфатной группы.

Молекула ДНК имеет сложное строение – различают первичную, вторичную и третичную структуры. Для первичной структуры ДНК характерна линейная последовательность нуклеотидов в цепи с аperiodическим строением. Порядок и постоянство всех четырех нуклеотидов в молекуле ДНК характеризует сложность и разнообразие генетической информации для каждого вида организмов.

Вторичная структура ДНК представляет собой две комплементарные и антипараллельные друг другу полинуклеотидные цепи, соединенные водородными связями, и закрученные в спираль. Сахаро-

фосфатный остов расположен снаружи и заряжен отрицательно, азотистые основания находятся внутри спирали и располагаются стопкой друг над другом. Диаметр двойной спирали у правозакрученной ДНК составляет примерно 2 нм, один шаг (поворот) спирали – 3,4 нм. На один виток спирали приходится 10 пар оснований, а расстояние между нуклеотидами равно 0,34 нм (рис. 11).

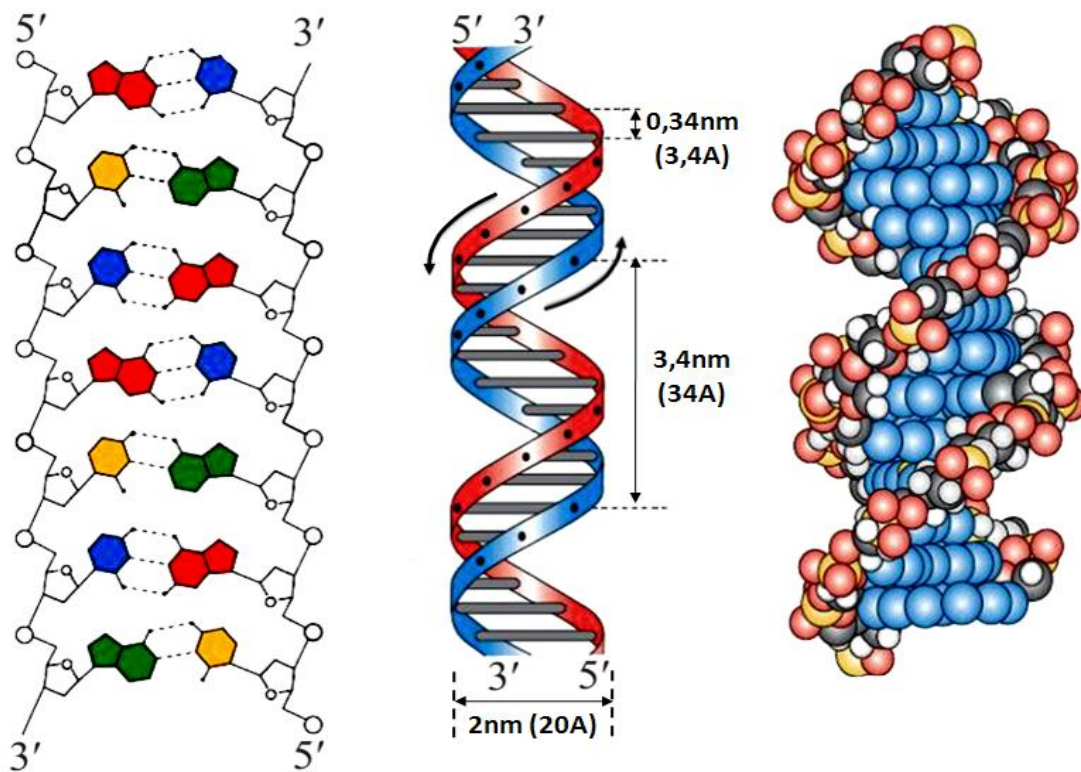


Рис. 11. Вторичная структура ДНК

В соответствии с **правилами Чаргаффа**:

- количество пуриновых оснований (А + Г) в молекуле ДНК равно количеству пиримидиновых оснований (Т + Ц);
- количество аденина равно количеству тимина (А = Т, А/Т = 1); количество гуанина равно количеству цитозина (Г = Ц, Г/Ц = 1);
- соотношение количества гуанина и цитозина в ДНК к количеству аденина и тимина является постоянным для каждого вида живых организмов и определяет коэффициент специфичности  $K = (Г + Ц) / (А + Т)$ . У высших растений и животных он меньше 1 и колеблется незначительно от 0,54 до 0,98 (АТ-тип ДНК); у микроорганиз-

мов он больше 1 (ГЦ-тип ДНК).

К химическим связям, которые стабилизируют вторичную структуру ДНК, относятся водородные связи между комплементарными азотистыми основаниями (двойная между А и Т, тройная между Г и Ц), а также стэкинг-взаимодействия, возникающие между плоскими азотистыми основаниями за счет перекрывания р-орбиталей атомов ароматических колец азотистых оснований, расположенных стопкой друг над другом.

В зависимости от концентрации ионов и нуклеотидного состава молекулы, двойная спираль ДНК в живых клетках может существовать в разных формах. Исследования рентгеновской дифракции молекул ДНК показали, что количество оснований в витках закрученной направо спирали может составлять не только 10, как у В-формы, но и 11, и 9,3 основания. Эти формы спиралей получили название А- и С-форм. Установлено также, что в молекулах ДНК встречаются районы, цепи в которых закручены налево. Эти районы получили название Z-форм (рис. 12).

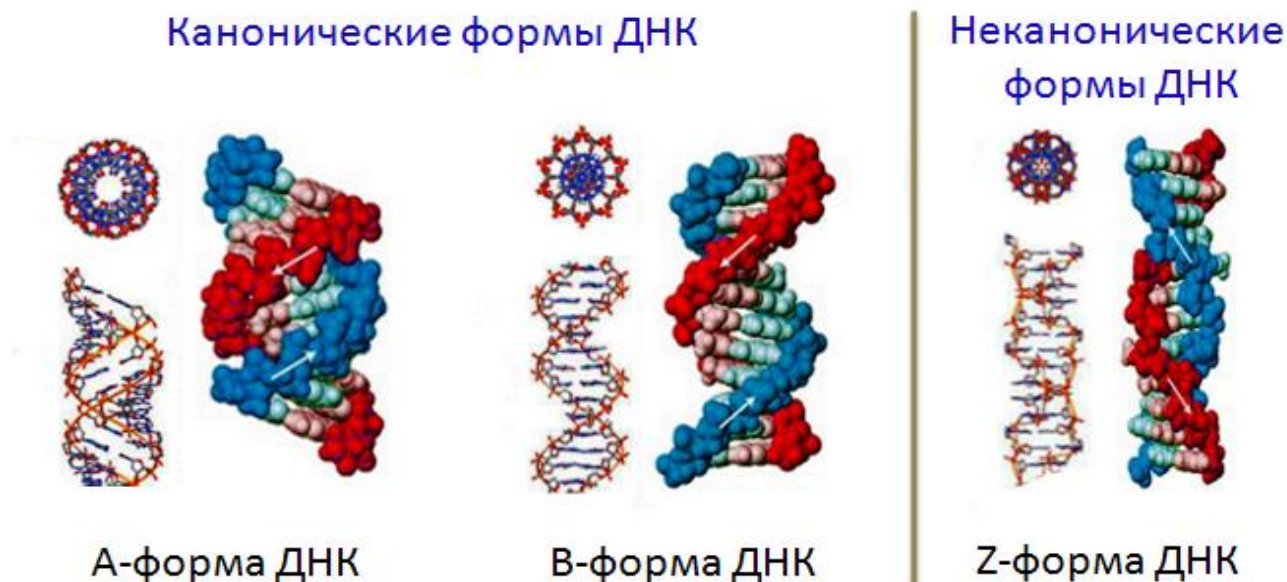


Рис. 12. Две правозакрученные формы ДНК (А и В) и одна левозакрученная Z-форма



Большинство молекул ДНК представляют собой линейные последовательности, но иногда могут быть замкнуты в кольцо. Кольцевые ДНК встречаются у бактерий, вирусов, а также в эукариотических клетках в составе митохондрий и пластид.

Третьичная структура ДНК – это трехмерная структура с пространственными характеристиками, обусловленными вариантами компактизации и суперспирализации молекулы в процессе образования хромосом при участии белков (гистоновых и негистоновых).

## 1.4. Репликация ДНК

**Репликация (от лат. *replicatio* – возобновление) – это молекулярный механизм точного самокопирования молекулы ДНК – процесс создания (синтеза) двух дочерних молекул на основе родительской молекулы.** Молекула ДНК состоит из двух комплементарных друг другу цепей, образующих двойную спираль. В процессе репликации цепи материнской молекулы ДНК расходятся, и на каждой из них строится новая комплементарная цепь. В результате из одной двойной спирали образуется две, идентичные исходной. Биологический смысл репликации ДНК заключается в том, чтобы копировать генетическую информацию для переноса ее следующему поколению клеток. Процесс синтеза ДНК сопровождается множеством событий и является, как правило, очень точным и последовательным. Это становится возможным благодаря структурным особенностям молекулы ДНК: двухцепочечная структура, свойства комплементарности и антипараллельности.

После открытия структуры ДНК научным сообществом были предложены как минимум три модели репликации: консервативная, дисперсионная и полуконсервативная. Позднее экспериментальное подтверждение получил именно полуконсервативный способ репликации ДНК.

В консервативной модели исходная молекула ДНК является матрицей для синтеза новой двухцепочечной молекулы. Результатом репликации являются две молекулы ДНК, одна из которых сохраня-

ется в исходном (неизменном) виде, а вторая состоит из двух вновь синтезированных цепей (рис. 13).

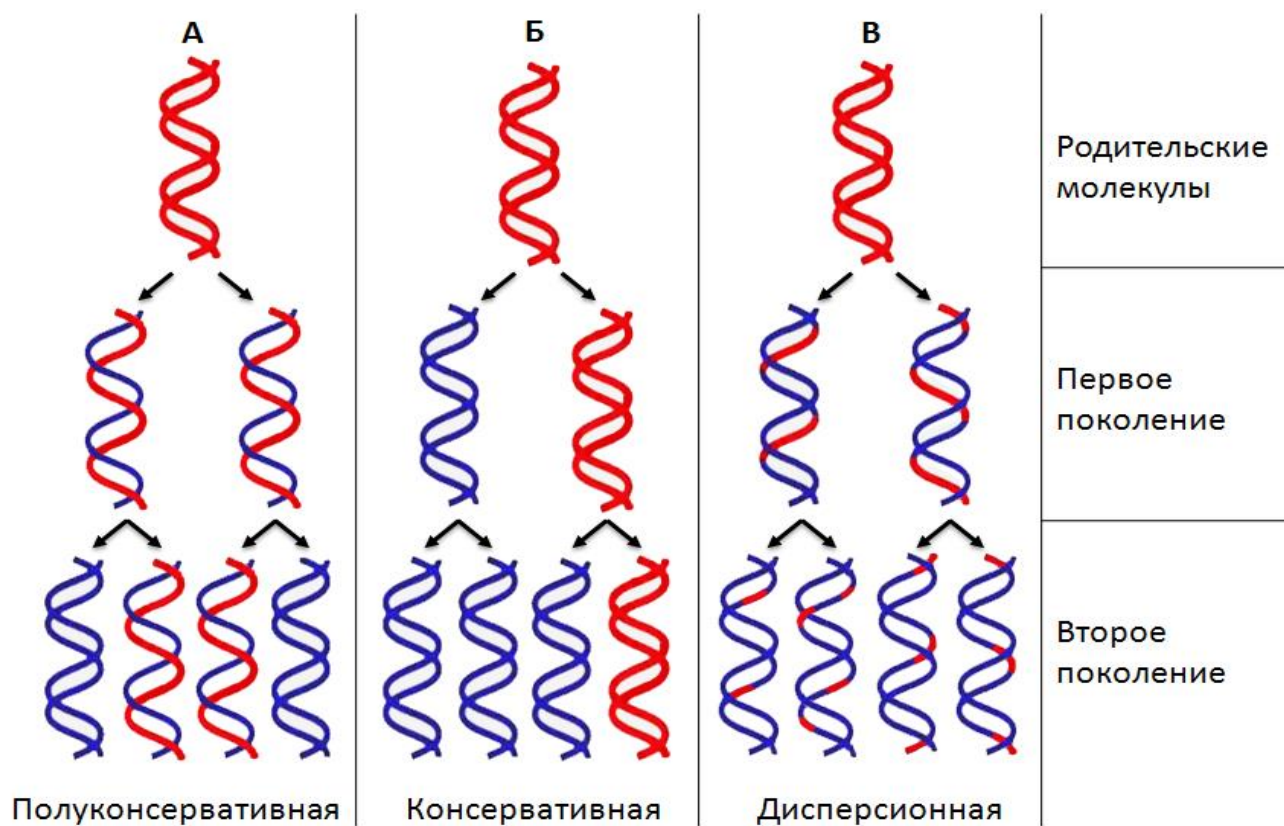


Рис. 13. Модели репликации ДНК: А – полуконсервативная, Б – консервативная, В – дисперсионная (родительские цепи изображены красным цветом, а синтезированные (дочерние) – синим цветом)

В дисперсионной модели результатом репликации являются две молекулы ДНК, каждая из которых представляет собой смесь или «гибрид» из частей родительской и дочерней (вновь синтезированной) ДНК. Полуконсервативная модель репликации предполагала то, что в процессе самоудвоения две нити исходной молекулы ДНК раскручиваются и отсоединяются друг от друга. Далее каждая из них выступает в качестве матрицы для синтеза новой комплементарной цепи. В результате получают две молекулы ДНК, каждая из которых содержит одну исходную и одну вновь синтезированную цепь. Следует отметить, что после второго этапа репликации две молекулы ДНК состоят уже только из нового материала, тогда как две других

содержат старую и новую цепи.

В 1958 году американские генетики и молекулярные биологи **Мэтью Мезельсон и Франклин Сталь**, исследуя механизмы репликации ДНК, поставили один из самых подробных и ярких биологических экспериментов, доказывающих полуконсервативный способ репликации ДНК. Для определения способа репликации ДНК необходимо было четко различать материнские и дочерние молекулы. В качестве такого маркера М. Мезельсон и Ф. Сталь использовали радиоактивный тяжелый изотоп азота  $^{15}\text{N}$ . Для включения метки в состав ДНК ученые выращивали бактерии кишечной палочки на среде, содержащей  $^{15}\text{N}$  в качестве основного источника азота. Молекула ДНК содержит большое количество атомов азота, и при удвоении ДНК азот для новых цепей берется из внешней среды. Таким образом, тяжелый изотоп азота  $^{15}\text{N}$  включался в состав молекулы ДНК и служил надежной меткой. Для того чтобы пометить практически всю бактериальную ДНК, необходимо было культивировать *E. coli* на такой среде в течение как минимум 12 поколений. После завершения культивирования бактерии быстро переносили на среду, содержащую более легкий изотоп азота  $^{14}\text{N}$ , и позволяли бактериям расти на такой

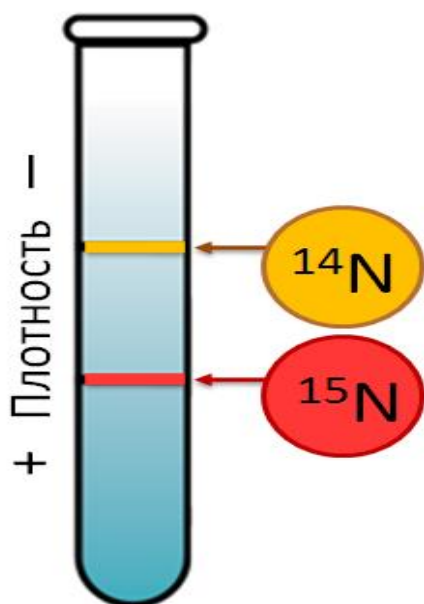


Рис. 14. Центрифугирование в градиенте плотности

среде еще в течение нескольких поколений. При этом ДНК, синтезированная после смены питательной среды, должна была включать в себя только  $^{14}\text{N}$ , поскольку в новой среде он был единственным доступным азотом. Зная с какой скоростью делятся клетки *E. coli*, можно отбирать небольшие образцы бактерий, выделять из них ДНК и изучать её свойства у каждого последующего поколения кишечной палочки. Для изучения свойств выделенной ДНК М. Мезельсон и Ф. Сталь использовали метод центрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия ( $\text{CsCl}$ ) (рис. 14).

Этот метод позволяет разделить молекулы ДНК на легкие и тяжелые в зависимости от содержания в них легкого и тяжелого изотопов азота  $^{14}\text{N}$  и  $^{15}\text{N}$ . Масса нуклеотидов молекулы ДНК, содержащих  $^{15}\text{N}$ , больше, чем у обычной молекулы, содержащей  $^{14}\text{N}$ , а, значит, они будут отличаться по своей плавучей плотности. Так, ДНК бактериальных клеток, выращенных на среде с  $^{15}\text{N}$ , имела плотность  $1,724 \text{ г/см}^3$ , а ДНК клеток, выращенных на среде с  $^{14}\text{N}$  –  $1,710 \text{ г/см}^3$ .

После переноса культуры *E. coli* с одной среды на другую через каждое поколение М. Мезельсон и Ф. Сталь отбирали пробы (рис. 15). Контролем служила бактериальная культура, содержащаяся на среде с  $^{15}\text{N}$ .

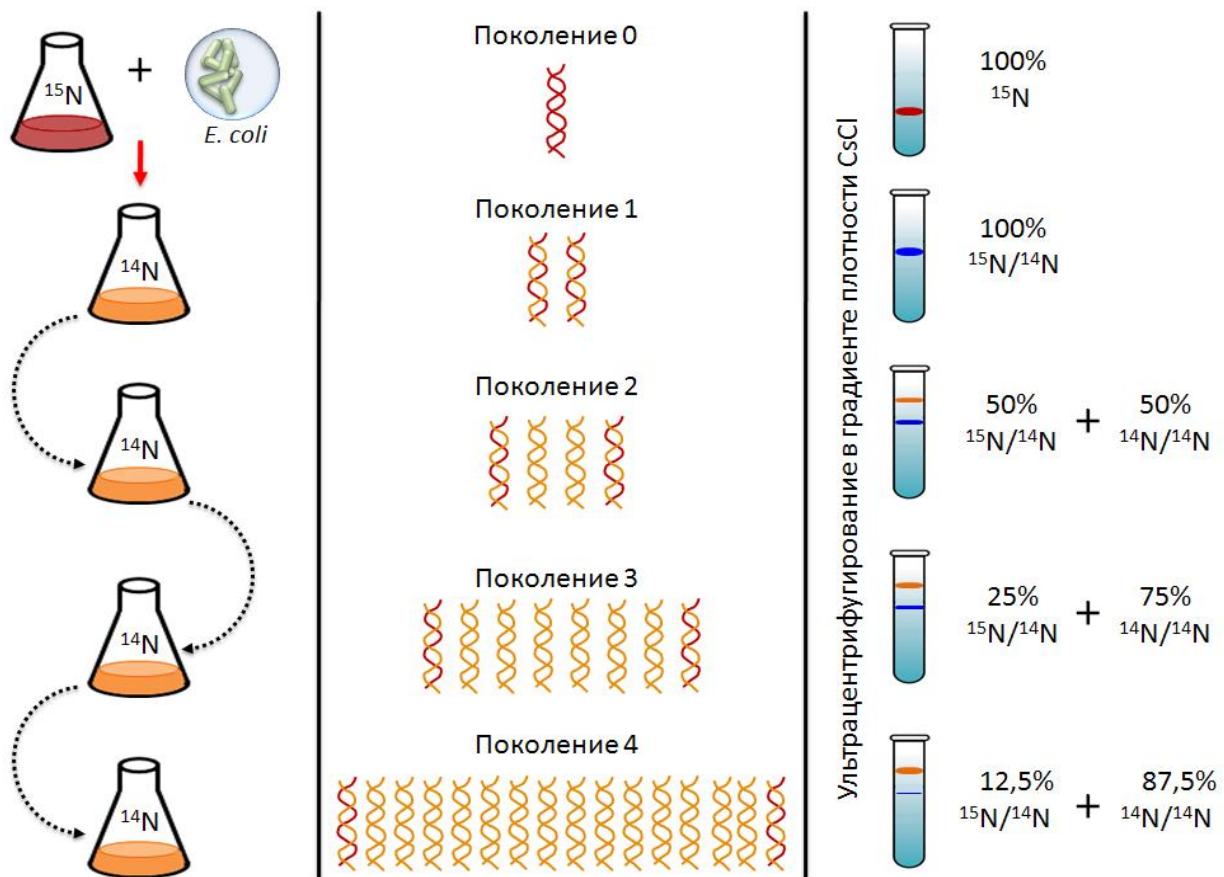


Рис. 15. Схема экспериментов М. Мезельсона и Ф. Сталя.

Из каждой пробы бактериальных клеток путем центрифугирования извлекали ДНК. После этого ее смешивали с раствором хлористого цезия плотностью  $1,7 \text{ г/см}^3$  и снова центрифугировали на очень высокой скорости в течение нескольких дней. В результате осажде-

ния молекул CsCl его раствор приобретал градиент плотности от 1,65 г/см<sup>3</sup> в верхней части пробирки до 1,8 г/см<sup>3</sup> у ее дна. В соответствии с этим, молекулы ДНК концентрировались в строго определенной области: в верхней части, в центре или у дна пробирки. Локализация ДНК устанавливалась на спектрофотометре, поскольку было известно, что она поглощает лучи с длиной волны 260 нм. Таким образом, определяя плотность ДНК в каждой из проб, М. Мезельсон и Ф. Сталь обнаружили, что спустя одно поколение после переноса культуры *E. coli* со среды с <sup>15</sup>N на среду с <sup>14</sup>N плотность всей ДНК оказалась промежуточной (<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-ДНК). Выявленная промежуточная фракция стала для М. Мезельсона и Ф. Сталя свидетельством того, что молекулы ДНК, полученные на первом этапе репликации, являются гибридом легкой и тяжелой ДНК. Данный результат соответствовал дисперсионной и полуконсервативной моделям, но не соответствовал консервативной модели. Консервативная модель предсказала бы две отдельные фракции в этом поколении: фракция для тяжелой исходной молекулы ДНК и фракция для легкой новой молекулы ДНК. Таким образом, консервативная модель репликации не нашла подтверждения. Спустя два поколения после переноса культуры *E. coli* со среды с <sup>15</sup>N на среду с <sup>14</sup>N только половина (50%) ДНК была промежуточной плотности (<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-ДНК), а другая половина бактериальных клеток содержала ДНК с легким изотопом азота (<sup>14</sup>N). Данный результат позволил М. Мезельсону и Ф. Сталю определить, какая из оставшихся моделей (полуконсервативная или дисперсионная) была действительно правильной – соотношение между числом генераций и распределением плотности ДНК точно соответствовало полуконсервативному типу репликации, но не дисперсионному. Это подтверждалось и для последующих генераций *E. coli*. Через три поколения на среде с <sup>14</sup>N 75% ДНК была легкой, и только 25% – с промежуточной плотностью (<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-ДНК). Таким образом, в третьем и последующих поколениях гибридная (промежуточная) фракция становилась всё более узкой (поскольку она представляла меньшую долю всей ДНК), а вторая фракция становилась всё шире (так как она представляла всё большую долю) (рис. 15).

Репликация ДНК – ключевое событие в ходе деления клетки. Важно чтобы к моменту деления клетки ДНК была реплицирована полностью и при этом только один раз. Это обеспечивается определёнными механизмами регуляции и координированной работой ряда ферментов репликации (табл. 1).

Таблица 1. Ферменты репликации и их функции

Название фермента	Функции фермента
ДНК-топоизомераза (или гиразы)	Топоизомераза I типа вносит одноцепочечные разрывы в ДНК без затраты энергии; топоизомераза II типа вносит двухцепочечные разрывы в ДНК с затратой энергии.
ДНК-хеликаза (или геликаза)	Разрушает внутри- или межмолекулярные водородные связи между основаниями нуклеиновых кислот
ДНК-праймаза (или РНК-полимераза)	Синтезирует короткий фрагмент РНК (праймер), комплементарный одноцепочечной матрице ДНК; совместно с хеликазой образует комплекс – праймосому.
ДНК-полимераза	<b>У прокариот:</b> ДНК-полимераза III осуществляет полимеризацию ДНК (основной синтезирующий фермент); ДНК-полимеразы I и II являются вспомогательными ферментами, участвующими в процессах исправления ошибок в ДНК (репарации). <b>У эукариот:</b> ДНК-полимераза $\alpha$ (альфа) выступает сначала в роли праймазы, синтезируя РНК-праймер, а затем как обычная ДНК-полимераза присоединяет к этому праймеру дезоксирибонуклеотиды. После того, как длина цепочки достигнет около 20 нуклеотидов, к синтезу приступают ДНК-полимеразы $\delta$ (дельта) и $\epsilon$ (эпсилон). ДНК-полимераза $\delta$ – основная высокопроизводительная полимеразы эукариот, обладает также 3'-5'-экзонуклеазным действием (участвует в репарации ДНК). ДНК-полимераза $\beta$ (бета) задействована в восстановлении ДНК. ДНК-полимераза $\gamma$ (гамма) осуществляет репликацию митохондриальной ДНК.
ДНК-лигаза	Производит «сшивание» двух соседних фрагментов Оказаки.



С помощью специальных ферментов двойная спираль материнской ДНК расплетается на две нити, на каждой образовавшейся нити достраивается вторая нить, образуя две идентичных дочерних молекулы ДНК, которые затем скручиваются в отдельные спирали.

Ключевые характеристики процесса репликации:

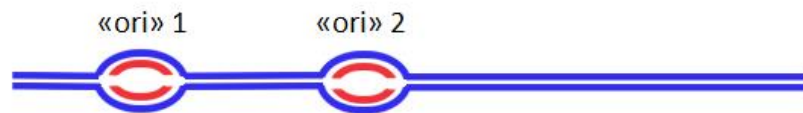
- матричный: последовательность синтезируемой цепи ДНК однозначно определяется последовательностью материнской цепи в соответствии с принципом комплементарности;
- полуконсервативный: одна цепь молекулы ДНК, образовавшейся в результате репликации, является вновь синтезированной, а вторая – материнской;
- однонаправленный: синтез осуществляется только в направлении  $5' \rightarrow 3'$ , т.е. присоединение новых нуклеотидов осуществляется исключительно к  $3'$ -концу строящейся цепи;
- полунепрерывный: одна из цепей ДНК синтезируется непрерывно (лидирующая цепь), а вторая – в виде набора отдельных коротких фрагментов Оказаки (отстающая цепь);
- инициированный: репликация начинается с определённых участков ДНК (сайты инициации репликации – точки *ori*), и исключительно в присутствии праймера (затравки).

Процесс репликации проходит в три этапа: **инициация (начало синтеза), элонгация (удлинение цепи), терминация (окончание синтеза).**

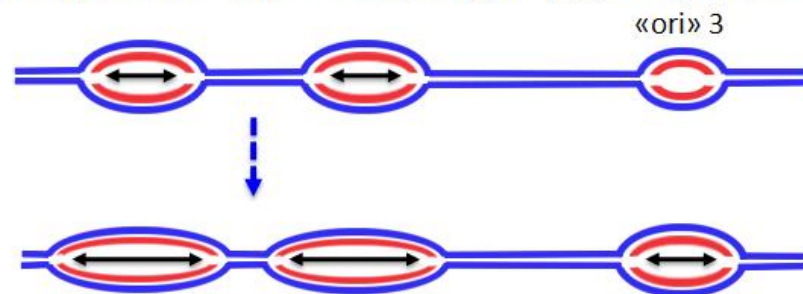
Репликация может начинаться только со строго определённого участка (сайт инициации репликации). Точка начала репликации носит название «точка *ori*» (от англ. *origin* – начало). Она представлена специфичной последовательностью нуклеотидов с высокой концентрацией пар азотистых оснований аденина и тимина (АТ-богатый участок). Участок ДНК, который содержит точку *ori* и способен к независимой репликации, называется репликон. Иными словами, репликон – это участок ДНК, который содержит сайт инициации репликации и реплицируется после начала синтеза ДНК с этого сайта. Геномы бактерий ввиду своего небольшого размера, как правило, представляют собой один репликон – монорепликонная репликация. В

бактериальных клетках помимо хромосомной ДНК часто содержатся плазмиды (небольшие кольцевые молекулы ДНК), которые представляют собой отдельные репликоны. Крупные геномы эукариот состоят из большого числа самостоятельных репликонов – полирепликонная репликация (рис. 16).

1. В каждой точке «ori» образуется «глазок» репликации



2. В каждом «глазке» репликация идет в двух направлениях



3. Сливание соседних участков репликации между собой



4. Образование двух новых идентичных молекул ДНК



Рис. 16. Схема полирепликонной репликации

Репликация начинается в сайте инициации с раскручивания двойной спирали ДНК, при этом формируется репликационная (репликативная) вилка – место непосредственной репликации ДНК. В каждом сайте может формироваться одна или две репликационные вилки в зависимости от того, является ли репликация одно- или двунаправленной. Более распространена двунаправленная репликация. При инициации репликации фермент ДНК-топоизомераза (ДНК-гираза) определяет точку ori, осуществляет гидролиз одной фосфодиэфирной связи и обеспечивает возможность компонентам реплика-



тивной системы разомкнуть нити исходной ДНК (рис. 17).

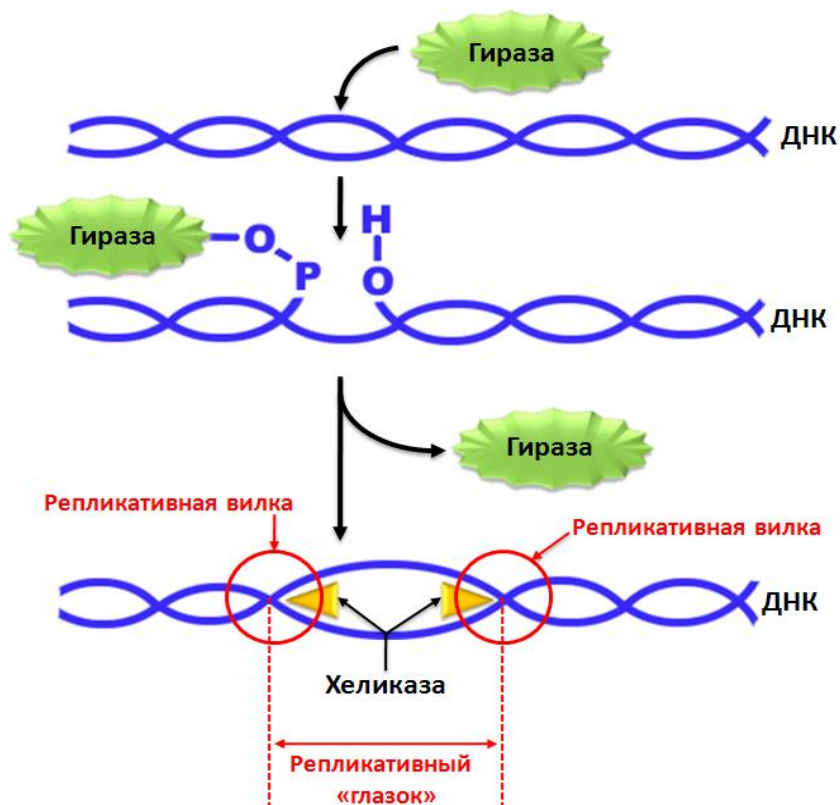


Рис. 17. Инициация репликации

Далее образуется репликационная вилка и ДНК-гираза вновь соединяет связи между мононуклеотидами. В дальнейшем в процессе репликации фермент топоизомераза облегчает расплетание цепей материнской ДНК в области репликативных вилок, а также способствует релаксации сверхспирализованных участков материнской молекулы ДНК путём внесения одно- или двухцепочечных разрывов с последующим восстановлением (лигированием). В области репликативных вилок фермент ДНК-хеликаза гидролизует водородные связи между цепями ДНК – образуется «репликативный глазок» (рис. 17).

При этом ДНК-связывающие белки (SSB-белки, от англ. *single strand binding* – связывающиеся с одной нитью) стабилизируют репликационную вилку, препятствуя восстановлению водородных связей между комплементарными нуклеотидами.

Основной фермент репликации ДНК-полимераза не может

начать синтез дочерней цепи без иницирующего (затравочного) фрагмента. В качестве такого фрагмента выступает РНК-праймер (затравка) – короткий одноцепочечный олигонуклеотид, синтезируемый ферментом ДНК-праймазой (ДНК-зависимая РНК-полимераза) и состоящий, как правило, из 40–50 рибонуклеотидов. РНК-праймер антипараллельно и комплементарно соединяется с матрицей, таким образом, ДНК-полимераза начинает присоединение дезоксирибонуклеотидов к его 3'-концу на лидирующей и на отстающей нити ДНК – этап элонгации цепи (рис. 18).

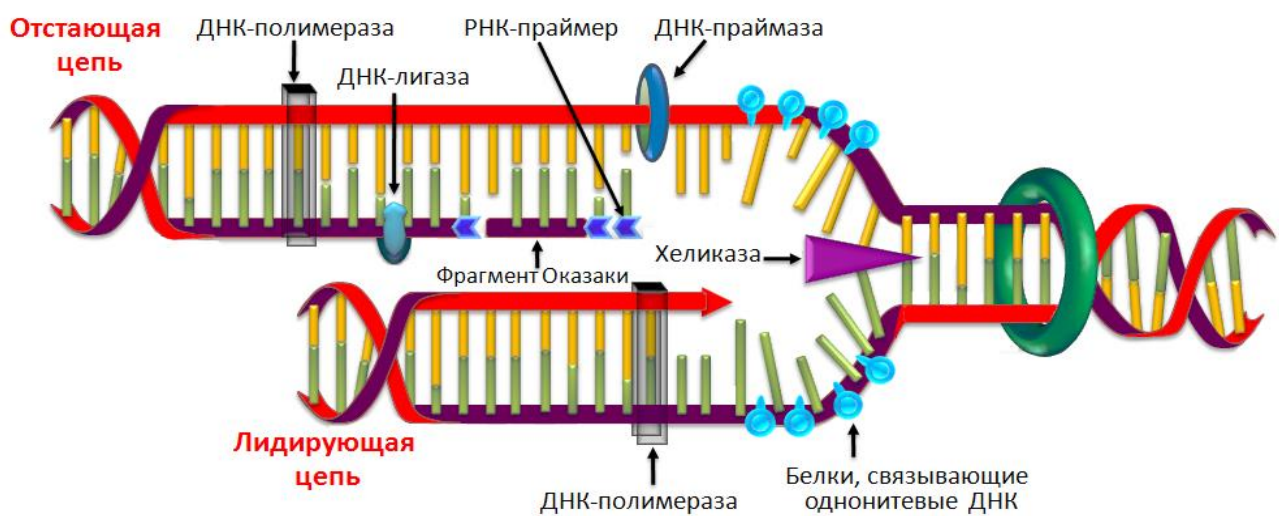


Рис. 18. Схема репликационной вилки

Так как цепи ДНК антипараллельны, а синтез новой цепи возможен только в направлении  $5' \rightarrow 3'$ , то в репликационной вилке дочерние цепи будут синтезироваться в разных направлениях. На матрице  $3' \rightarrow 5'$  сборка новой полинуклеотидной последовательности происходит непрерывно, так как эта цепь синтезируется именно в направлении  $5' \rightarrow 3'$ . Антипараллельная матрица характеризуется  $5' \rightarrow 3'$  направлением, поэтому синтез дочерней цепи по ходу движения вилки здесь невозможен. Здесь он был бы  $3' \rightarrow 5'$ , но ДНК-полимераза не может присоединиться к 5'-концу. Поэтому синтез на матрице запаздывающей цепи  $5' \rightarrow 3'$  выполняется небольшими участками – фрагментами Оказаки (названы в честь ученых R. Okazaki и T. Okazaki, описавших их в 1968 году).

Длина фрагментов Оказаки у прокариот составляет 1000–2000, а у эукариот – 100–200 нуклеотидов. Каждый фрагмент синтезируется в направлении, обратном движению образования репликационной вилки, что обеспечивает соблюдение правила сборки от 5'- к 3'- концу (рис. 18). Непрерывная сборка идет быстрее, чем фрагментарная. Поэтому одна из дочерних цепей ДНК называется лидирующей (ведущей), а вторая – отстающей (запаздывающей). У прокариот репликация протекает быстрее – репликационная вилка движется со скоростью порядка 100 000 пар нуклеотидов в минуту; у эукариот – примерно в 500–5000 нуклеотидов в минуту. Частота ошибок репликации невелика и составляет не более одной ошибки на  $10^9$ – $10^{10}$  нуклеотидов. Правильность репликации обеспечивается точным соответствием комплементарных пар оснований и активностью отдельных видов ДНК-полимераз, способных распознать и исправить возможную ошибку благодаря их 3'-5'-экзонуклеазной активности (табл. 1).

Завершение репликации (терминация) заключается в удалении РНК-праймеров, заполнении нуклеотидами образующихся при этом «брешей» и «сшивании» фрагментов ДНК для восстановления целостности молекулы. На этом этапе функционируют специальные нуклеазы, которые удаляют праймеры, разрушая РНК в гибридных РНК/ДНК-комплексах. Фермент ДНК-полимеразы заполняет «бреши», а ДНК-лигаза «пришивает» фрагмент ДНК, заменивший РНК-праймер, к дочерней цепи. Репликационный синтез ДНК прекращается при встрече репликационных вилок соседних репликационных (рис. 16).

В 1963 г. британским врачом и молекулярным биологом Джоном Кэрнсом с применением метода автордиографии были выполнены эксперименты по визуализации процесса репликации у бактерии *E. coli*. Д. Кэрнс выращивал *E. coli* на среде, содержащей тимидин, меченный радиоактивным изотопом водорода – тритием ( $^3\text{H}$ ). При этом ДНК в клетках бактерий становилась радиоактивной. Нанесение выделенной ДНК на пленку с чувствительной к радиоактивному излучению фотоэмульсией позволило получить изображение распределения радиоактивной метки (рис. 19).

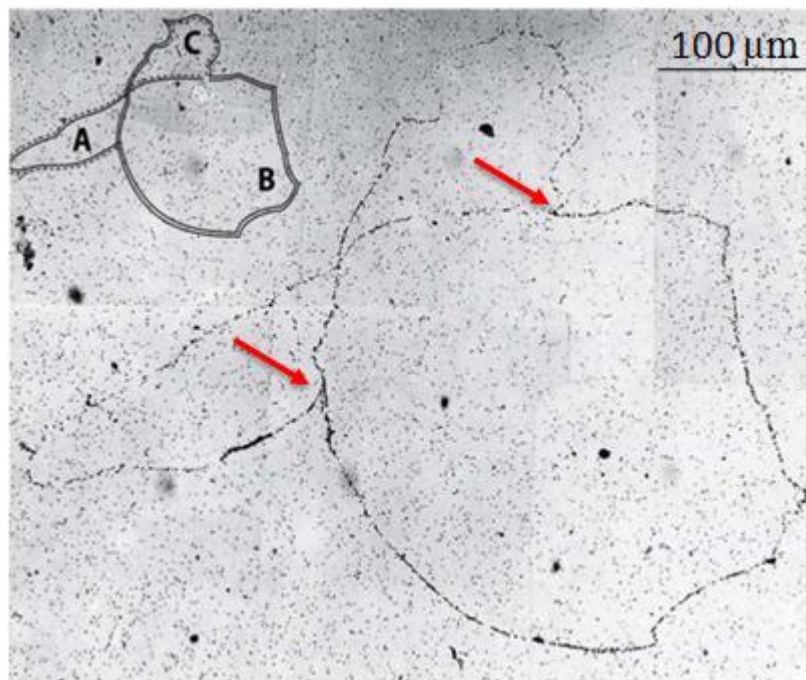


Рис. 19. Авторадиограмма делящейся кольцевой хромосомы *E. coli* (стрелками обозначены репликативные вилки)

Таким образом, было доказано, что процесс репликации кольцевой хромосомы происходит полуконсервативным способом и одновременно в двух направлениях, при этом реплицирующаяся молекула напоминает своей формой греческую букву  $\theta$  (тета), в связи с этим такой механизм репликации получил название тета-репликации (рис. 20).

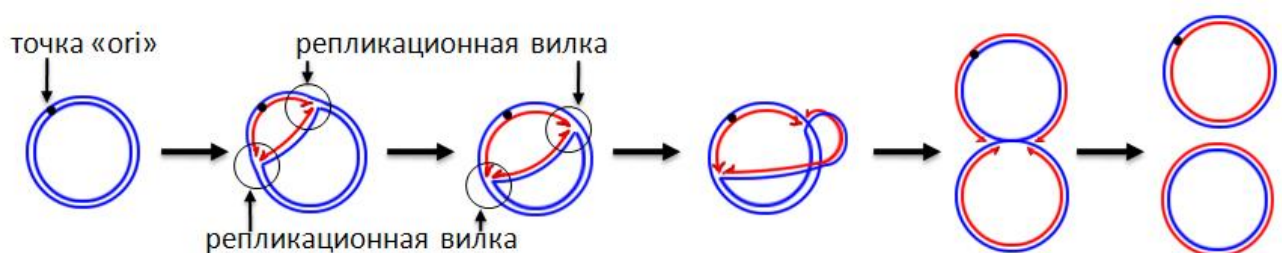


Рис. 20. Схема двунаправленной репликации кольцевой ДНК у бактерий

Известен еще один тип репликации кольцевой ДНК – по типу «катящегося кольца» или сигма-репликация ( $\sigma$ ). Репликация по типу катящегося кольца – это процесс однонаправленной, но неодновременной репликации нуклеиновой кислоты, результатом которой яв-

ляется быстрый синтез множественных копий кольцевых ДНК (в ряде случаев РНК у вирусов). Механизм репликации по типу катящегося кольца заключается в следующем. В одной из двух цепей кольцевой молекулы ДНК происходит разрушение фосфодиэфирной связи между нуклеотидами в точке инициации (сайт DSO – double-strand origin) специальным инициаторным белком Rep. Белок Rep связывается с 5'-фосфатным концом разорванной цепи, а фермент ДНК-полимераза III соединяется со свободным 3'-концом (как с праймером) и осуществляет синтез лидирующей цепи, используя в качестве матрицы неповрежденную цепь (рис. 21). Это приводит к восстановлению двухцепочечной структуры кольцевой ДНК. Синтез лидирующей цепи прекращается при достижении района DSO. По мере того, как вытесненная цепь сматывается с кольца, начинается ее репликация. Репликация вытесненной цепи начинается с синтеза праймера.

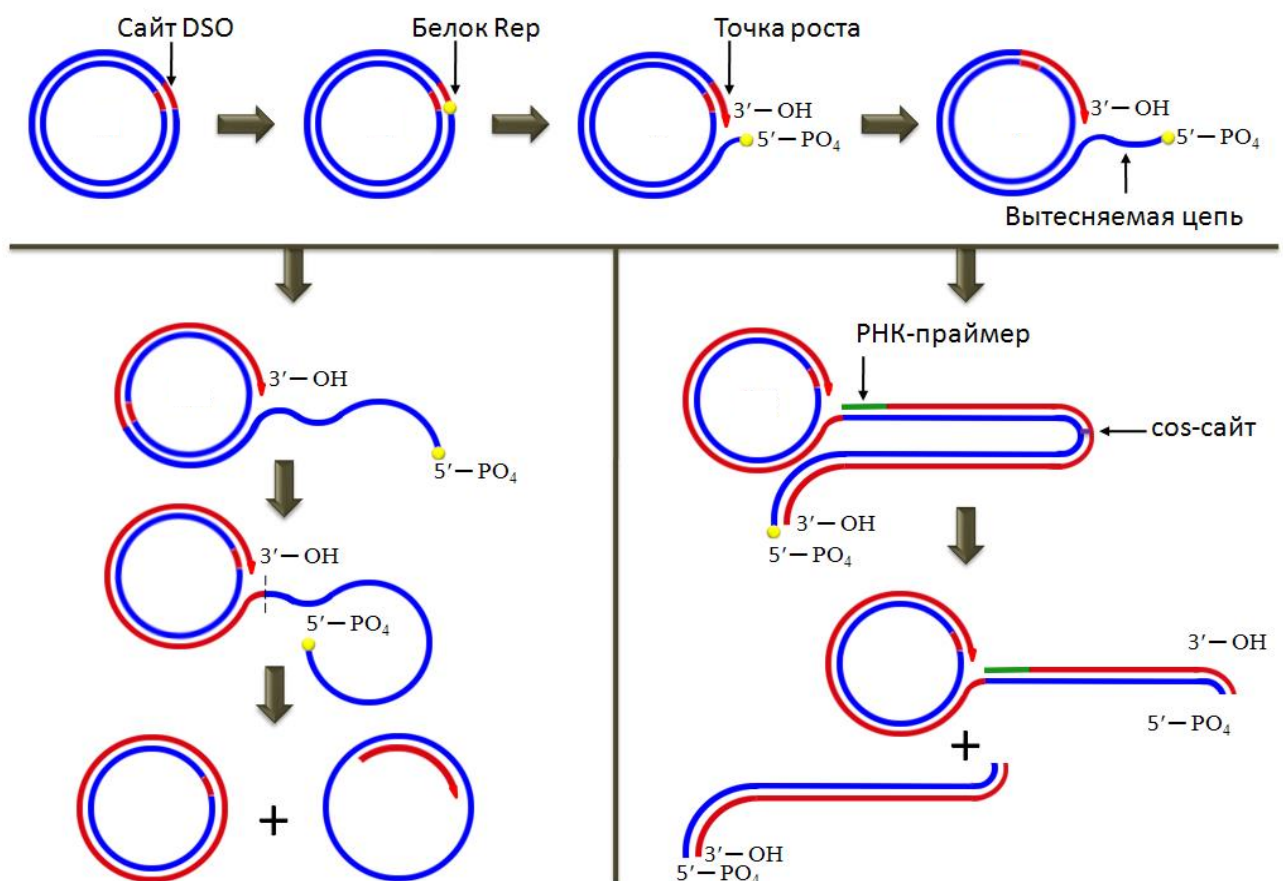


Рис. 21. Репликация кольцевой ДНК по типу «катящегося кольца»



Праймаза синтезирует РНК-праймер, а ДНК-полимераза III удлиняет праймер с 3'-конца короткими фрагментами Оказаки. Затем ДНК-полимераза I заменяет праймер на дезоксирибонуклеотиды, а ДНК-лигаза сшивает концы, формируя линейную копию исходной двухцепочечной молекулы. Таким образом, на матрице, представляющей собой «катящееся кольцо», может быть получено много новых линейных дуплексов ДНК, которые впоследствии могут замкнуться в кольцо.

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Назовите и охарактеризуйте основные этапы в истории открытия и изучения нуклеиновых кислот.
2. В каких экспериментах была доказана роль ДНК в хранении и передаче наследственной информации?
3. Опишите эксперименты Ф. Гриффита, в которых было обнаружено явление трансформации у бактерий.
4. Опишите эксперименты О. Эвери, К. Маклеода и М. Маккарти по доказательству природы «трансформирующего фактора», обнаруженного Ф. Гриффитом.
5. Опишите эксперименты Д. Ледерберга и Н. Циндера, обнаруживших явление трансдукции – формы горизонтального переноса генов.
6. Опишите эксперименты А. Херши и М. Чейз по доказательству роли ДНК в передаче генетической информации.
7. Опишите строение нуклеотидов. Какие химические связи формируют и стабилизируют молекулы нуклеиновых кислот? Сформулируйте правила Чаргаффа.
8. Опишите модель ДНК, предложенную Д. Уотсоном и Ф. Криком. Какие существуют формы спирали ДНК?
9. Опишите три модели репликации ДНК. Каким способом происходит удвоение ДНК в живой клетке? Опишите эксперименты М.

Мезельсона и Ф. Сталя по доказательству полуконсервативного способа репликации ДНК.

10. Определите ключевые характеристики процесса репликации ДНК. Перечислите ферменты репликации ДНК и охарактеризуйте их функции.
11. Изобразите схематично отдельные этапы репликации ДНК: инициация, элонгация, терминация. Определите термины: репликативная вилка, репликативный глазок, репликон, точка *ori*, праймеры, отстающая цепь, лидирующая цепь, фрагменты Оказаки.
12. Каковы основные различия в репликации ДНК у про- и эукариот? Опишите модель репликации кольцевой бактериальной ДНК по типу «катящегося кольца».

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

*Выберите один или несколько правильных ответов.*

1. РЕПЛИКАЦИЯ ДНК ИДЕТ В НАПРАВЛЕНИИ
  - а)  $5' \rightarrow 3'$
  - б)  $3' \rightarrow 5'$
  - в)  $3' \rightarrow 3'$
  - г)  $5' \rightarrow 5'$
2. ФРАГМЕНТЫ ОКАЗАКИ ОБРАЗУЮТСЯ ПРИ СИНТЕЗЕ
  - а) отстающей цепи ДНК
  - б) лидирующей цепи ДНК
  - в) как отстающей, так и лидирующей цепи
3. ФЕРМЕНТ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ ОДНОЦЕПОЧЕЧНЫЕ РАЗРЫВЫ И ЛОКАЛЬНОЕ «РАСПЛЕТЕНИЕ» ДНК В ПРОЦЕССЕ РЕПЛИКАЦИИ, НАЗЫВАЕТСЯ
  - а) топоизомераза
  - б) РНК-праймаза
  - в) Лигаза
  - г) ДНК-полимераза
4. ФЕРМЕНТ, УЧАСТВУЮЩИЙ В СШИВАНИИ ФРАГМЕНТОВ ДНК В ПРОЦЕССЕ РЕПЛИКАЦИИ, НАЗЫВАЕТСЯ
  - а) РНК-праймаза
  - б) топоизомераза
  - в) геликаза

г) лигаза

5. ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ ДНК ФОРМИРУЕТСЯ ПОСРЕДСТВОМ
- а) водородных связей
  - б) водородных и гидрофобных связей
  - в) ковалентных фосфодиэфирных связей
6. ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ ДНК СТАБИЛИЗИРУЕТСЯ
- а) водородными и гидрофобными связями
  - б) ковалентными фосфодиэфирными связями
7. ФОСФОДИЭФИРНЫЕ СВЯЗИ В МОЛЕКУЛЕ ДНК ОБРАЗУЮТСЯ МЕЖДУ
- а) фосфатом и азотистым основанием
  - б) фосфатом и двумя пентозами соседних нуклеотидов
  - в) азотистым основанием и сахаром
8. ДНК СОДЕРЖИТСЯ В СЛЕДУЮЩИХ КЛЕТОЧНЫХ ОРГАНОИДАХ
- а) комплекс Гольджи
  - б) ядро
  - в) митохондрии
  - г) рибосомы
  - д) лизосомы
9. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ ВПЕРВЫЕ БЫЛИ ОТКРЫТЫ
- а) Альтманом
  - б) Леваном
  - в) Уотсоном
  - г) Мишером
10. НУКЛЕОТИД ДНК СОСТОИТ ИЗ
- а) гуанина, дезоксирибозы и остатка фосфорной кислоты
  - б) рибозы, остатка фосфорной кислоты и аденина
  - в) аденина, гуанина и дезоксирибозы
11. К ПУРИНОВЫМ ОТНОСЯТСЯ АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ
- а) аденин
  - б) урацил
  - в) цитозин
  - г) тимин
  - д) гуанин
12. К ПИРИМИДИНОВЫМ ОТНОСЯТСЯ АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ
- а) аденин



- б) урацил
- в) цитозин
- г) тимин
- д) гуанин

13. ИССЛЕДОВАНИЯ ЧАРГАФФА ПОКАЗАЛИ, ЧТО МОЛЯРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ АДЕНИНА В ДНК РАВНО

- а) молярному содержанию урацила
- б) молярному содержанию гуанина
- в) молярному содержанию цитозина
- г) молярному содержанию тимина

14. ОПЫТЫ МЕЗЕЛЬСОНА И СТАЛЯ ДОКАЗАЛИ, ЧТО ДНК СИНТЕЗИРУЕТСЯ

- а) полуконсервативным способом
- б) консервативным способом
- в) дисперсным способом

15. ПРИ РЕПЛИКАЦИИ ДНК В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ОБРАЗУЕТСЯ

- а) только один репликон
- б) множество репликонов

## РАЗДЕЛ II

# БИОСИНТЕЗ МОЛЕКУЛ РНК. ПРОЦЕССИНГ

### 2.1. Виды и функции РНК в клетке

Рибонуклеиновая кислота (РНК) – однонитевой биополимер, в качестве мономеров которого выступают рибонуклеотиды. В зависимости от типа РНК количество входящих в ее состав нуклеотидов-мономеров различается. В состав нуклеотида РНК входит сахар рибоза, одно из четырех азотистых оснований (аденин, гуанин, урацил, цитозин), остаток фосфорной кислоты. В зрелых молекулах РНК многие азотистые основания модифицированы, поэтому разновидностей самих азотистых оснований в составе РНК в клетках намного больше. Рибоза, в отличие от дезоксирибозы, имеет дополнительную ОН-группу в С-2'-положении, что определяет способность РНК вступать в химические реакции подобно ферментам (энзимам). Существует даже определенный термин, характеризующий реакционные свойства РНК, проявляющих энзиматическую активность – такие молекулы называют «рибозимами», они обладают регуляторной активностью в отношении различных этапов экспрессии генов.

Выделяют три основных вида РНК: информационная (матричная), транспортная и рибосомальная. Все основные виды РНК представляют собой неразветвленные полинуклеотиды, имеют специфическую пространственную конформацию и принимают участие в процессах синтеза белка.

Характерную вторичную структуру имеет **транспортная РНК (тРНК)**. Она содержит в себе четыре спирализованных участка (за счет образования водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями – внутримолекулярные комплементарные пары А-У, Г-Ц) и три (либо четыре) одноцепочечных петли. При изображении такой структуры на плоскости получается фигура, называемая «клеверным листом» (рис. 22).

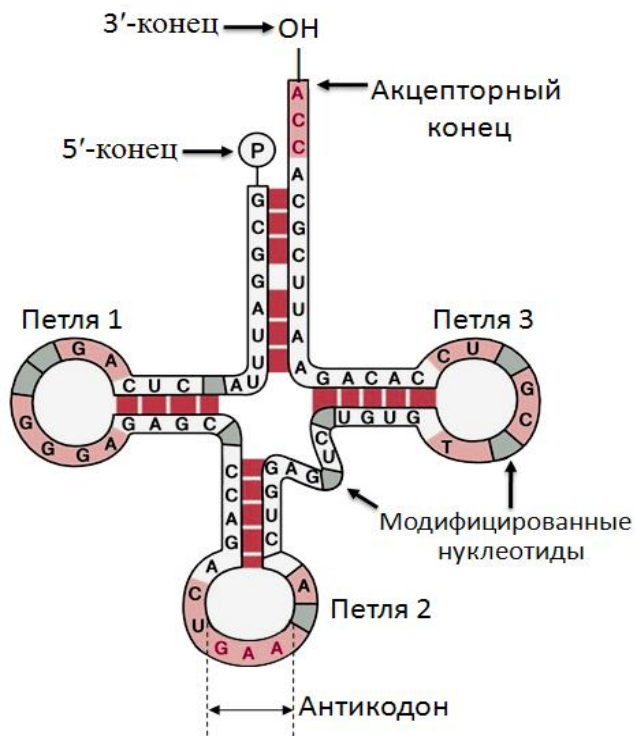


Рис. 22. Вторичная структура тРНК в форме «клеверного листа» (1 – петля для контакта с рибосомой, 2 – антикодоновая петля, 3 – петля для контакта с ферментом АРС-азой)

Третичная структура нативной молекулы тРНК отличается от плоской вторичной структуры большей компактностью за счет укладки различных частей молекулы в L-форму или форму «локтевого сгиба» (рис. 23).

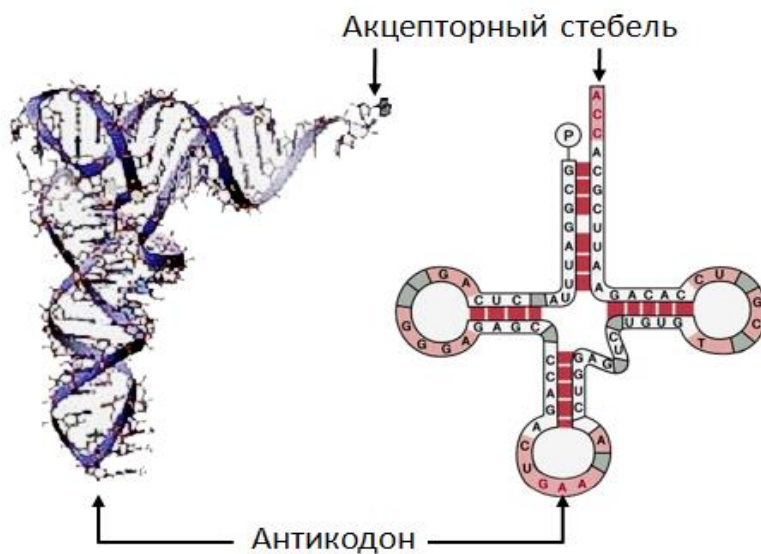


Рис. 23. Третичная структура тРНК

Транспортная РНК состоит обычно из 76 (от 75 до 95) нуклеотидов; ее молекулярная масса составляет 25–30 кДа. На долю тРНК приходится около 10% от общего содержания РНК в клетке. Функция тРНК заключается в доставке аминокислот к месту синтеза белка – к рибосомам. Таким образом, она выступает в роли трансляционного посредника (адаптера). В клетке встречается около 40 видов тРНК, каждый из которых имеет характерную только для него последовательность нуклеотидов. У любой тРНК есть петля для контакта с рибосомой, антикодоновая петля, петля для контакта с ферментом аминокил-тРНК-синтетазой (АРС-азой), акцепторный стебель и антикодон. Аминокислота присоединяется к 3'-концу акцепторного стебля; антикодон (три нуклеотида) распознает кодон информационной РНК по принципу комплементарности. Следует подчеркнуть, что только определенная тРНК может транспортировать строго определенную аминокислоту, соответствующую ее антикодону. Специфичность соединения аминокислоты с тРНК обеспечивается свойствами фермента АРС-азы (см. раздел 3.3. Трансляция: биосинтез белка).

**Рибосомальная РНК (рРНК)** имеет молекулярную массу 1000–1500 кДа и состоит из 2000 – 3000 нуклеотидов. На долю рРНК приходится 80–85% от общего содержания РНК в клетке. В комплексе с рибосомальными белками рРНК образует рибосомы – органоиды, осуществляющие синтез белка. Известно, что рибосома у прокариот состоит из 2/3 РНК и 1/3 белков; в эукариотических клетках данное соотношение равно 1:1, при этом синтез рРНК происходит в ядрышках. Так, у человека гены, кодирующие рРНК, сгруппированы в tandemные повторы, располагающиеся в районах ядрышковых организаторов на коротких плечах акроцентрических 13, 14, 15, 21 и 22 хромосом. Специфическая пространственная структура рРНК формирует важные элементы, определяя морфологические особенности, форму и целостность рибосом, а также их функциональные центры (см. раздел 3.3. Трансляция: биосинтез белка).

**Информационная (матричная) РНК (иРНК, мРНК)** разнообразна по количеству нуклеотидов (до 10 000) и молекулярной массе (от 50 до 4000 кДа). На долю мРНК приходится до 5% от общего со-

держания РНК в клетке. Посредством информационной РНК осуществляется перенос генетической информации от ДНК к рибосомам, а сама молекула выступает матрицей для синтеза аминокислотной последовательности первичной структуры белковой молекулы.

В настоящее время, благодаря современным транскриптомным технологиям, пополняется информация о существовании и функциональной роли новых, ранее неизвестных видов РНК. Кроме трех основных видов РНК открыт целый ряд, так называемых, некодирующих РНК, которые не транслируются в белки. В основном они выполняют регуляторную функцию, контролируя активность генов (см. раздел 4.2. Регуляция активности генов у эукариот) (табл. 2).

*Таблица 2. Виды и функции некодирующих регуляторных РНК*

<b>Название РНК</b>	<b>Размер (количество нуклеотидов)</b>	<b>Функции РНК</b>
Длинные некодирующие РНК (днкРНК, lncRNA)	до 200	Регулируют избирательное метилирование ДНК; руководят избирательной посадкой на хроматин белковых комплексов, подавляющих активность генов
Малые ядерные РНК (мяРНК, snRNA)	до 150	Участвуют в сплайсинге; регулируют активность факторов транскрипции; поддерживают целостность теломер
Малые ядрышковые РНК (мякРНК, snoRNA)	60–300	Участвуют в химической модификации рРНК, тРНК и мяРНК; участвуют в стабилизации структуры рРНК и защите от действия ферментов гидролаз (вероятно)
Малые интерферирующие РНК (миРНК, siRNA)	21–22	Обеспечивают противовирусную иммунную защиту; подавляют активность собственных генов (РНК-интерференция)
МикроРНК (мкРНК, miRNA)	18–25	Подавляют трансляцию либо приводят к деградации мРНК
Антисмысловые РНК (asRNA)	Короткие (менее 200) и длинные (более 200)	Блокируют трансляцию, образуя гибриды с мРНК
РНК, связанные с белками Piwi (piRNA, piwiRNA)	26–32	Подавляют активность мобильных генетических элементов во время эмбриогенеза («стражи генома»)

## 2.2. Транскрипция: биосинтез РНК

Транскрипция – процесс синтеза информационной (матричной) РНК на матрице ДНК. В эукариотической клетке транскрипция происходит в ядре, митохондриях и пластидах; у прокариот – в цитоплазме и, как правило, одновременно с трансляцией (синтезом белка). Биологический смысл транскрипции заключается в переписывании (транскрибировании) генетической информации с ДНК на РНК. Фермент, осуществляющий синтез молекул РНК на матрице ДНК, называется РНК-полимераза – это нуклеотидил-трансфераза, которая полимеризует рибонуклеотиды на 3'-конце цепи РНК. Существует два основных типа РНК-полимераз: односубъединичные и многосубъединичные. Односубъединичные РНК-полимеразы участвуют в транскрипции геномов некоторых бактериофагов и митохондрий. Многосубъединичные РНК-полимеразы отвечают за транскрипцию большинства генов в клетках всех живых организмов. Структура РНК-полимеразы у прокариот и эукариот отличается. РНК-полимераза прокариот представляет собой белок, имеющий четвертичную структуру. Известны две формы существования РНК-полимеразы: корфермент (от англ. *core* – сердцевина) и холофермент (от англ. *whole* – цельный). Корфермент имеет относительную молекулярную массу около 400 кДа и состоит из четырех субъединиц: двух  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\beta'$ . Холофермент состоит из корфермента и  $\sigma$ -субъединицы (или  $\sigma$ -фактора) (рис. 24).

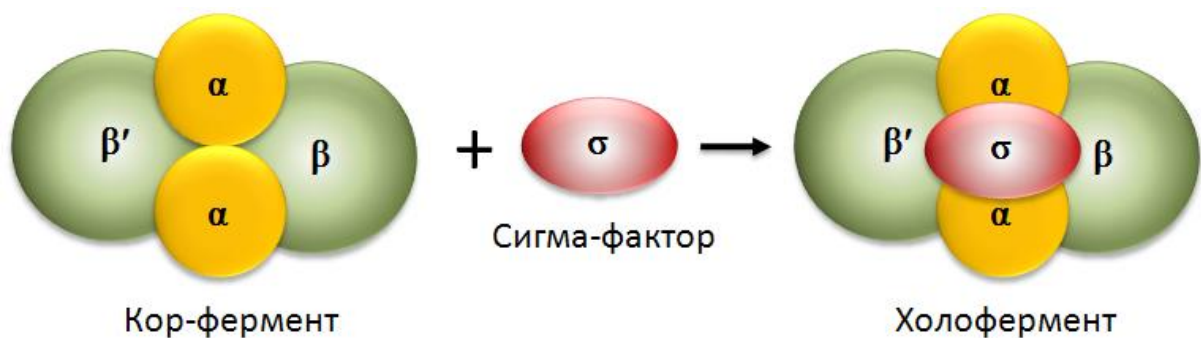


Рис. 24. Структура РНК-полимеразы прокариот



Кор-фермент РНК-полимеразы обладает каталитической активностью, но не способен к инициации транскрипции. По своей пространственной структуре кор-фермент напоминает «клешню краба», одна половина которой образована в основном  $\beta'$ -субъединицей, а вторая  $\beta$ -субъединицей; между ними находится главный канал РНК-полимеразы, в котором происходит связывание ДНК и РНК в процессе транскрипции. Димер  $\alpha$ -субъединиц располагается со стороны, противоположной главному каналу. Для узнавания специфических последовательностей ДНК (промоторов), на которых начинается транскрипция, необходимо присоединение фактора инициации, т.е.  $\sigma$ -субъединицы и образование холофермента РНК-полимеразы.  $\sigma$ -фактор играет центральную роль в узнавании промотора, плавлении ДНК и последующем сдвиге РНК-полимеразы с промотора к стартовой точке транскрипции.

У эукариот выявлено несколько типов РНК-полимераз в зависимости от их локализации: ядерные, митохондриальные, хлоропластные. Среди ядерных РНК-полимераз выделяют три вида: РНК-полимераза I, РНК-полимераза II, РНК-полимераза III (табл. 3). В синтезе мРНК на матрице ДНК у эукариот участвует РНК-полимераза II (молекулярная масса 550 кДа), которая состоит из двенадцати субъединиц, пять из которых проявляют гомологию с субъединицами РНК-полимеразы прокариот.

*Таблица 3. Типы эукариотических ядерных РНК-полимераз*

<b>Тип фермента</b>	<b>Локализация</b>	<b>Функции</b>
РНК-полимераза I	ядрышко	Синтез больших рибосомальных РНК (28S; 18S; 5,8S)
РНК-полимераза II	ядро	Синтез мРНК, большинства мяРНК и микроРНК
РНК-полимераза III	ядро	Синтез тРНК, малых рибосомальных РНК (5S), мяРНК, компонента рибонуклеопротеида U6 и других стабильных коротких РНК

Транскрибируемой единицей ДНК является транскриптон. Транскриптомом у прокариот является оперон, у эукариот – ген. В состав оперона входят два основных участка: регуляторный (неинформативный) и структурный (информативный) (рис. 25).

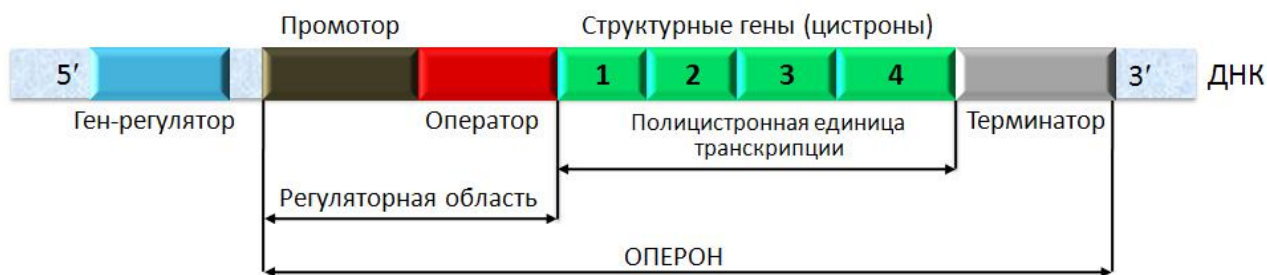


Рис. 25. Общая схема строения оперона

В геноме прокариотической клетки на долю регуляторных элементов приходится около 10%, на долю структурных – 90 %. Структурная область оперона прокариот может быть представлена одним или несколькими кодирующими участками – цистронами, таким образом, различают моноцистронные и полицистронные опероны. Синтез мРНК начинается со структурной части оперона, поскольку именно в ней закодирована информация о последовательности аминокислот в молекуле белка.

К регуляторным элементам оперона прокариот относятся участки, управляющие работой оперона: промотор, оператор, терминатор. Промотор определяет начало транскрипции (участок инициации), именно с ним соединяется РНК-полимераза при помощи  $\sigma$ -фактора. Прокариотические промоторы варьируют в размерах от 20 до 200 пар нуклеотидов (п.н.), но наиболее типичным является промотор размером 40 п.н. Внутри классического промотора имеется две постоянные последовательности: «минус 10» (-10) и «минус 35» (-35) (рис. 26). Они расположены выше (левее) сайта начала транскрипции (стартовой или нулевой точки) на 10 и 35 п.н. соответственно.

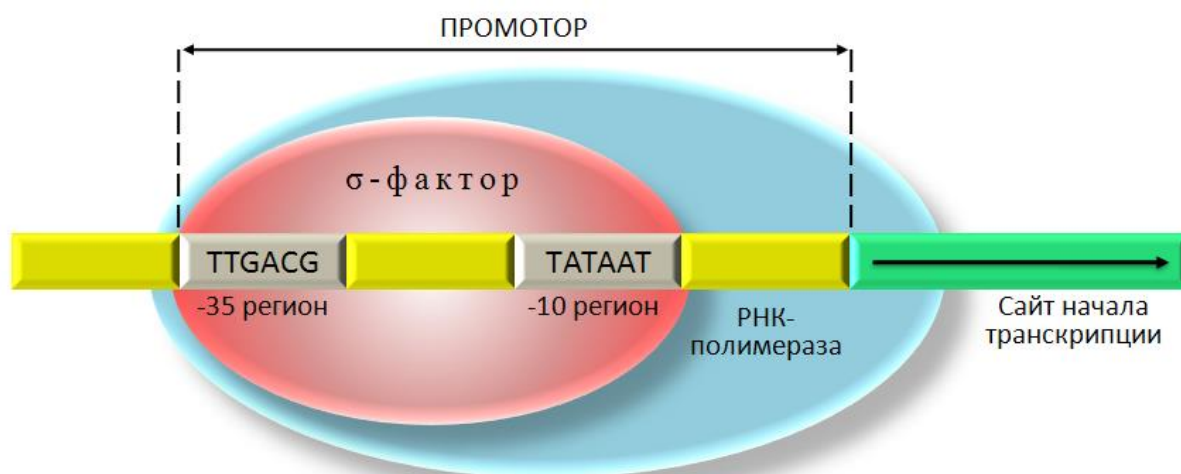


Рис. 26. Структура промотора у прокариот

Последовательность «-10» – это участок, состоящий из нуклеотидов ТАТААТ (ТАТА-бокс, ящик Прибнова), отвечает за узнавание промотора  $\sigma$ -фактором РНК-полимеразы. Последовательность «-35» (ТТГАЦГ-бокс) отвечает за посадку РНК-полимеразы на ДНК. Точкой начала транскрипции (+1) является нуклеотид, с которого начинается синтез мРНК.

Другой элемент, управляющий процессом транскрипции, – оператор, который располагается поблизости от промотора или внутри него. Если этот участок свободен, то РНК-полимераза соединяется с промотором и транскрипция начинается. Если оператор связан с регуляторным белком-репрессором, то РНК-полимераза не может соединиться с промотором, и транскрипция не идет. Белок-репрессор, как и другие регуляторные белки, является продуктом гена-регулятора, и играет важную роль в регуляции генетической активности (см. раздел 4.1. Регуляция активности генов у прокариот).

За транскрибируемой структурной областью генома (цистронами) расположен сигнальный участок остановки транскрипции – терминатор. В этой области транскрипция прекращается, РНК-полимераза и синтезированная мРНК отсоединяются от ДНК.

У эукариот единицей транскрипции является ген – фрагмент молекулы ДНК, содержащий регуляторные элементы и структурную

область, кодирующую функциональную молекулу белка или РНК. На долю регуляторных участков в геноме эукариот приходится около 90%, структурных – около 10%. Регуляторный участок гена эукариот представляет собой ряд последовательно расположенных промотора, оператора и терминатора, функции которых аналогичны функциям соответствующих элементов у оперона прокариот. Структурный участок состоит из одной единицы транскрипции и имеет «прерывистое» строение: кодирующие участки (экзоны) чередуются с некодирующими (интронами) (рис. 27).



Рис. 27. Общая схема строения гена эукариот

Промотор эукариот отличается от промотора прокариот. В структуре промотора эукариот выделяют коровые элементы (BRE, TATA, Inr, DPE), с которыми взаимодействуют общие транскрипционные факторы (TFIIB; TBP; TFIID и др.) (рис. 28).

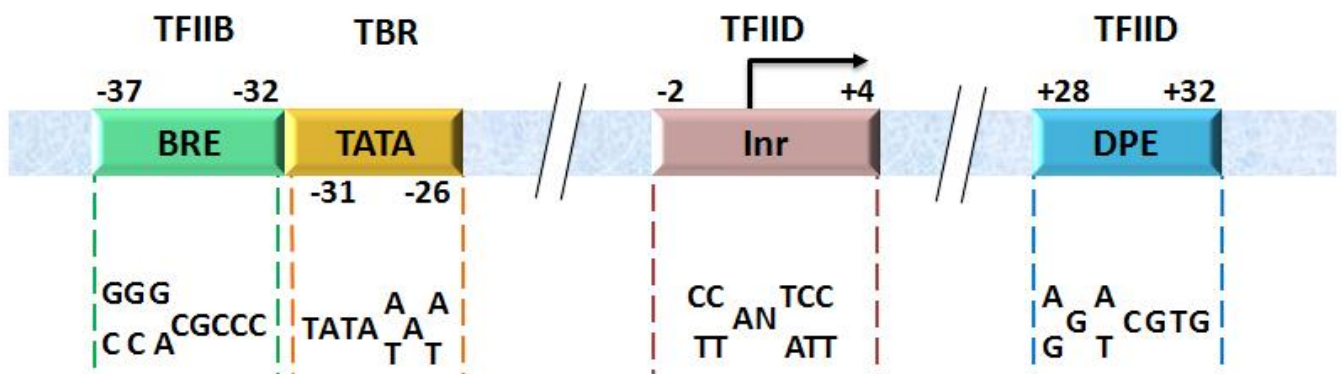


Рис. 28. Строение промотора эукариот

Коровый промотор эукариот – это минимальный набор последовательностей, необходимых для связывания РНК-полимеразы II и транскрипционных факторов, вовлеченных в процесс старта инициации транскрипции. Обычно длина корового промотора составляет 40–60 п.н., а располагаться он может выше или ниже точки старта транскрипции. Полный набор элементов корового промотора включает в себя BRE-элемент, ТАТА-бокс, Inr (инициатор) и/или нижележащий элемент (DPE). Функции перечисленных промоторных элементов различны (табл. 4).

*Таблица 4. Коровые элементы промотора эукариот и их функции*

<b>Название элемента</b>	<b>Функции</b>
BRE (B recognition element) – элемент распознавания В	Помощь в связывании РНК-полимеразы II с ДНК
ТАТА-бокс	Узнавание транскрибируемого участка ДНК; привлечение РНК-полимеразы II
Inr (initiator) – инициаторный элемент	Усиление транскрипции при совместной работе с другими коровыми элементами
DPE (downstream promoter element) – нижележащий промоторный элемент	

С различными промоторными элементами у эукариот взаимодействуют факторы транскрипции (транскрипционные факторы) – это белки, контролирующие процесс синтеза мРНК, а также других видов РНК на матрице ДНК. Выделяют общие (базальные) транскрипционные факторы и специальные (специфические) транскрипционные факторы. Общие транскрипционные факторы требуются для работы почти всех промоторов, используемых РНК-полимеразой II и обозначаются ТФII (от англ. – transcription factors – факторы транскрипции РНК полимеразы II, например, ТФИID, ТФИIA, ТФИIB и др.). Общие транскрипционные факторы помогают правильно расположить РНК-полимеразу II на промоторе, содействуют разделению двух цепей

ДНК, чтобы обеспечить возможность начала транскрипции в этом месте, способствуют освобождению РНК-полимеразы от промотора при переходе от инициации транскрипции к элонгации транскрипции.

В процессе своей работы транскрипционные факторы связываются со специфическими регуляторными участками ДНК (энхансерами, сайленсерами, инсуляторами). Эти участки располагаются иногда на расстоянии в несколько тысяч п.н. от структурного гена и оказывают влияние на его транскрипцию именно посредством транскрипционных факторов (см. раздел 4.2. Регуляция активности генов у эукариот).

Ключевые характеристики процесса транскрипции:

- комплементарность: РНК-полимераза синтезирует комплементарную реплику с транскрибируемого участка ДНК (А-У; Г-Ц; Ц-Г; Т-А);
- антипараллельность: синтезируемая цепь РНК направлена антипараллельно транскрибируемому участку ДНК;
- униполярность: синтез РНК осуществляется в одном направлении  $5' \rightarrow 3'$ ;
- беззатравочность: транскрипция всегда начинается с нуклеотидтрифосфата и не требует праймера;
- асимметричность: транскрибируется лишь одна цепь ДНК, она называется матричной (антисмысловой); противоположная цепь (смысловая) не транскрибируется.

В процессе транскрипции можно выделить 4 этапа: рекогниция (узнавание промотора), инициация (начало синтеза мРНК), элонгация (удлинение цепи) и терминация (завершение синтеза мРНК). Первые 2 этапа различаются у прокариотических и эукариотических клеток. У прокариот на этапе узнавания необходимы холофермент, который содержит  $\sigma$ -фактор, и промотор оперона. РНК-полимераза  $\sigma$ -фактором узнает последовательность промотора «-10» и закрепляется на последовательности «-35». Таким образом, формируется «закрытый комплекс». Далее начинается стадия инициации транскрипции, которая заключается в плавлении участка ДНК и образовании «открытого комплекса».



На стадии синтеза первых фосфодиэфирных связей рождающейся цепи РНК наличие специфических взаимодействий с промотором «тянет» РНК-полимеразу назад при ее попытках сдвинуться вперед. Это приводит к тому, что короткие последовательности РНК длиной до 9 нуклеотидов как бы «вываливаются» из РНК-полимеразы, не сумев преодолеть сопротивление, возникающее из-за связи РНК-полимеразы с промотором (абортивная транскрипция). Преодоление порогового значения в 9 нуклеотидов способствует выталкиванию растущей цепью РНК  $\sigma$ -фактора, держащегося за промотор, и РНК-полимераза приступает к движению и дальнейшему последовательному присоединению нуклеотидов (стадия элонгации) (рис. 29).

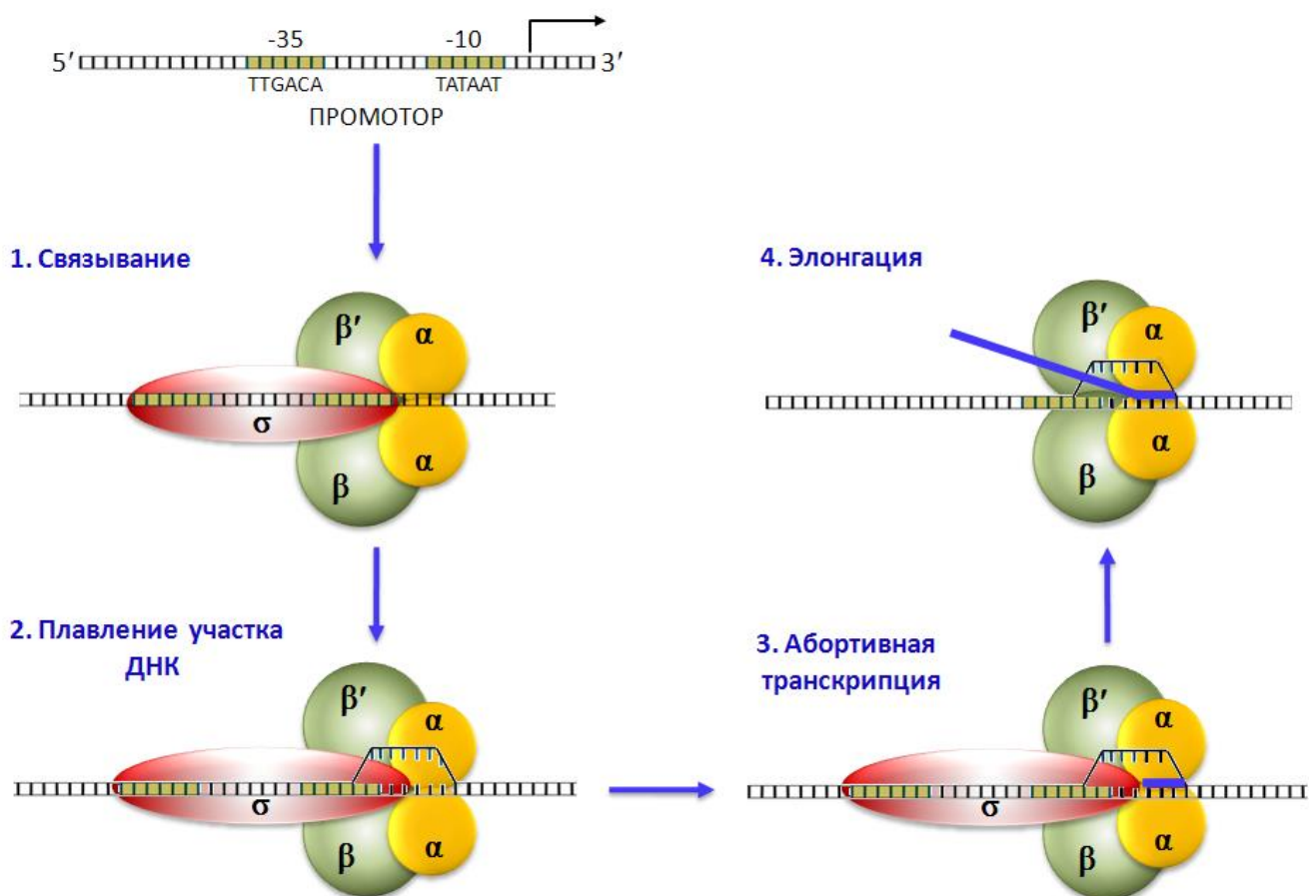


Рис. 29. Стадии рекогниции (узнавания), инициации и элонгации транскрипции у прокариот

У эукариот начальным этапом инициации транскрипции является специфическое связывание с ДНК транскрипционного фактора

TFIID. Сначала ТАТА-связывающий компонент транскрипционного фактора (ТВР – ТАТА-Binding Protein) специфически взаимодействует с соответствующим участком ДНК, что приводит к формированию преинициаторного комплекса (рис. 30А).

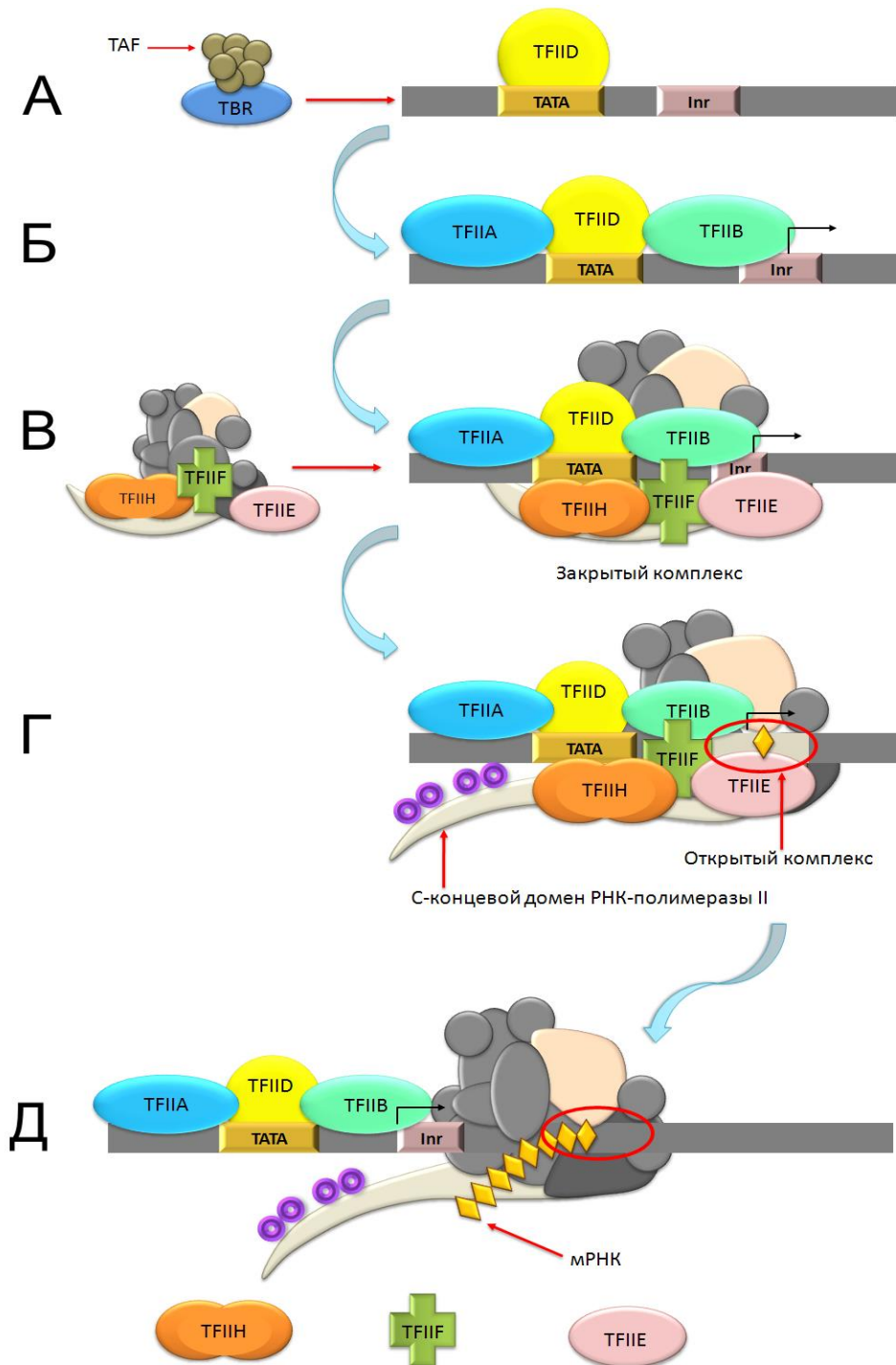


Рис 30. Этапы инициации транскрипции у эукариот

Далее с TFIIID связываются общие транскрипционные факторы TFIIA и TFIIB. Таким образом, образуется комплекс из трех транскрипционных факторов D, A и B (DAB-комплекс) (рис. 30Б). Следующим этапом узнавания является связывание DAB-комплекса с РНК-полимеразой II и с факторами TFIIF, TFIIE, TFIIH. Таким образом, формируется «закрытый» комплекс и определяется точка начала транскрипции (рис. 30В). В преинициаторном комплексе TFIIH обладает киназной и хеликазной активностью – он фосфорилирует С-концевой домен большой субъединицы РНК-полимеразы II и с использованием энергии АТФ расплетает двойную спираль ДНК в районе старта транскрипции – формируется «открытый» комплекс (рис. 30Г). Далее РНК-полимераза II сдвигается с промотора и начинается стадия элонгации. После начала движения фермента комплекс DAB остаётся связанным с коровым элементом промотора в течение некоторого времени и может принять участие в новом раунде инициации (рис. 30Д).

Элонгация – это последовательное удлинение растущей цепи мРНК. В прокариотических и эукариотических клетках этот процесс протекает одинаково. Перемещаясь вдоль двойной спирали ДНК в направлении 3'→5', РНК-полимераза непрерывно раскручивает спираль впереди того участка, на котором происходит синтез РНК (рис. 31).

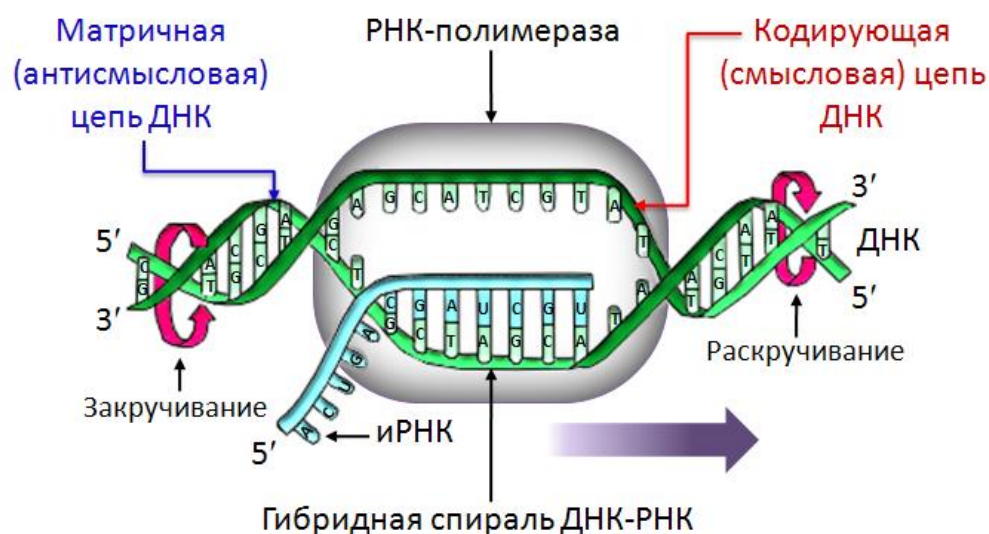


Рис. 31. Стадия элонгации транскрипции

На короткое время образуется «открытый» комплекс, внутри которого возникает гибридная спираль ДНК-РНК длиной около 20 нуклеотидов. Синтез мРНК идет последовательно согласно принципу комплементарности, затем фермент вновь закручивает ДНК позади участка полимеризации. РНК-транскрипт выводится из комплекса через особый канал на РНК-полимеразе. Терминация – завершение синтеза мРНК. Последовательности ДНК, являющиеся сигналами к остановке транскрипции, называются транскрипционными терминаторами. Механизмы завершения транскрипции различаются у прокариот и эукариот. У прокариот выделяют два механизма терминации: ро-зависимый и ро-независимый.

Ро-фактор (или ρ-фактор) – прокариотический белок, состоящий из шести одинаковых субъединиц (гексамер), связывается с синтезируемой цепью мРНК, перемещается вдоль нее в направлении 5'→3' к месту синтеза мРНК и разрушает связь между мРНК и ДНК-матрицей. Для перемещения по мРНК, ро-белок использует энергию, выделяемую при гидролизе АТФ (рис. 32).

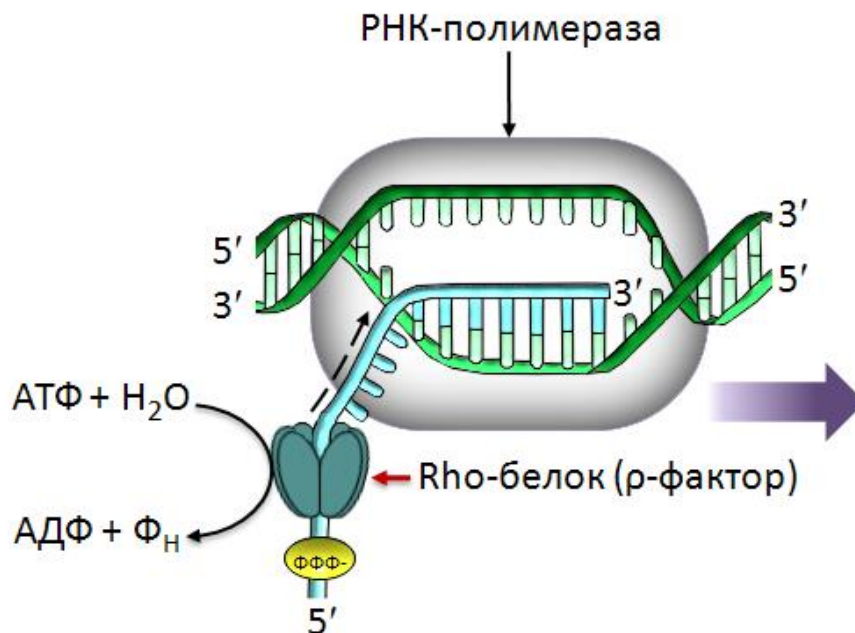


Рисунок 32. Ро-зависимая терминация транскрипции у прокариот

Механизм ро-независимой терминации иной. Синтезируемая на матрице ДНК мРНК содержит последовательность, обогащенную гуанин-цитозиновыми парами. Эта последовательность может образовывать шпильчатые структуры из 7–20 нуклеотидных пар, в которых гуанин и цитозин, образуя друг с другом три водородные связи, связаны довольно прочно. Сразу после шпильки располагается участок, обогащенный урацилом (полиурациловый участок), а, следовательно, гибридная молекула ДНК/мРНК будет включать участок с высокой концентрацией непрочных двойных связей, возникающих между урацилом и аденином. Специальный белок, связанный с РНК-полимеразой (nusA), прочно связывается со шпилькой и вызывает временную остановку РНК-полимеразы и прекращение транскрипции. В этот момент РНК-полимераза располагается на полиурациловом участке. Слабые двойные связи не способны удержать соединение полинуклеотидной цепи с РНК-полимеразой, что в конечном итоге приводит к разрушению связи между ними (рис. 33). У эукариот сайты терминации транскрипции распознаются специфическими факторами, которые взаимодействуют с РНК-полимеразой II и ускоряют процесс завершения синтеза, внося разрыв в транскрипт и высвобождая мРНК из транскрипционного комплекса.

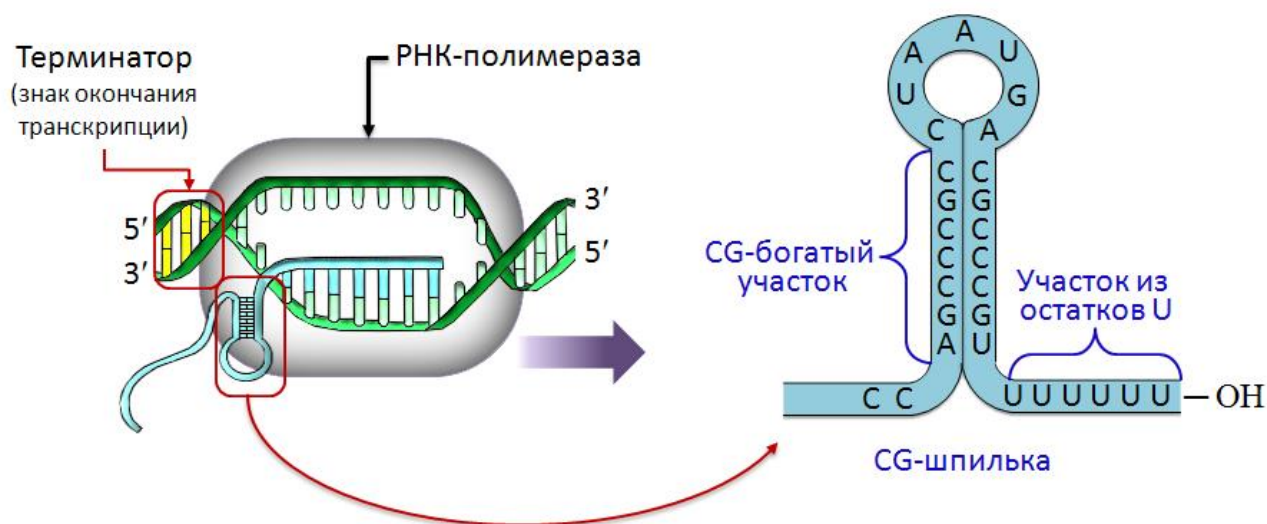


Рисунок 33. Механизм Ро-независимой терминации транскрипции у прокариот



Этот процесс сопряжен с реакцией полиаденилирования – присоединения к 3'-концу мРНК длинного участка («хвоста»), состоящего из адениловых нуклеотидов (от 200 до 400).

## 2.3. Посттранскрипционная модификация РНК (процессинг)

У прокариот сразу после синтеза мРНК готова к трансляции (биосинтезу белка). Сопряжение транскрипции и трансляции в прокариотических клетках возможно ввиду отсутствия ядра. Таким образом, рибосомы могут присоединиться к свободному 5'-концу РНК сразу после его высвобождения из области транскрипции.

У эукариот транскрипция происходит в ядре, внутри которого нет активных рибосом. Таким образом, у эукариот синтез белка происходит исключительно в цитоплазме. Для того чтобы принять участие в трансляции мРНК должна сначала «созреть» в ядре, а затем, соединяясь со специальными белками, выйти из ядра в цитоплазму. Процесс «созревания» мРНК называют посттранскрипционной модификацией первичного транскрипта (пре-мРНК) или процессингом.

Процессинг пре-мРНК у эукариот может происходить в нескольких вариантах: кэпирование, полиаденилирование, сплайсинг и редактирование.

**Кэпирование** (capping) (от англ. *cap* – шапка) – это способ модификации пре-мРНК, при котором специальный фермент гуанилилтрансфераза присоединяет метилгуаназин к 5'-концу первичного транскрипта, катализируя образование 5',5'-фосфодиэфирной связи между нуклеотидами (рис. 34). Это обеспечивает защиту мРНК от нуклеаз, удлинняя тем самым время ее жизни. Кроме того, кэп необходим для правильной инициации процессов сплайсинга и последующей трансляции, т.к. только в его присутствии рибосома распознает иницирующие кодоны на мРНК (АУГ и ГУГ).



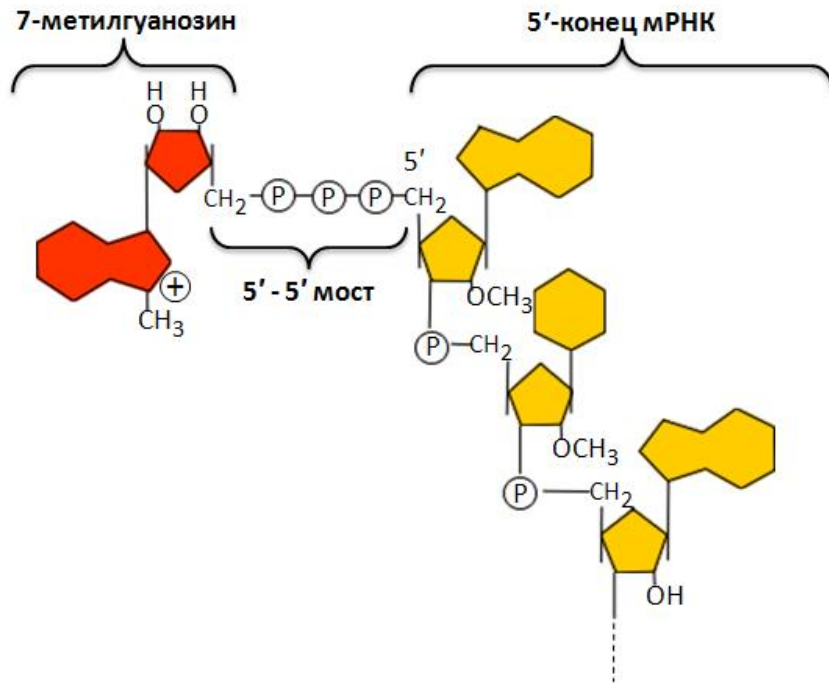


Рис. 34. Кэпирование 5'-конца мРНК

**Полиаденилирование** (присоединение поли(А)-хвоста) – это модификация 3'-конца первичного транскрипта. Процесс включает в себя несколько этапов. Первый этап заключается в отрезании наиболее близкой к 3'-концу части незрелой пре-мРНК. Этот разрез катализируется специальным ферментом (CPSF – cleavage and polyadenylation specificity factor – фактор специфичности расщепления и полиаденилирования) и происходит на 15–20 нуклеотидов ниже его сайта связывания. Местом связывания CPSF служит последовательность ААУААА. После разрезания мРНК начинается полиаденилирование, катализируемое ферментом полиаденилат-полимеразой (поли(А)-полимеразой). Поли(А)-полимераза осуществляет наращивание поли(А)-хвоста, добавляя к РНК аденозинмонофосфат, получаемый из АТФ. Когда длина поли(А)-хвоста достигает приблизительно 250 нуклеотидов, поли(А)-полимераза более не может находиться в связи с CPSF и полиаденилирование останавливается, тем самым прекращается рост поли(А)-хвоста (рис. 35).

Поли(А)-хвост защищает мРНК от ферментативного разрушения в цитоплазме, способствует терминации транскрипции, участвует в экспорте мРНК из ядра и последующей трансляции. Кроме того из-

вестно, что аппарат полиаденилирования физически связан со сплайсосомой – комплексом, вырезающим интроны из мРНК.

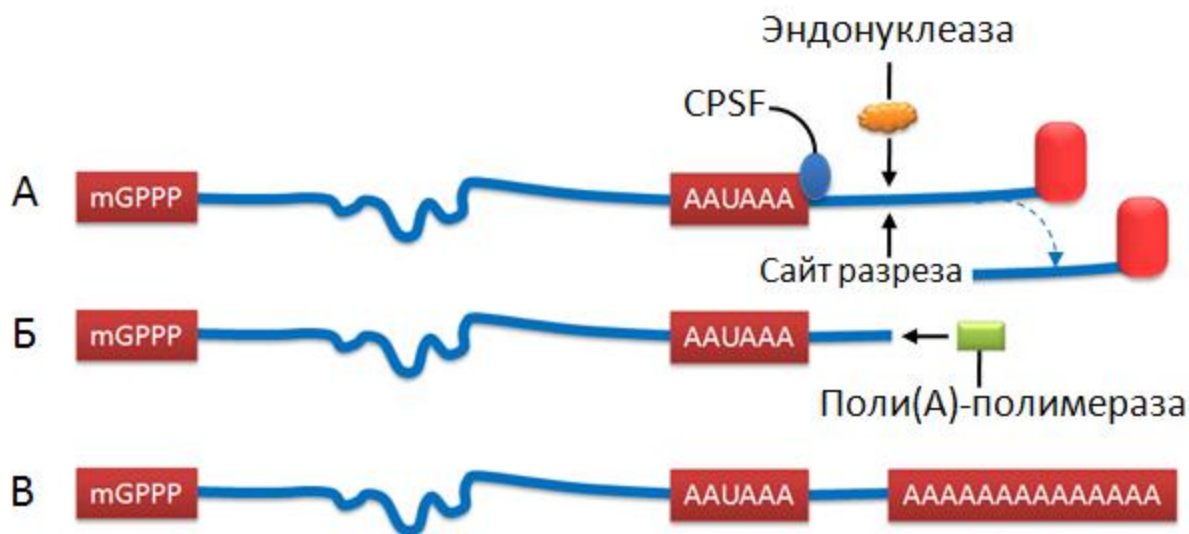


Рис. 35. Полиаденилирование 3'-конца мРНК

**Сплайсинг** (от англ. *splice* – сращивать или склеивать концы чего-либо) – важнейшее событие процессинга – вырезание некодирующих участков (интронов) из первичного транскрипта и последующее сшивание кодирующих участков (экзонов) между собой с образованием зрелых мРНК. Процесс осуществляется на сплайсосомах. Сплайсосома представляет собой ядерный комплекс, состоящий из пяти малых ядерных рибонуклеопротеинов (мя-РНП): U1, U2, U4, U5, U6. В состав рибонуклеопротеинов входят белки и малые ядерные РНК (мяРНК), которые обладают каталитическими свойствами (рибозимы). Каждый мя-РНП выполняет свою функцию в процессе сплайсинга: U1 и U2 распознают интроны, U4 и U6 вырезают интроны, U5 сшивает экзоны друг с другом.

Сплайсосома формируется благодаря взаимодействию мяРНП с мРНК и друг с другом, с последующей фиксацией и ориентированием на пре-мРНК. Точное удаление интронов из молекулы незрелой пре-мРНК происходит благодаря специфическим последовательностям нуклеотидов на концах интронов – сайтам сплайсинга (на 5'-конце – АГГУ, на 3'-конце – ГАГГ). На первой стадии мяРНП (U1 и U2) связываются с сайтами сплайсинга, затем к ним присоединяются

другие мяРНП (U4, U6, U5) – формируется сплайсосома. Далее, благодаря U5 концы экзонов сближаются и соединяются, а интроны удаляются с помощью U4 и U6. Таким образом, образуется зрелая мРНК, которая является конечной матрицей для синтеза белка в процессе трансляции.

Существует разновидность сплайсинга, которому подвергаются некоторые гены эукариот, – это **альтернативный сплайсинг**. В процессе альтернативного сплайсинга на основе одного и того же первичного транскрипта происходит образование нескольких вариантов зрелых м-РНК (рис. 36).

Биологический смысл альтернативного сплайсинга заключается в формировании большого разнообразия конечных продуктов экспрессии генов (белков) при неизменном геноме.

Аналогичный биологический смысл несет **редактирование** пре-мРНК. Это процесс, в ходе которого информация, содержащаяся в молекуле РНК, изменяется путём химической модификации оснований (конверсия), вырезания (делеция), вставки (инсерция) либо замены одного нуклеотида на другой. Процессы альтернативного сплайсинга и редактирования РНК являются частью сложной системы регуляции (в том числе тканеспецифической) экспрессии генов.

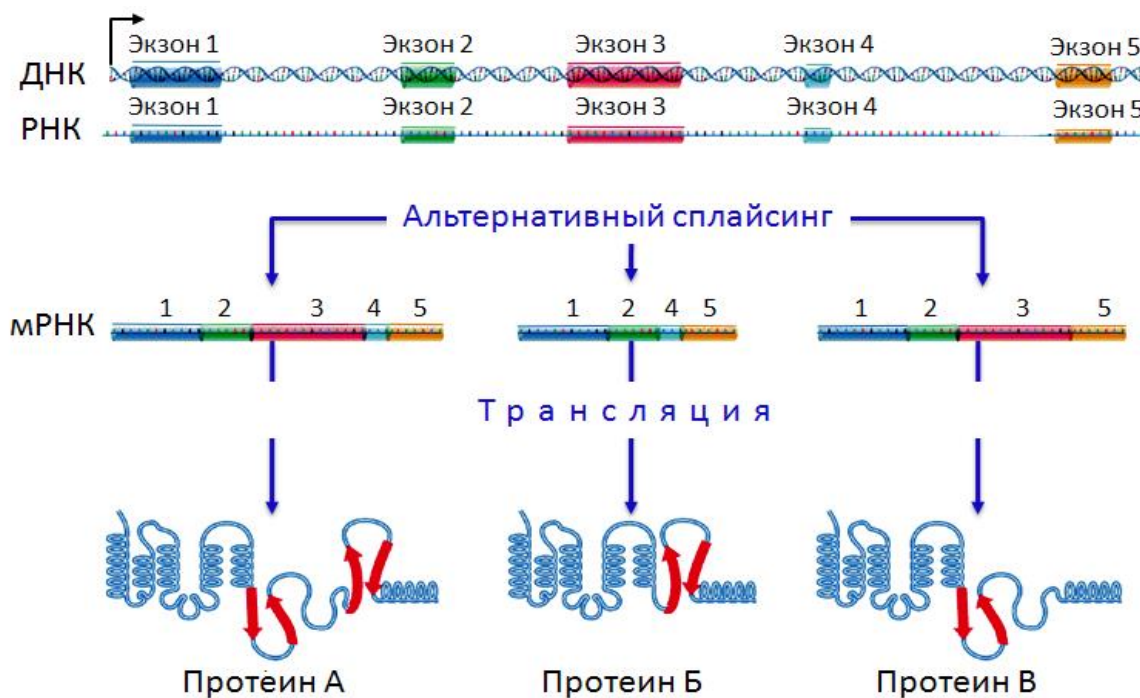


Рис. 36. Схема альтернативного сплайсинга пре-мРНК

## ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Перечислите виды РНК и охарактеризуйте их функции.
2. Опишите первичную, вторичную и третичную структуру РНК на примере транспортной РНК.
3. Определите термины: транскрипция, единица транскрипции, цистрон.
4. Опишите строение РНК-полимеразы. Охарактеризуйте отдельные типы эукариотических ядерных РНК-полимераз.
5. Приведите общую схему строения оперона у прокариот; опишите строение промоторной области оперона.
6. Приведите общую схему строения гена у эукариот; опишите строение промоторной области гена; охарактеризуйте функции коровых элементов промотора эукариот.
7. Приведите ключевые характеристики процесса транскрипции.
8. Охарактеризуйте этапы транскрипции: инициация, элонгация, терминация транскрипции (ро-зависимая и ро-независимая).
9. Определите термин «процессинг РНК». Перечислите и охарактеризуйте варианты модификации первичного транскрипта.
10. Определите термин «сплайсинг РНК». Каково биологическое значение альтернативного сплайсинга?

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

*Выберите один или несколько правильных ответов.*

1. В СОСТАВ МОЛЕКУЛЫ РНК НЕ ВХОДИТ
  - а) цитозин
  - б) урацил
  - в) гуанин
  - г) аденин
  - д) тимин
2. СТРУКТУРЫ РНК В ВИДЕ ШПИЛЕК ОБРАЗУЮТСЯ В МЕСТАХ, СОДЕРЖАЩИХ

- а) палиндромы
- б) промоторы
- в) рибозимы
- г) интроны

3. СТРУКТУРА Т-РНК В ФОРМЕ «КЛЕВЕРНОГО ЛИСТА» ЯВЛЯЕТСЯ ПРИМЕРОМ

- а) первичной структуры РНК
- б) вторичной структуры РНК
- в) третичной структуры РНК

4. ВИДЫ РНК, КОТОРЫЕ УЧАСТВУЮТ В ПРОЦЕССАХ ВЫРЕЗАНИЯ ИНТРОНОВ ПРИ СОЗРЕВАНИИ М-РНК,

- а) транспортные РНК
- б) малые ядерные РНК
- в) рибосомальные РНК
- г) матричные РНК

5. ПЕРЕНОС ИНФОРМАЦИИ О ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ АМИНОКИСЛОТ В МОЛЕКУЛЕ БЕЛКА ОТ ЯДЕРНОЙ ДНК К РИБОСОМАМ ОСУЩЕСТВЛЯЮТ

- а) транспортные РНК
- б) малые ядерные РНК
- в) рибосомальные РНК
- г) матричные РНК

6. ОРИЕНТИРУЮТ АМИНОКИСЛОТЫ НА РИБОСОМЕ

- а) транспортные РНК
- б) малые ядерные РНК
- в) рибосомальные РНК
- г) матричные РНК

7. ПРОЦЕСС ПЕРЕНОСА ИНФОРМАЦИИ С ДНК НА РНК НАЗЫВАЕТСЯ

- а) транскрипция
- б) обратная транскрипция
- в) процессинг
- г) трансляция

8. ЕДИНИЦЕЙ ТРАНСКРИПЦИИ У ЭУКАРИОТ ЯВЛЯЕТСЯ

- а) оперон
- б) ген
- в) оператор
- г) промотор

9. ВЫБЕРИТЕ ФОРМУЛУ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩУЮ СОСТАВ КОРФЕР-

МЕНТА РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ,

- а) две субъединицы  $\alpha$  + субъединица  $\beta$  + субъединица  $\beta'$
- б) две субъединицы  $\alpha$  + две субъединицы  $\beta$  + две субъединицы  $\beta'$
- в) одна субъединица  $\alpha$  + субъединица  $\beta$  + субъединица  $\beta'$

10. ФУНКЦИЯ  $\sigma$ -ФАКТОРА РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

- а) обеспечивает узнавание промотора и инициацию транскрипции
- б) является ро-фактором терминации транскрипции
- в) обеспечивает элонгацию транскрипции

11. ВЫБЕРИТЕ ПРАВИЛЬНУЮ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ СТАДИЙ ТРАНСКРИПЦИИ

- а) инициация – элонгация – терминация – рекогниция
- б) рекогниция – инициация – элонгация – терминация
- в) рекогниция – элонгация – инициация – терминация

12. ЭЛОНГАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ ПРОИСХОДИТ В НАПРАВЛЕНИИ

- а)  $5' \rightarrow 3'$
- б)  $3' \rightarrow 5'$

13. КОДИРУЮЩЕЙ (ИЛИ СМЫСЛОВОЙ) ЦЕПЬЮ ДНК ЯВЛЯЕТСЯ

- а) цепь ДНК, на которой РНК-полимераза строит м-РНК по принципу комплементарности
- б) цепь ДНК, противоположная той, на которой РНК-полимераза строит м-РНК по принципу комплементарности

14. МАТРИЧНОЙ (ИЛИ АНТИСМЫСЛОВОЙ) ЦЕПЬЮ ДНК ЯВЛЯЕТСЯ

- а) цепь ДНК, на которой РНК-полимераза строит м-РНК по принципу комплементарности
- б) цепь ДНК, противоположная той, на которой РНК-полимераза строит м-РНК по принципу комплементарности

15. ОБРАЗОВАНИЕ ШПИЛЕЧНОЙ СТРУКТУРЫ РНК В ОБЛАСТИ САЙТА-ТЕРМИНАТОРА ХАРАКТЕРНО ДЛЯ

- а) Ро-независимой терминации транскрипции
- б) Ро-зависимой терминации транскрипции

16. К ВАРИАНТАМ ПРОЦЕССИНГА М-РНК НЕ ОТНОСИТСЯ

- а) кэпирование
- б) импринтинг
- в) полиаденилирование
- г) сплайсинг



17. КЭП ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ

- а) остаток 7-метилгуанозина на 5'-конце м-РНК
- б) AAUAAA-последовательность на 3'-конце м-РНК
- в) остаток 7-метилгуанозина на 3'-конце м-РНК
- г) AAUAAA-последовательность на 5'-конце м-РНК

18. СПЛАЙСИНГ – ЭТО

- а) процесс вырезания экзонов из молекул РНК и соединения интронов, сохраняющихся в «зрелой» молекуле
- б) процесс вырезания интронов из молекул РНК и соединения экзонов, сохраняющихся в «зрелой» молекуле

19. В СОСТАВ СПЛАЙСОСОМЫ ВХОДЯТ

- а) малые ядерные рибонуклеопротеины
- б) малые субъединицы рибосомы
- в) интроны и экзоны в участках сплайсинга

20. БИОЛОГИЧЕСКИЙ СМЫСЛ РЕДАКТИРОВАНИЯ мРНК ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В СЛЕДУЮЩЕМ

- а) защита м-РНК от действия эндо- и экзонуклеаз
- б) создание на базе одного генотипа большого разнообразия функциональных белков
- в) помогает связыванию молекулы м-РНК с рибосомой

# РАЗДЕЛ III ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД. ТРАНСЛЯЦИЯ

## 3.1. Структура и функции белков

С биологической точки зрения белки являются наиболее сложными по структуре и обширными по функциям соединениями по сравнению со всеми прочими известными молекулами. В природе существуют тысячи белков, каждому белку свойственна собственная специфичная последовательность аминокислот, соединенных пептидной связью, поэтому белки известны также под названием полипептидов. В центре каждой молекулы белка лежит повторяющаяся последовательность атомов аминокислот, соединенных пептидной связью – полипептидный каркас или основная полипептидная цепь (рис. 37).

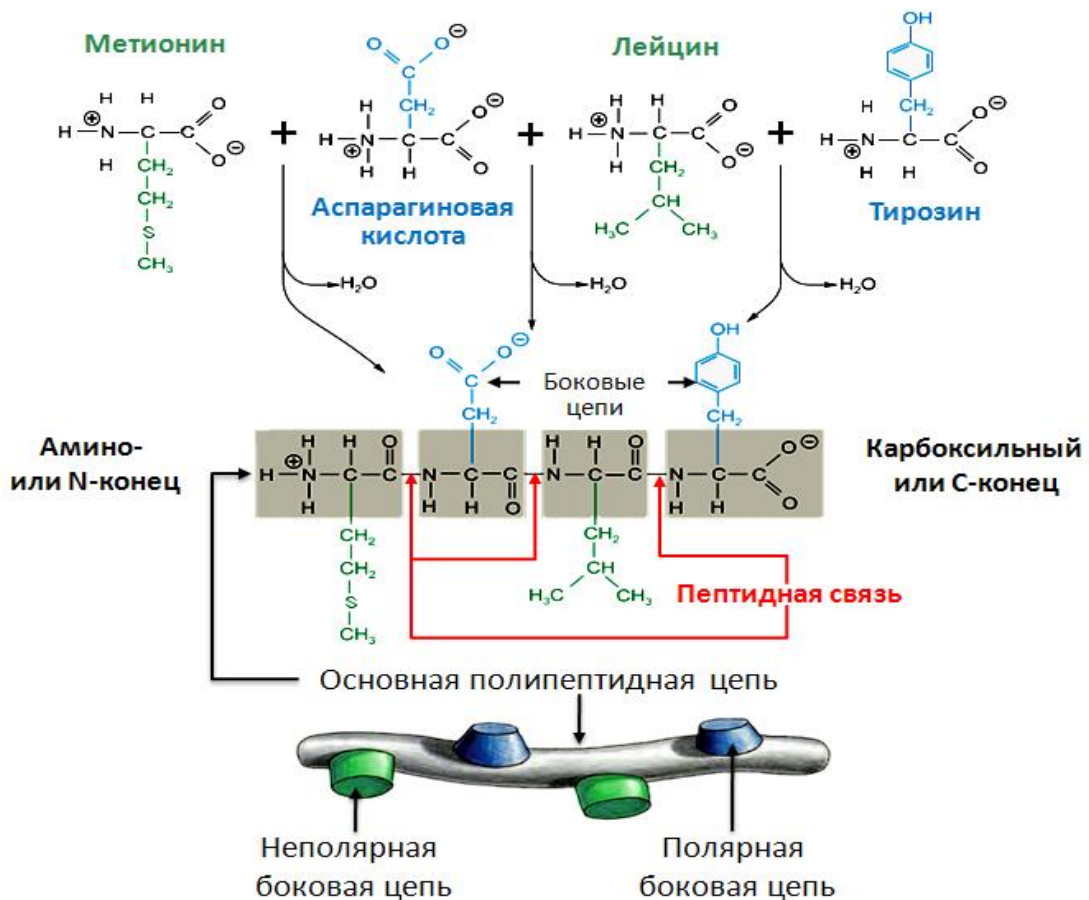


Рис. 37. Структура полипептидной цепи

К каркасу крепятся звенья аминокислот, не участвующие в формировании пептидной связи, но придающие аминокислотам уникальные свойства: гидрофобность, полярность, заряд, возможность создания ковалентной связи в полипептидной цепи и др. (табл. 5).

*Таблица 5. Разнообразие аминокислотного состава белков (каждой аминокислоте соответствует трехбуквенное и однобуквенное обозначение)*

Аминокислота			Боковая цепь
Аргинин	Арг (Arg)	R	Положительно заряженная
Лизин	Лиз (Lys)	K	Положительно заряженная
Гистидин	Гис (His)	H	Положительно заряженная
Аспарагиновая кислота	Асп (Asp)	D	Отрицательно заряженная
Глутаминовая кислота	Глу (Glu)	E	Отрицательно заряженная
Аспарагин	Асн (Asn)	N	Полярная незаряженная
Глутамин	Глн (Gln)	Q	Полярная незаряженная
Серин	Сер (Ser)	S	Полярная незаряженная
Треонин	Тре (Tre)	T	Полярная незаряженная
Тирозин	Тир (Tyr)	Y	Полярная незаряженная
Аланин	Ала (Ala)	A	Неполярная
Глицин	Гли (Gly)	G	Неполярная
Валин	Вал (Val)	V	Неполярная
Лейцин	Лей (Leu)	L	Неполярная
Изолейцин	Иле (Ile)	I	Неполярная
Пролин	Про (Pro)	P	Неполярная
Фенилаланин	Фен (Phe)	F	Неполярная
Метионин	Мет (Met)	M	Неполярная
Триптофан	Трп (Trp)	W	Неполярная
Цистеин	Цис (Cis)	C	Неполярная

Первичная структура белка образуется в ходе химической реакции конденсации между аминогруппой одной аминокислоты и карбоксильной группой другой аминокислоты (рис. 37). Последовательность аминокислот кодируется структурным геном данного белка, образуется в результате трансляции зрелой мРНК и определяет последующие уровни организации белка.

Согласно принципу сохранения энергии, любая полипептидная

цепь приобретает такую форму, в которой её свободная энергия будет минимальной. Такая структура называется конформацией. Полипептидные цепи первичной структуры под действием нековалентных сил (водородных, ионных) сворачиваются в пространственную конформацию, т.е. приобретают вторичную структуру. Вторичная структура белка обусловлена изменением положения в пространстве полипептидной основной цепи (каркаса): амино- и карбоксильные концы цепей (N-конец и С-конец) являются шарнирами, вокруг которых происходит вращение боковых полипептидных цепей. Несмотря на то, что конформация каждого белка уникальна, в укладке их областей чаще всего встречаются два типа ориентации плоских полипептидных цепей –  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -лист (или  $\beta$ -структура), которые и составляют вторичную структуру белка (рис. 38).

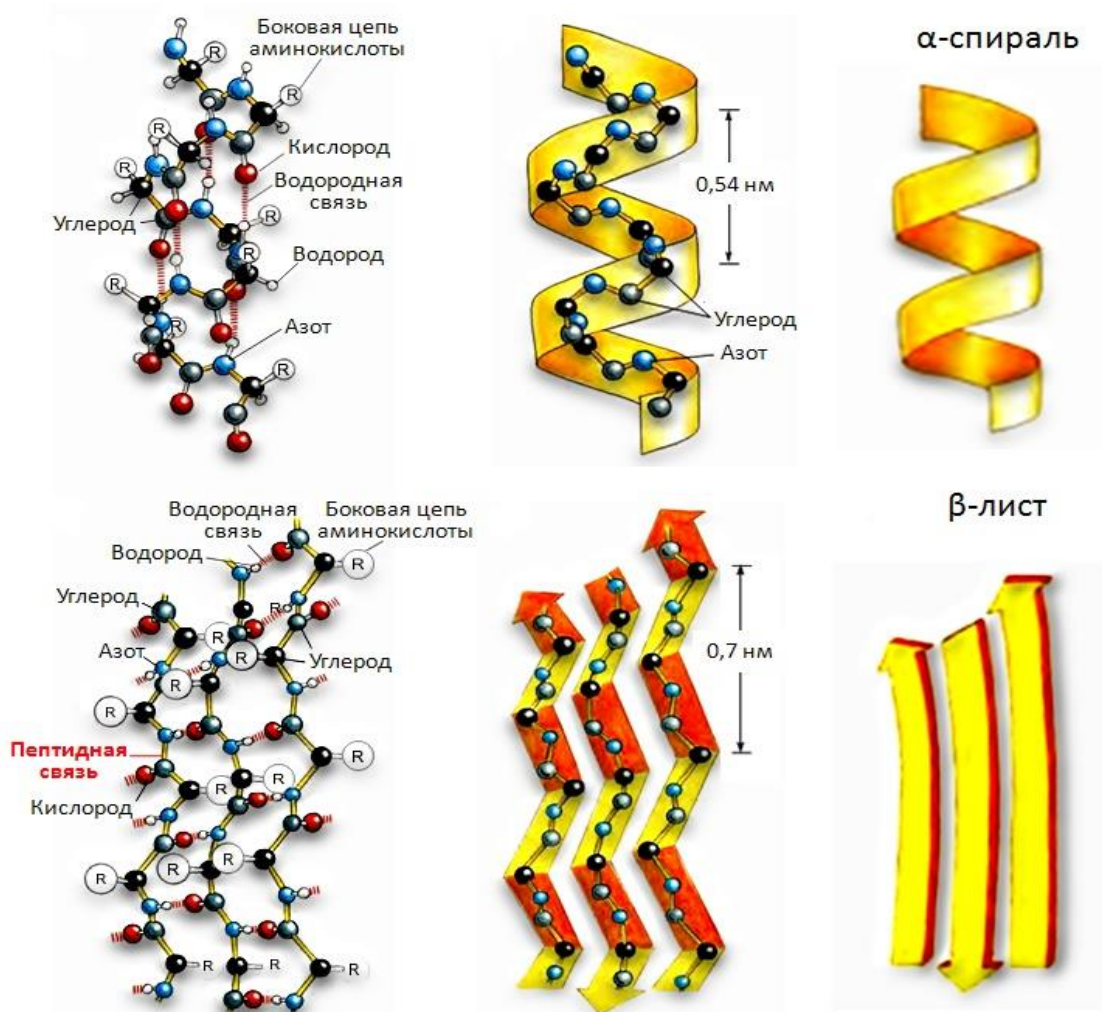


Рис. 38. Вторичная структура белка:  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -лист.  
R - боковые цепи

Структуры  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листа были открыты в 50-х годах XX века в ходе экспериментов по изучению строения белков волос, кожи и шёлка.  $\alpha$ -спираль была обнаружена в белке кожи и её производных ( $\alpha$ -кератин), а  $\beta$ -лист – в основном компоненте шёлка (фиброин). Частая встречаемость именно этих конформаций обусловлена водородными связями между N-концевым и C-концевыми участками полипептидного каркаса. Водородные связи, как правило, образуются между подвижным атомом водорода кислотного центра, несущим частичный положительный заряд (например, групп -ОН, -NH, -SH), и парой электронов гетероатома основного центра, чаще всего атома кислорода или азота. Таким образом, формирование  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листа происходит без участия боковых цепей, а значит возможно в белках с различной последовательностью аминокислот.

Образуется  $\alpha$ -спираль путем закручивания полипептидной цепи с формированием жесткого цилиндра, скрепленного водородными связями. В результате получается правильная спираль с полным витком на каждые 3,6 аминокислотных остатка (размер 0,54 нм) (рис. 38). Белки со структурой  $\alpha$ -спирали выполняют транспортную и рецепторную функцию в клетке, составляют большую часть интегральных белков цитоплазматической мембраны.

Белки, имеющие конформацию  $\beta$ -листа, организуются в пространстве подобно равномерным складкам листа бумаги. Их цепи могут быть ориентированы как в одинаковом направлении (параллельные цепи), так и в разных направлениях (антипараллельные цепи) (рис. 39).

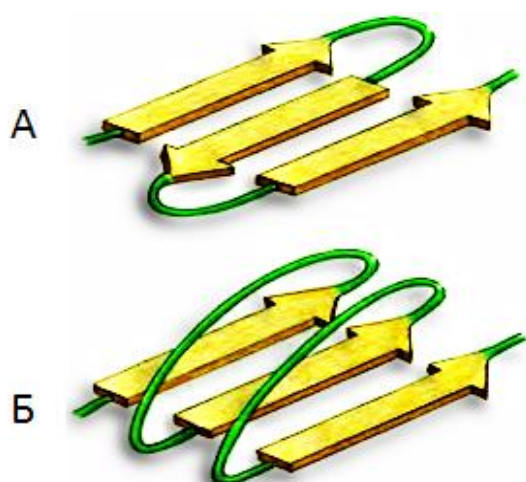


Рисунок. 39. Типы  $\beta$ -листа: антипараллельный (А) и параллельный (Б)

Параллельные и антипараллельные типы  $\beta$ -листа представлены во многих белках. Поскольку это достаточно жесткая структура, то такая стабилизирующая конформация характерна обычно для центральной части белковых молекул. Конформации типа  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листа представляют собой структуры с постоянной организацией (регулярные структуры). Наряду с ними встречаются нерегулярные конформации вторичной структуры белка, например, петли, изгибы, повороты полипептидного остова. Они часто располагаются в местах, где меняется направление пептидной цепи, например, при формировании параллельной  $\beta$ -складчатой структуры. Петли и изгибы практически всегда оказываются на поверхности белков и обеспечивают высокую химическую активность молекул.

Биологическая эволюция белковых молекул двигалась в сторону укрупнения и стабилизации молекул, поэтому более распространенной в живых организмах является третичная структура, представленная полипептидными цепями, скрученными в форме шара (глобулы) или в форме фибриллы. Специфические каталитические и структурные функции белков, находящихся в третичной конформации, обеспечиваются за счет боковых цепей аминокислот, активных только на поверхности глобулы. При этом глобулярный белок включает гидрофобный центр, образованный плотноупакованными гидрофобными аминокислотами и периферийную часть, состоящую из гидрофильных и гидрофобных аминокислот. Основная сила, сворачивающая белок в третичную конформацию – это гидрофобные взаимодействия. Их возникновение связано с тем, что неполярные (гидрофобные) радикалы (например,  $-\text{CH}_3$ ) стремятся внутрь белковой молекулы, чтобы ограничить контакты с водой. При этом образуются гидрофобные кластеры, которые и формируют ядро (кор) третичной структуры белка. К дополнительным связям, стабилизирующим третичную структуру белка, относятся нековалентные связи и дисульфидные мостики.

При объединении белков третичной структуры образуется четвертичная структура белка с уникальными биологическими свойствами, которые могут отсутствовать у белков третичной структуры.

В состав белка с четвертичной структурой могут входить как идентичные, так и различающиеся полипептидные цепочки. Каждый белок, входящий в состав четвертичной структуры, является ее субъединицей или протомером. Если белки содержат два протомера, то они называются димерами, если четыре – тетрамерами и т.д. В образовании четвертичной структуры белка принимают участие те же связи, что и при образовании третичной структуры, за исключением ковалентных.

Отличия белков у разных видов живых организмов определяются видовой специфичностью. При этом в разных тканях одного организма функционируют разные белки, определяя тканевую специфичность. Белки выполняют различные функции. Структурные белки составляют цитоскелет, входят в состав клеточных органелл и мембран. Белки мышечного сокращения и моторные белки преобразуют химическую энергию АТФ в механическую работу. Транспортные белки формируют трансмембранные каналы (пассивный транспорт) либо самостоятельно осуществляют перенос крупных и мелких молекул через клеточную мембрану или внутри клетки (активный транспорт). Большинство механизмов внутри- и межклеточной коммуникации обеспечивается белками. Ряд гормонов, большинство ферментов и биологических регуляторов (репрессоров, активаторов) также являются белковыми молекулами. Белки буферной системы крови (альбумины и глобулины) участвуют в поддержании кислотно-основного равновесия. Большинство гуморальных факторов неспецифического и адаптационного иммунитета (эффektorные и регуляторные) являются белками. В животных и растительных клетках белки используются в качестве источника незаменимых аминокислот, выполняют запасующую и энергетическую функцию.

### **3.2. Генетический код и его свойства**

Структуру и свойства белка определяют состав аминокислот и последовательность их расположения в пептидных цепях. Состав и последовательность аминокислот в цепи пептида закодированы в



ДНК посредством генетического кода. Первым ученым, отметившим связь между генами и белками, был английский врач и биохимик Арчибальд Эдвард Гаррод. В 1904 г. Гаррод изучал врожденные заболевания обмена веществ у человека, в том числе алкаптонурию. Одним из проявлений алкаптонурии является потемнение мочи на воздухе, которое обусловлено появлением в моче продукта распада аминокислот тирозина и фенилаланина – алкаптона. Поскольку это заболевание очень редкое, Гаррода особенно заинтересовал случай семьи, где сразу двое из пятерых детей страдали алкаптонурией, при этом их родители были двоюродным братом и сестрой. Таким образом, Гаррод предположил, что алкаптонурия наследуется от обоих родителей и высказал гипотезу о «врожденных ошибках метаболизма». Фактически, Гаррод впервые заметил связь генов и метаболических процессов в организме.

В 1941 г. Эдуард Тэйтем и Джордж Бидл в экспериментах с нейроспорой (*Neurospora crassa*) обнаружили утрату способности гриба синтезировать аминокислоту в результате генной мутации. Нейроспора – вид мицелиальных грибов группы аскомицетов, является прототрофом, т.е. способен самостоятельно синтезировать необходимые для жизни вещества, в том числе аминокислоты и витамины (за исключением биотина). Это и ряд других свойств нейроспоры используются в генетических исследованиях, так как гриб быстро растёт на минимальной среде, имеет гаплоидный жизненный цикл (клетки содержат всего 7 хромосом), следовательно, при генетическом анализе все рецессивные признаки (мутации) проявляются в первом же поколении. Д. Бидл и Э. Тэйтем, проводя исследование генетического контроля процессов метаболизма, облучали неполовые споры (конидии) нейроспоры рентгеновскими лучами, и, таким образом, вызывали мутации в ее ДНК. После проращивания мутантных спор отбирали клетки, не способные развиваться на обедненной питательной среде, но хорошо растущие на среде, содержащей весь набор аминокислот, азотистых оснований, витаминов. Так были получены отдельные клоны клеток, нуждающихся в каком-либо одном из данных веществ. Генетический анализ каждого клона показал, что мутация

каждый раз происходила только в каком-либо одном гене. В связи с этим было сделано заключение: одна мутация приводит к потере одной метаболической активности а, следовательно, один ген кодирует один фермент.

Гипотеза «один ген – один фермент» (уточненная формулировка «один ген - одна полипептидная цепь») предопределила поиск ответа на вопрос, каким образом последовательность из четырех азотистых оснований в ДНК детерминирует последовательность из 20 аминокислот, образующих первичную структуру белка. Гипотеза о триплетности генетического кода впервые была предложена физиком Г.А. Гамовым в 1954 г. и экспериментально доказана Ф. Криком в 1961 г. Единица генетической информации, определяющая, какая из аминокислот будет встраиваться в синтезирующую молекулу белка, получила название кодона. Для того чтобы 20 аминокислот могли включиться в белок в процессе трансляции мРНК, необходимо, чтобы она содержала, по крайней мере, 20 различных кодонов. Если кодон будет состоять из двух оснований, их сочетания могут образовать лишь 16 кодонов ( $4^2$ ), что недостаточно для кодирования 20 аминокислот. Если в кодон входят три нуклеотида, то они могут комбинироваться в 64 сочетания ( $4^3$ ), что более чем достаточно для кодирования 20 аминокислот.

После доказательства триплетности генетического кода было установлено соответствие отдельных кодонов конкретным аминокислотам. В 1961 г. Маршалл Ниренберг и Генрих Маттеи воспроизвели процесс синтеза белка *in vitro*, используя бесклеточную систему. В качестве матрицы был взят олигонуклеотид, состоящий только из остатков урацила. Пептид, синтезированный с него, содержал только аминокислоту фенилаланин. Таким образом, впервые было установлено значение кодона УУУ – он кодирует фенилаланин. Позднее были установлены и другие правила соответствия между кодонами и аминокислотами, а также структура молекулы тРНК, которая служит посредником при трансляции. В 1968 году М. Ниренберг, Х.Г. Корана и Р. Холли были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине за работы по «интерпретации ге-

нетического кода и его функции в синтезе белка».

**Генетический код – это способ кодирования последовательности аминокислотных остатков в составе белков при помощи последовательности нуклеотидов в составе нуклеиновой кислоты.**

Свойства генетического кода:

- триплетность: аминокислоты кодируются триплетами (группой из трёх нуклеотидов - кодоном);
- однозначность: каждый триплет определяет последовательность только одной аминокислоты;
- вырожденность (избыточность): общее число триплетов превышает количество аминокислот в клетках ( $64 > 20$ ); некоторые аминокислоты задаются не одним, а несколькими триплетами (от двух до шести); существуют кодоны, не кодирующие аминокислоты (стоп-кодоны);
- неперекрываемость: конечный нуклеотид одного кодона не может служить началом другого;
- непрерывность: между кодонами нет промежутков, все триплеты расположены строго друг за другом без пропусков;
- универсальность: одни и те же триплеты кодируют одни и те же аминокислоты у всех видов живых организмов.

Для пунктуации генетической информации во время ее трансляции имеют значение пять кодонов: два иницирующие кодона (АУГ, ГУГ) и три терминирующие (нонсенс) кодона (УАА, УАГ и УГА). Иницирующие кодоны находятся в регуляторной области и определяют точное место начала трансляции мРНК, т.е. указывают точку, с которой начнётся синтез полипептидной цепи. Если кодоны АУГ и ГУГ находятся в структурной части гена, то определяют включение метионина и валина в белковую молекулу. Нонсенс-кодоны или терминирующие кодоны определяют окончание синтеза полипептидной цепи. Таким образом, каждый кодон описывает аминокислоту либо соответствует остановке процесса трансляции (табл. 6).

Таблица 6. Таблица генетического кода (иРНК)

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фенилаланин	Серин	Тирозин	Цистеин	У
	Фенилаланин	Серин	Тирозин	Цистеин	Ц
	Лейцин	Серин	<i>стоп-кодон</i>	<i>стоп-кодон</i>	А
	Лейцин	Серин	<i>стоп-кодон</i>	Триптофан	Г
Ц	Лейцин	Пролин	Гистидин	Аргинин	У
	Лейцин	Пролин	Гистидин	Аргинин	Ц
	Лейцин	Пролин	Глютамин	Аргинин	А
	Лейцин	Пролин	Глютамин	Аргинин	Г
А	Изолейцин	Треонин	Аспарагин	Серин	У
	Изолейцин	Треонин	Аспарагин	Серин	Ц
	Изолейцин	Треонин	Лизин	Аргинин	А
	Метионин <i>старт-кодон</i>	Треонин	Лизин	Аргинин	Г
Г	Валин	Аланин	Аспарагиновая кислота	Глицин	У
	Валин	Аланин	Аспарагиновая кислота	Глицин	Ц
	Валин	Аланин	Глутаминовая кислота	Глицин	А
	Валин <i>старт-кодон</i>	Аланин	Глутаминовая кислота	Глицин	Г

### 3.3. Трансляция: биосинтез белка

В раскрытии механизма трансляции важную роль сыграла предложенная Френсисом Криком в 1955 г. «адаптерная теория трансляции». К этому времени уже существовало общее представление о том, что информация для аминокислотной последовательности бел-

ков закодирована в виде нуклеотидной последовательности соответствующих матричных РНК. При этом предполагали, что нуклеотиды никак не могут служить прямыми матричными поверхностями для полимеризации аминокислот ввиду стерического несоответствия молекул. Для объяснения механизма, обеспечивающего однозначное соответствие между генетической информацией, записанной в нуклеотидной последовательности ДНК, и аминокислотами, выстраивающимися в синтезируемую молекулу белка и была предложена адаптерная гипотеза.

Согласно адаптерной гипотезе распознавание аминокислот в процессе синтеза белка происходит не прямым путем взаимодействия между ними и соответствующими кодонами мРНК, а с участием молекул-посредников (адаптеров). Вскоре такие молекулы были открыты – ими оказались транспортные РНК. К 3'-концу акцепторной ветви тРНК эфирной связью присоединяется аминокислотный остаток. На вершине антикодоновой петли тРНК находится триплет нуклеотидов, комплементарный в антипараллельном направлении кодону мРНК, кодирующую соответствующую аминокислоту – антикодон.

Специфическое связывание молекулы тРНК определённого типа с соответствующей ей аминокислотой осуществляет фермент аминоацил-тРНК-синтетаза (АРСаза), по сути, еще один адаптер. Аминоацил-тРНК-синтетазы – это крупные мультимерные белки, их количество равно числу природных аминокислот. Название АРСаз определяется наименованием присоединяемой ей аминокислоты, например, лизил-тРНК-синтетаза, глицил-тРНК-синтетаза и т.п. Для каждой аминокислоты существует своя тРНК. Поскольку 20 аминокислот кодируются 61 кодоном, соответственно существует 61 тип тРНК. тРНК, имеющие разную первичную, но одинаковую третичную структуру, акцептирующие одну и ту же аминокислоту и узнаваемые одной и той же аминоацил-тРНК-синтетазой называются **изоакцепторными тРНК**.

Каждая молекула аминоацил-тРНК-синтетазы состоит из двух основных доменов – аминоацилирующего, в котором располагается активный центр, и антикодон-связывающего, узнающего последова-

тельность антикодона тРНК.

Сначала в активном центре АРСазы связываются соответствующая аминокислота и АТФ, образуется аминокцил-аденилат. Затем с активным центром синтетазы связывается 3'-конец тРНК, антикодон которой соответствует активируемой этой синтетазой аминокислоте. Происходит перенос аминокислотного остатка с аминокцил-аденилата на 2'- либо 3'-ОН группу рибозы, входящей в состав последнего на 3'-конце аденина тРНК. Таким образом, синтезируется аминокцил-тРНК, то есть тРНК, несущая ковалентно присоединённый аминокислотный остаток (рис. 40).

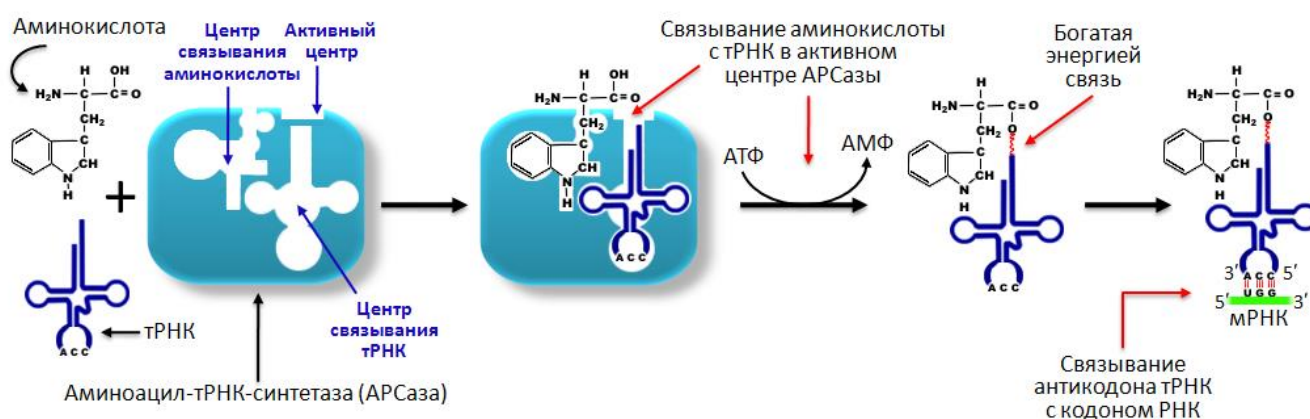


Рис. 40. Образование связи молекулы тРНК с соответствующей ей аминокислотой посредством АРС-азы

Биосинтез белка осуществляется на рибосомах. В эукариотической клетке рибосомы располагаются в цитоплазме, чаще всего на разветвленной внутриклеточной мембранной сети – эндоплазматическом ретикулуме; у прокариот рибосомы располагаются свободно по объёму клетки.

Рибосома представляет собой нуклеопротеид, который состоит из рибосомальных (рРНК), специфических белков и небольшого количества низкомолекулярных компонентов. У эукариот рРНК синтезируется в ядрышке и составляет большую часть всей РНК клетки – около 70%. В состав рибосомы эукариот входят четыре молекулы рРНК – 18S; 5,8S; 28S и 5S. Размер молекул РНК выражается константой седиментации Сведберга (S), которая отражает скорость оса-



ждения частиц при градиентном ультрацентрифугировании.

В состав рибосомы прокариот входят три молекулы рРНК – 16S; 23S и 5S. Соединение рРНК со специфическими белками формирует малую и большую субъединицы рибосом. Константа седиментации у рибосом эукариотических клеток составляет 80S (большая и малая субъединицы 60S и 40S, соответственно), у рибосом прокариот (а также у рибосом митохондрий и пластид) – 70S (большая и малая субъединицы 50S и 30S, соответственно) (рис. 41).

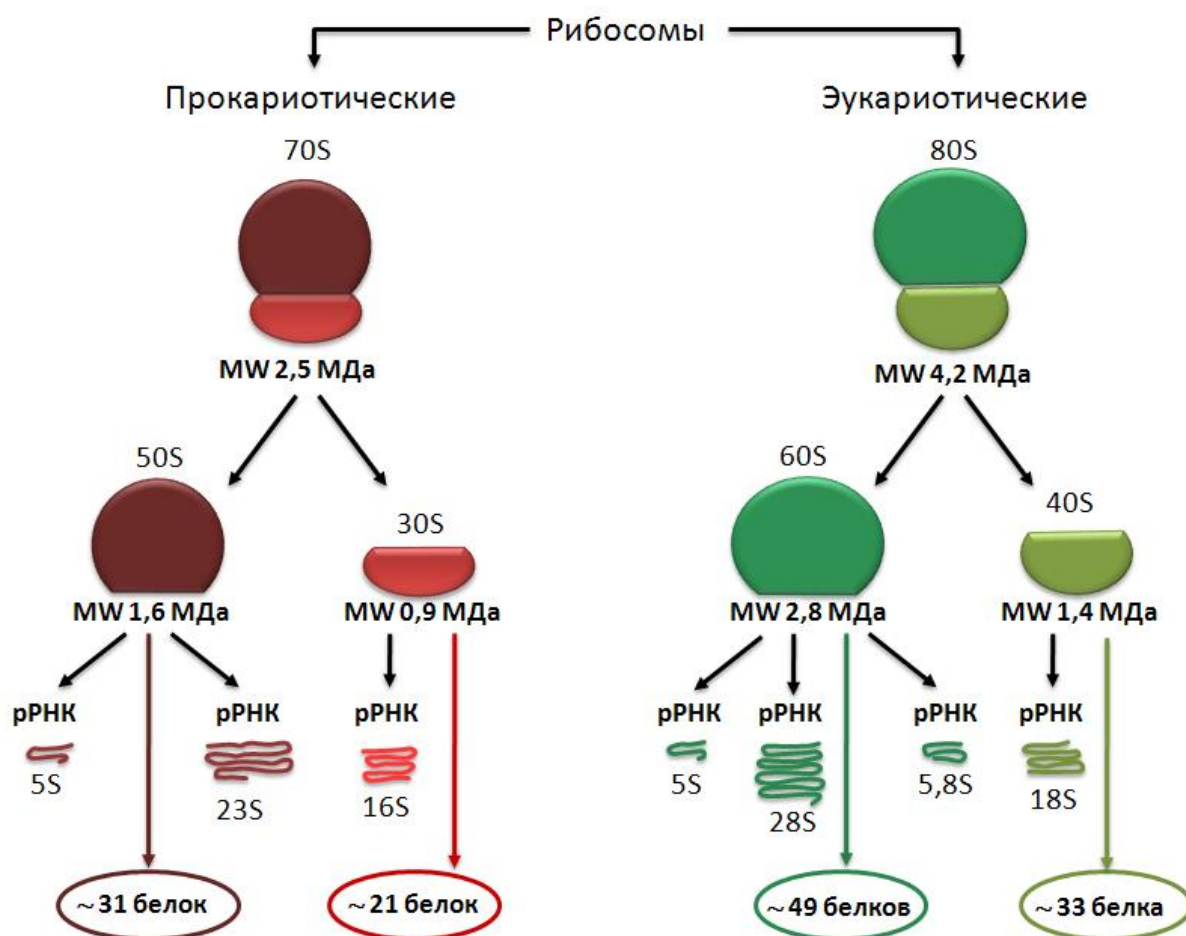


Рис. 41. Схема строения прокариотических и эукариотических рибосом

В рибосоме сформировано несколько функциональных центров (рис. 42):

- М-центр: место связывания малой субъединицы рибосомы с мРНК; содержит последовательность, комплементарную фрагменту на 5'-конце мРНК (последовательность анти-Шайна-Дальгарно);

- Р-центр (пептидильный): в начале трансляции с ним связывается инициаторная аминоацил-тРНК, затем здесь располагается пептидил-тРНК;
- А-центр (аминоацильный): место связывания с очередной аминоацил-тРНК;
- РТ-центр (пептидилтрансферазный): место образования пептидной связи (локализован в большой субъединице);
- Е-сайт (от англ. *exit* – выход): место выхода освободившейся тРНК из рибосомы.

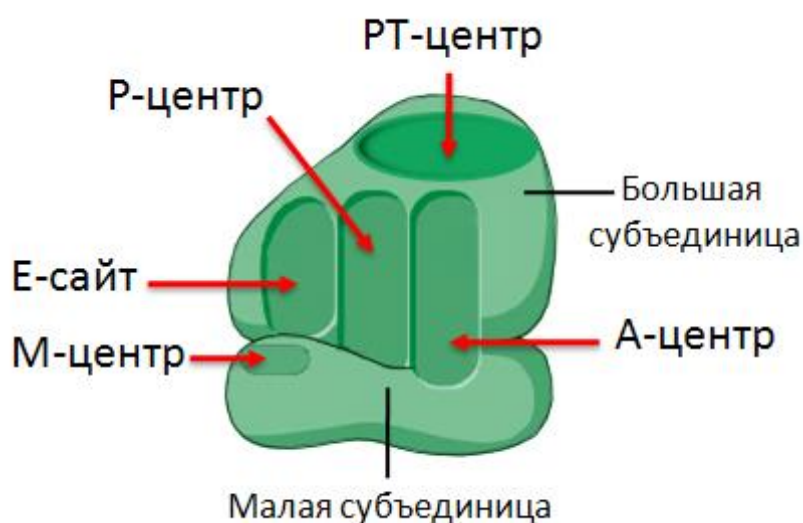


Рис. 42. Функциональные центры рибосомы

Процесс трансляции включает в себя три этапа: инициация (начало синтеза полипептидной цепи), элонгация (удлинение цепи), терминация (завершение синтеза) (рис. 43). Синтез белка в большинстве случаев начинается с АУГ-кодона, кодирующего метионин, – это стартовый или инициаторный кодон. Инициация трансляции предусматривает узнавание рибосомой стартового кодона и привлечение инициаторной аминоацил-тРНК. Механизмы инициации трансляции у про- и эукариот существенно отличаются: прокариотические рибосомы потенциально способны находить стартовый АУГ и иницировать синтез на любых участках мРНК, в то время как эукариотические рибосомы обычно присоединяются к мРНК в области кэпа и

сканируют её в поисках стартового кодона.

На этапе инициации малая субъединица рибосомы присоединяется к мРНК в определенном месте – консенсусной последовательности, состоящей из шести нуклеотидов АГГАГГ (у прокариот – последовательность Шайна-Дальгарно). Комплементарная ей последовательность (последовательность анти-Шайна-Дальгарно) располагается на 3'-конце молекулы 16S рРНК.

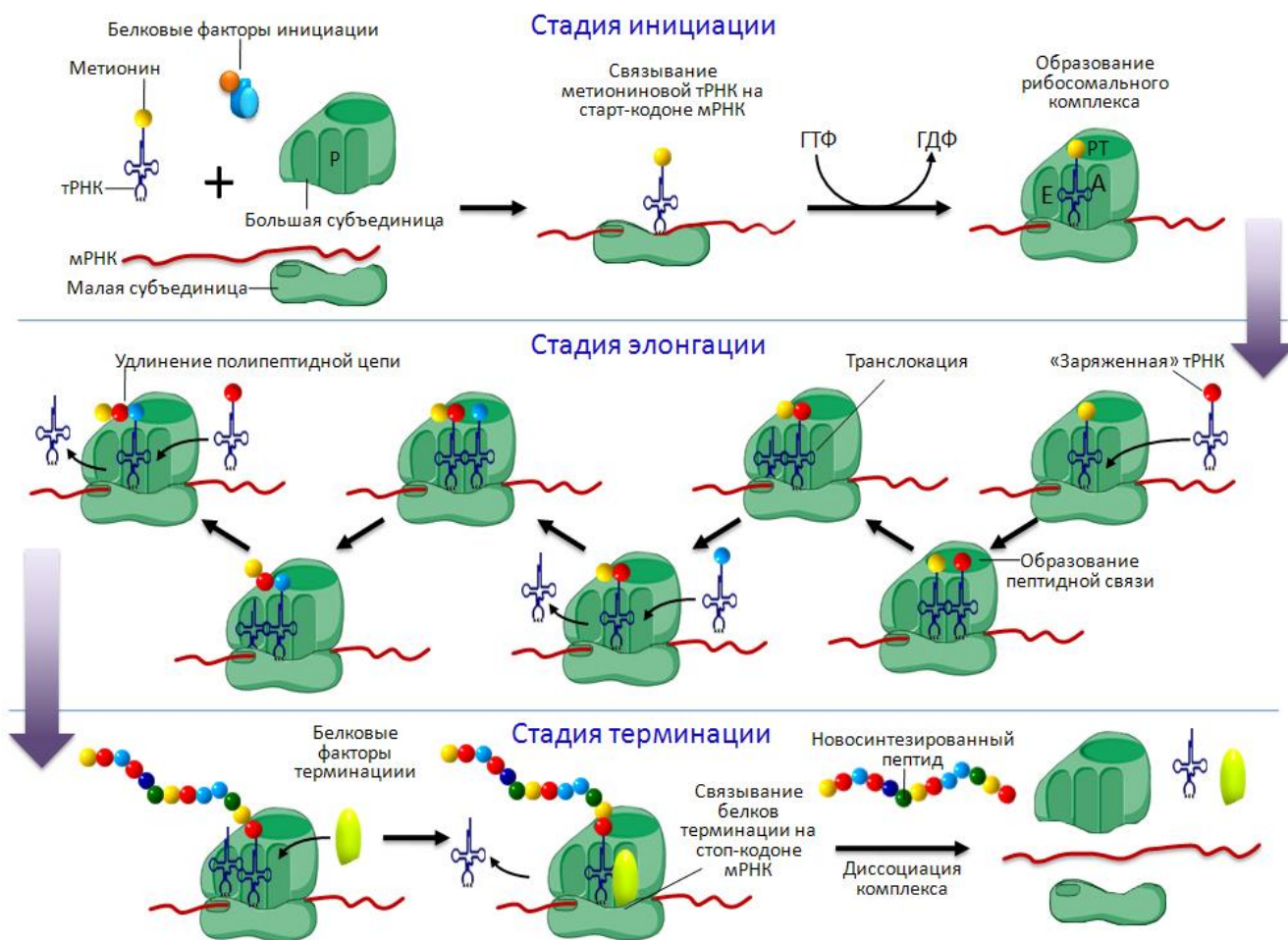


Рис. 43 Этапы трансляции

Взаимодействие между этими последовательностями необходимо для смещения старт-кодона мРНК в Р-сайт рибосомы для начала биосинтеза белка. В момент образования комплекса последовательностей Шайна–Дальгарно и анти-Шайна–Дальгарно с малой рибосомной субъединицей связываются специальные белковые факторы инициации трансляции, а также инициаторная формилметионил-

тРНК, несущая первую аминокислоту формилметионин. К образовавшемуся преинициаторному комплексу присоединяется большая субъединица рибосомы таким образом, что иницирующая тРНК оказывается в Р-центре, а А-центр остается свободным.

На этапе элонгации следующая тРНК, несущая аминокислоту и комплементарная второму кодону на мРНК, поступает в А-центр рибосомы. Образуется пептидная связь между формилметионином, находящемся в Р-центре и аминокислотой, принесённой тРНК в А-центр. Реакция транспептидации (образование пептидной связи) происходит в пептидилтрансферазном центре. После образования пептидной связи, полипептид оказывается связанным с тРНК, находящейся в А-сайте.

На следующем этапе деацилированная формилметионил-тРНК сдвигается из Р-сайта в Е-сайт, пептидил-тРНК сдвигается из А-сайта в Р-сайт, а мРНК продвигается на один кодон. Этот процесс называется транслокацией и происходит с затратой энергии (ГТФ) при участии специального транслокационного белкового фактора (EF-G).

Далее тРНК, комплементарная следующему кодону мРНК, связывается с освободившимся А-сайтом рибосомы, что ведёт к повторению описанных выше этапов, а образуемый полипептид удлиняется на один аминокислотный остаток с каждым циклом.

Стоп-кодоны (УАГ, УГА, УАА) сигнализируют об окончании трансляции. На этапе терминации специальные белковые факторы катализируют гидролитическое отщепление полипептида от тРНК; тРНК отделяется от рибосомы, рибосома диссоциирует на субъединицы.

### **3.4. Посттрансляционная модификация и фолдинг белков**

Матричный биосинтез полипептидных цепей на рибосомах в большинстве случаев не приводит непосредственно к образованию функционально значимого белка. Образовавшаяся полипептидная цепь должна претерпеть некоторые дополнительные химические превращения уже вне рибосомы. Так как эти превращения происходят

после того, как считана информация, привнесенная матричной РНК, т.е. закончена трансляция мРНК, то эти дополнительные процессы получили название **посттрансляционной модификации полипептидной цепи**.

Выделяют две основные группы процессов посттрансляционной модификации белков. Одна из них – это протеолитические процессы, представляющие собой расщепление определенных пептидных связей, которое приводит к отщеплению части образовавшихся пептидных фрагментов. Примером такой реакции является процесс регуляции активности ферментов путем ограниченного протеолиза. Известно, что некоторые белки-ферменты синтезируются в виде неактивных предшественников (проферментов) и активируются в результате гидролиза одной или нескольких пептидных связей с N-конца полипептидной цепи, что приводит к отщеплению части белковой молекулы профермента. В результате в оставшейся части белковой молекулы происходит конформационная перестройка, формируется активный центр и фермент становится активным. Ограниченный протеолиз лежит в основе активации протеолитических ферментов ЖКТ, белков свертывающей системы крови и системы фибринолиза, а также белково-пептидных гормонов. Например, трипсиноген, синтезируемый в поджелудочной железе, поступает в кишечник, где на него действует фермент энтеропептидаза. В результате происходит ограниченный протеолиз с отщеплением гексапептида. При этом в оставшейся части молекулы формируется активный центр и образуется активный трипсин.

Вторая группа процессов посттрансляционной модификации белков – это процессы, которые приводят к химической модификации боковых радикалов аминокислотных остатков, как правило, не затрагивающих полипептидного остова. Например, присоединение химической группы к аминокислотным остаткам белковой цепи: фосфорной кислоты (фосфорилирование), карбоксильной группы (карбоксилирование), метильной группы (метилование), гидроксильной группы (гидроксилирование), йода (йодирование) и др. К данной группе процессов относится также включение простетической груп-

пы в состав белков, включение углеводных остатков (гликирование), гема (например, при синтезе гемоглобина, миоглобина, цитохромов), витаминных коферментов (биотина, ФАД, пиридоксальфосфата и т.п.), а также объединение протомеров в единый олигомерный белок (например, гемоглобин).

Химическая модификация белков необходима не только для проявления и регуляции их функциональной активности. Еще одна большая группа модификаций вводит в белки метки, обеспечивающие определенную внутриклеточную локализацию белков, в том числе направление их в протеосомы для последующего переваривания. Примером такой модификации является присоединение ферментами убиквитин-лигазами одного или нескольких (чаще) мономеров убиквитина с помощью ковалентной связи к боковым аминокетильным группам белка-мишени. Присоединение убиквитина влияет на внутриклеточную локализацию и функцию белков. Как правило, белки, помеченные мультиубиквитиновыми цепями, подвергаются деградации путем расщепления на протеосомах.

Некоторые процессы посттрансляционной модификации непосредственно или косвенно отвечают за формирование определенной высокоспецифичной пространственной структуры белка. Процесс укладки вытянутой полипептидной цепи в правильную трехмерную пространственную структуру называется **фолдингом** (от англ. *fold* – складывать). Для обеспечения фолдинга используется группа вспомогательных белков под названием шапероны (от франц. *chaperon* – спутник, нянька). Они предотвращают взаимодействие новосинтезированных белков друг с другом, изолируют гидрофобные участки белков от цитоплазмы и убирают их внутрь молекулы, правильно располагают белковые домены. Шапероны способны исправить неправильную конформацию белка, связываются с гидрофобными участками неправильно уложенных белков, помогают им свернуться и достигнуть стабильной нативной структуры и, тем самым, предотвращают их включение в нерастворимые и нефункциональные агрегаты.

Кроме того, шапероны обеспечивают транспорт многих белков

из одного компартмента клетки в другой, участвуют во внутриклеточных сигнальных путях (например, путях апоптоза), регулируют функции различных молекул (например, транскрипционных факторов). Шапероны участвуют в защите клеточных белков от денатурирующих воздействий, таких как высокая температура (шапероны относятся к белкам теплового шока), гипоксия, ультрафиолетовое излучение, изменение рН среды, действие токсичных химических веществ, тяжёлых металлов и т.д.

Существует ряд заболеваний, этиология и патогенез которых связаны с нарушениями фолдинга. Например, в результате нарушения функции шаперонов и отсутствия фолдинга в клетке накапливаются плохо растворимые, способные к агрегации молекулы, образующие в клетках фибриллярные отложения – амилоид. Интенсивность клинических проявлений зависит от локализации и распространенности амилоидных отложений. Одним из примеров является нейродегенеративное заболевание Болезнь Альцгеймера, патогенез которого связан с накоплением амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков в тканях мозга.

Аномалиями фолдинга обусловлены и прионные болезни, индуцируемые инородным белком прионом. Прионы – это белки с аномальной третичной структурой, которые способны катализировать конформационное превращение гомологичного нормального клеточного белка в себе подобный. Как правило, при переходе белка в прионное состояние его  $\alpha$ -спирали трансформируются в  $\beta$ -слои. В клетках накапливаются патологические белки. Вокруг поражённых клеток начинаются воспалительные процессы. Накопление прионного белка сопровождается его агрегацией, образованием высокоупорядоченных фибрилл (амилоидов), что в конце концов приводит к гибели клетки. Высвободившийся прион, по-видимому, способен проникать в соседние клетки, также вызывая их гибель. Таким образом, прионы рассматриваются как особый класс инфекционных агентов, чисто белковых, не содержащих нуклеиновых кислот, вызывающих тяжёлые заболевания центральной нервной системы у человека и ряда высших животных (так называемые «медленные» инфекции). Приме-



рами прионных заболеваний являются болезнь Крейтцфельдта-Якоба (коровье бешенство), фатальная семейная бессонница, болезнь Куру и др.

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Дайте общую характеристику первичной и вторичной структуры белка. Какие типы химических связей стабилизируют белковые молекулы? Дайте характеристику конформациям типа  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -листа.
2. Дайте общую характеристику третичной структуры белка. Каковы характерные особенности глобулярных и фибриллярных белков?
3. Охарактеризуйте четвертичную структуру белка. Каковы характерные особенности белковых доменов?
4. Перечислите и охарактеризуйте функции белков в клетке.
5. Перечислите и охарактеризуйте свойства генетического кода. Как была доказана триплетность генетического кода?
6. Охарактеризуйте адаптерную теорию трансляции. Какие молекулы являются адаптерами в процессе трансляции? Опишите строение и функции транспортной РНК.
7. Опишите строение и функции фермента аминоксил-тРНК-синтетазы.
8. Опишите строение и функции рибосом. Какие функциональные центры представлены в рибосоме?
9. Изобразите схематично и охарактеризуйте этапы трансляции.
10. Назовите и охарактеризуйте отдельные варианты посттрансляционной модификации белков.
11. Определите термин «фолдинг». Охарактеризуйте функции белков-шаперонов. Приведите примеры болезней, связанных с аномалиями фолдинга.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

*Выберите один или несколько правильных ответов.*

1. КОД ДНК ВЫРОЖДЕН ПОТОМУ, ЧТО
  - а) одна аминокислота шифруется одним кодоном
  - б) между кодонами одного гена есть «знаки препинания»
  - в) несколько аминокислот шифруется одним кодоном
  - г) одна аминокислота шифруется несколькими кодонами
  
2. СИНТЕЗ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ МОЖЕТ БЫТЬ ПРЕКРАЩЕН СЛЕДУЮЩИМ ТРИПЛЕТОМ
  - а) ГАУ
  - б) ААГ
  - в) УАА
  - г) АГУ
  
3. ОДНОЗНАЧНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА ПРОЯВЛЯЕТСЯ В ТОМ, ЧТО КАЖДЫЙ ТРИПЛЕТ КОДИРУЕТ
  - а) несколько аминокислот
  - б) не более двух аминокислот
  - в) три аминокислоты
  - г) одну аминокислоту
  
4. ОБРАЗОВАНИЕ ГЛОБУЛЫ ХАРАКТЕРНО ДЛЯ СЛЕДУЮЩЕЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКА
  - а) первичная
  - б) вторичная
  - в) третичная
  - г) четвертичная
  
5. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЕДИНИЦА ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА
  - а) нуклеотид
  - б) триплет
  - в) аминокислота
  - г) тРНК
  
6. ОБРАЗОВАНИЕ ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ В РИБОСОМЕ МЕЖДУ ДВУМЯ АМИНОКИСЛОТАМИ ПРОИСХОДИТ ЗА СЧЕТ ФЕРМЕНТА
  - а) пептидилтрансферазы
  - б) пептидилтрансферазы
  - в) каталазы
  - г) лигазы

7. м-РНК ПРИКРЕПЛЯЕТСЯ К РИБОСОМЕ В
- а) А-центре
  - б) Р-центре
  - в) Е-центре
  - г) М-центре
8. СИГНАЛОМ ДЛЯ ПРИСОЕДИНЕНИЯ мРНК К РИБОСОМЕ СЛУЖИТ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
- а) АТААТА
  - б) АГГАГГ
  - в) ЦТААТЦ
9. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ШАЙНА–ДАЛЬГАРНО В мРНК СЛУЖИТ
- а) терминацией транскрипции
  - б) инициацией трансляции
  - в) терминацией трансляции
10. ШАПЕРОНЫ ОТВЕТСТВЕННЫ ЗА
- а) биосинтез полипептидной молекулы
  - б) конформационные изменения полипептидной молекулы
  - в) изменения в структуре ДНК
  - г) изменения в структуре РНК
11. ПЕРВЫЙ ТРАНСЛЯЦИОННЫЙ КОДОН ОПРЕДЕЛЯЕТ АМИНОКИСЛОТУ
- а) фенилаланин
  - б) формиллейцин
  - в) изолейцин
  - г) метилтреонин
  - д) формилметионин
12. ПЕПТИДНАЯ СВЯЗЬ ОБРАЗУЕТСЯ ПРИ ПРИСОЕДИНЕНИИ:
- а) метильной группы к аминной группе
  - б) карбоксильной группы и аминной группы
  - в) гидроксильной группы и карбоксильной группы
13. АКТИВИРОВАННАЯ АМИНОКИСЛОТА ПРИСОЕДИНЯЕТСЯ К
- а) антикодоновой петле транспортной РНК
  - б) псевдоуридиновой петле транспортной РНК
  - в) дигидроуридиновой петле транспортной РНК
  - г) акцепторному стеблю транспортной РНК
14. В ПРОЦЕССЕ ЭЛОНГАЦИИ ВО ВРЕМЯ ТРАНСЛЯЦИИ В РИБОСОМЕ ОДНОВРЕМЕННО МОЖЕТ НАХОДИТЬСЯ МАКСИМАЛЬНО
- а) четыре аминоацил-тРНК

- б) три аминоксил-тРНК
- в) две аминоксил-тРНК
- г) одна аминоксил-тРНК

15. РИБОСОМЫ ПРОДВИГАЮТСЯ ВДОЛЬ МОЛЕКУЛЫ мРНК В НАПРАВЛЕНИИ

- а) 3' → 5'
- б) 5' → 3'

16. ЧИСЛО ВОЗМОЖНЫХ СОЧЕТАНИЙ ТРЕХ НУКЛЕОТИДОВ ЧЕТЫРЕХ ТИПОВ РАВНО 64. ТРИ КОДОНА ИЗ НИХ (УАА, УАГ, УГА) НЕ КОДИРУЮТ АМИНОКИСЛОТ. ИХ НАЗЫВАЮТ

- а) миссенс-кодонами
- б) сейсменс-кодонами
- в) стоп-кодонами или терминирующими кодонами

17. СКОРОСТЬ ОСЕДАНИЯ ПРИ УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИИ ИЗМЕРЯЕТСЯ ЕДИНИЦАМИ СВЕДБЕРГА (S). ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ РИБОСОМЕ СООТВЕТСТВУЕТ

- а) 75S – большая и 25S – малая субъединицы
- б) 80S – большая и 22S – малая субъединицы
- в) 50S – большая и 30S – малая субъединицы
- г) 60S – большая и 40S – малая субъединицы

18. СКОРОСТЬ ОСЕДАНИЯ ПРИ УЛЬТРАЦЕНТРИФУГИРОВАНИИ ИЗМЕРЯЕТСЯ ЕДИНИЦАМИ СВЕДБЕРГА (S). ПРОКАРИОТИЧЕСКОЙ РИБОСОМЕ СООТВЕТСТВУЕТ

- а) 75S – большая и 25S – малая субъединицы
- б) 80S – большая и 22S – малая субъединицы
- в) 50S – большая и 30S – малая субъединицы
- г) 60S – большая и 40S – малая субъединицы

19. ОБРАЗОВАНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ АМИНОКИСЛОТНЫМИ ОСТАТКАМИ ПРОИСХОДИТ В

- а) аминоксильном центре рибосомы
- б) малой субъединице рибосомы
- в) пептидилтрансферазном центре рибосомы

20. ИЗОАКЦЕПТОРНЫМИ НАЗЫВАЮТСЯ тРНК, КОТОРЫЕ

- а) переносят одинаковые аминокислоты, но содержат различные антикодоны
- б) переносят метионин
- в) переносят разные аминокислоты, но содержат одинаковые антикодоны

## РАЗДЕЛ IV

# РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Экспрессия генов – это процесс, в ходе которого наследственная информация от гена (последовательности нуклеотидов ДНК) преобразуется в функциональный продукт – РНК или белок. Реализация наследственной информации является сложным процессом и требует регуляции, чтобы в процессе развития организма в клетках с разной тканевой принадлежностью в определенное время обеспечивался синтез специфических белков в необходимом количестве. Таким образом, регуляция экспрессии генов позволяет клеткам, содержащим идентичную генетическую информацию, обеспечивать их пролиферацию и дифференцировку, реализуя разные функции.

Известно несколько типов механизмов, с помощью которых один и тот же набор генов в неодинаковых условиях жизнедеятельности организма и на разных стадиях развития детерминирует синтез белков. Механизмы регуляции экспрессии генов действуют на всех уровнях реализации генетической информации: генном, транскрипционном, трансляционном и функциональном. Первый из них связан с изменением количества или локализации генов, контролирующих данный признак. Второй – определяет, сколько и какие мРНК должны синтезироваться в данный момент в клетке. Третий – обеспечивает отбор мРНК, транслирующихся на рибосомах. Четвертый связан с аллостерической регуляцией активности белков-ферментов.

Механизмы реализации генетической информации, связанные с транскрипцией и последующей трансляцией информации, которая зашифрована с помощью генетического кода, в про- и эукариотических клетках принципиально не различаются. Однако некоторые особенности организации наследственного материала, отличающие эукариотические клетки от прокариотических,

обуславливают различия в использовании их генетической информации. Наследственный материал прокариотической клетки содержится, главным образом, в единственной кольцевой молекуле ДНК. Она располагается непосредственно в цитоплазме клетки, где также находятся необходимые для экспрессии генов тРНК и ферменты, часть из которых заключена в рибосомах. Гены прокариот целиком состоят из кодирующих нуклеотидных последовательностей, реализующихся в ходе синтеза белков, тРНК или рРНК. Наследственный материал эукариот по объему больше, чем у прокариот, и расположен в основном в ядерных структурах (хромосомах), которые отделены от цитоплазмы ядерной оболочкой. Необходимый для синтеза белков аппарат, состоящий из рибосом, тРНК, набора аминокислот и ферментов, находится в цитоплазме клетки.

Таким образом, дивергентная эволюция геномов про- и эукариот привела к возникновению различий в организации их наследственного материала, что не могло не отразиться и на механизмах его экспрессии.

#### **4.1. Регуляция активности генов у прокариот**

Исследование механизмов регуляции генов, кодирующих утилизацию молочного сахара лактозы у бактерии кишечной палочки *E. coli*, позволило ученым-микробиологам Франсуа Жакобу и Жаку Моно в 1961 г. предложить модель координированного контроля работы структурных генов, известную как модель оперона. Оперон – это функциональная единица генома у прокариот, в состав которой входят цистроны (структурные гены), кодирующие совместно или последовательно работающие белки и объединенные под одним (или несколькими) промоторами (рис. 44).

Синтез мРНК со всех структурных генов оперона происходит в виде единого полицистронного транскрипта, с которого в дальнейшем в процессе трансляции синтезируются отдельные пептиды.

Транскрипция группы структурных генов регулируется двумя контролирующими элементами: геном-регулятором и оператором. Оператор представляет собой последовательность нуклеотидов, прилегающую к регулируемым структурным генам. Ген-регулятор может локализоваться рядом с опероном или на расстоянии от него. Продуктом гена регулятора является регуляторный белок, который по своей функциональной активности может быть репрессором или активатором. Таким образом, у прокариот выделяют два варианта регуляции активности генов: негативный и позитивный.

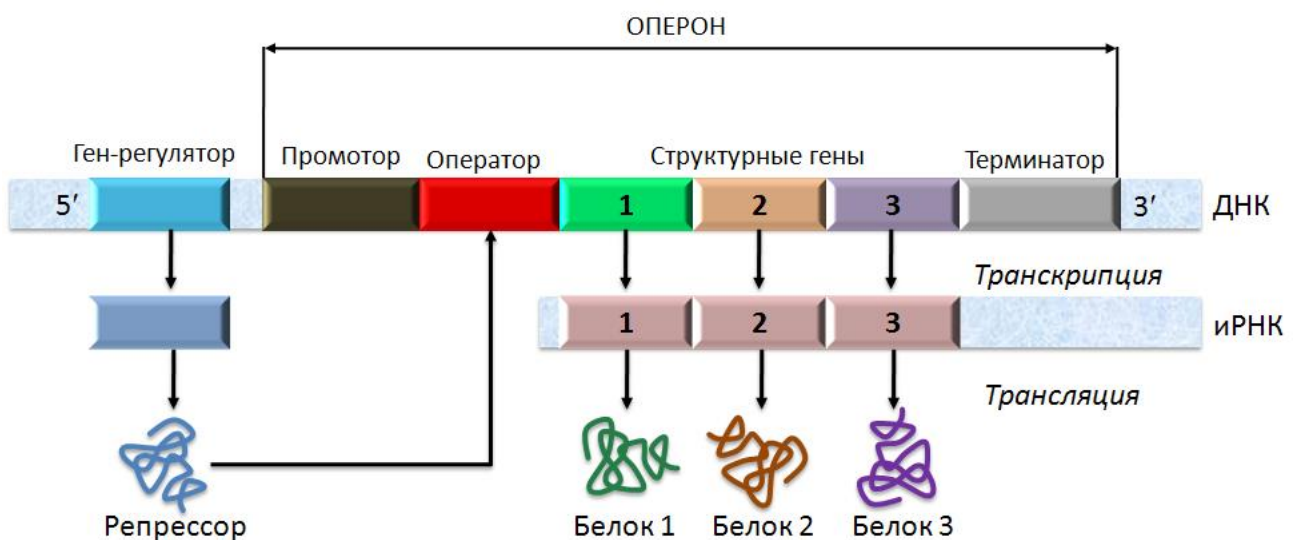


Рис. 44. Общая схема строения оперона у прокариот

При негативном варианте регуляции экспрессии генов регуляторный белок-репрессор прикрепляется к оператору и вызывает блокировку работы оперона, т.е. с него не происходит считывания информации – гены оперона «выключены». При позитивном варианте регуляции экспрессии генов происходит связывание регуляторного белка-активатора с оператором, что приводит к запуску считывания информации – гены оперона «включены».

Важно отметить, что включение либо выключение экспрессии генов происходит в ответ на изменения внешних условий. Например, в бактериальной клетке некоторые ферменты начинают синтезироваться с целью усвоения (метаболизма) определенных питательных



веществ (субстратов). Если субстраты удаляются из среды (либо они метаболизируются), то экспрессия генов, кодирующих соответствующие ферменты, прекращается. Вещества (субстраты), которые влияют на работу оперонов, называются эффекторами, и, в зависимости от типа их влияния на работу оперона, могут быть индукторами (включают экспрессию) либо репрессорами (подавляют экспрессию).

Таким образом, с учетом функциональной активности белков-регуляторов (негативный и позитивный контроль работы оперона), а также с учетом регуляторной роли эффекторных веществ (индукторов и репрессоров) можно выделить четыре типа регуляции экспрессии генов у прокариот: негативная индукция, негативная репрессия, позитивная индукция, позитивная репрессия. Рассмотрим подробнее данные механизмы регуляции на примере отдельных оперонов *E. coli*.

**Лактозный оперон** (*lac*-оперон) кишечной палочки обеспечивает сбраживание молочного сахара – лактозы. Лактозный оперон включает в себя промотор, оператор и три структурных гена (цистрона) *Z*, *Y* и *A*, транскрипция которых запускается по сигналу с одного промотора и приводит к синтезу одной полицистронной мРНК (рис. 44).

Цистрон (структурный ген) *lac Z* кодирует белок  $\beta$ -галактозидазу (лактазу) – фермент, который обеспечивает гидролитический распад  $\beta$ -галактозида лактозы на галактозу и глюкозу. Экспрессия структурных генов *lac Y* и *lac A* обеспечивает синтез галактозидпермеазы и трансацетилазы соответственно. Фермент галактозидпермеаза отвечает за транспорт сахаров, в том числе и лактозы, внутрь бактериальной клетки. Трансацетилаза защищает кишечную палочку от потенциально опасных  $\beta$ -галактозидов, которые не подвергаются метаболизму. Даже если кишечная палочка культивируется в питательной среде, содержащей глюкозу (основной субстрат для окисления и получения энергии), все перечисленные белки, как правило, присутствуют в клетках *E. coli*, но в следовых количествах. В случае, когда в среде в качестве единственного источника углерода и энергии оказывается лактоза, то концентрация ферментов, метаболизирующих лактозу, возрастает в 1000 раз.

Очевидно, что если в питательную среду, на которой культивируется дикий штамм *E. coli* вместо глюкозы добавить лактозу, то штамм не будет расти, пока не будут синтезированы необходимые ферменты для ее метаболизма (адаптивный синтез). Пока в среде есть глюкоза, но нет лактозы, гены лактозного оперона не экспрессируются – оперон выключен. Это один из примеров негативной регуляции экспрессии генов (рис. 45).

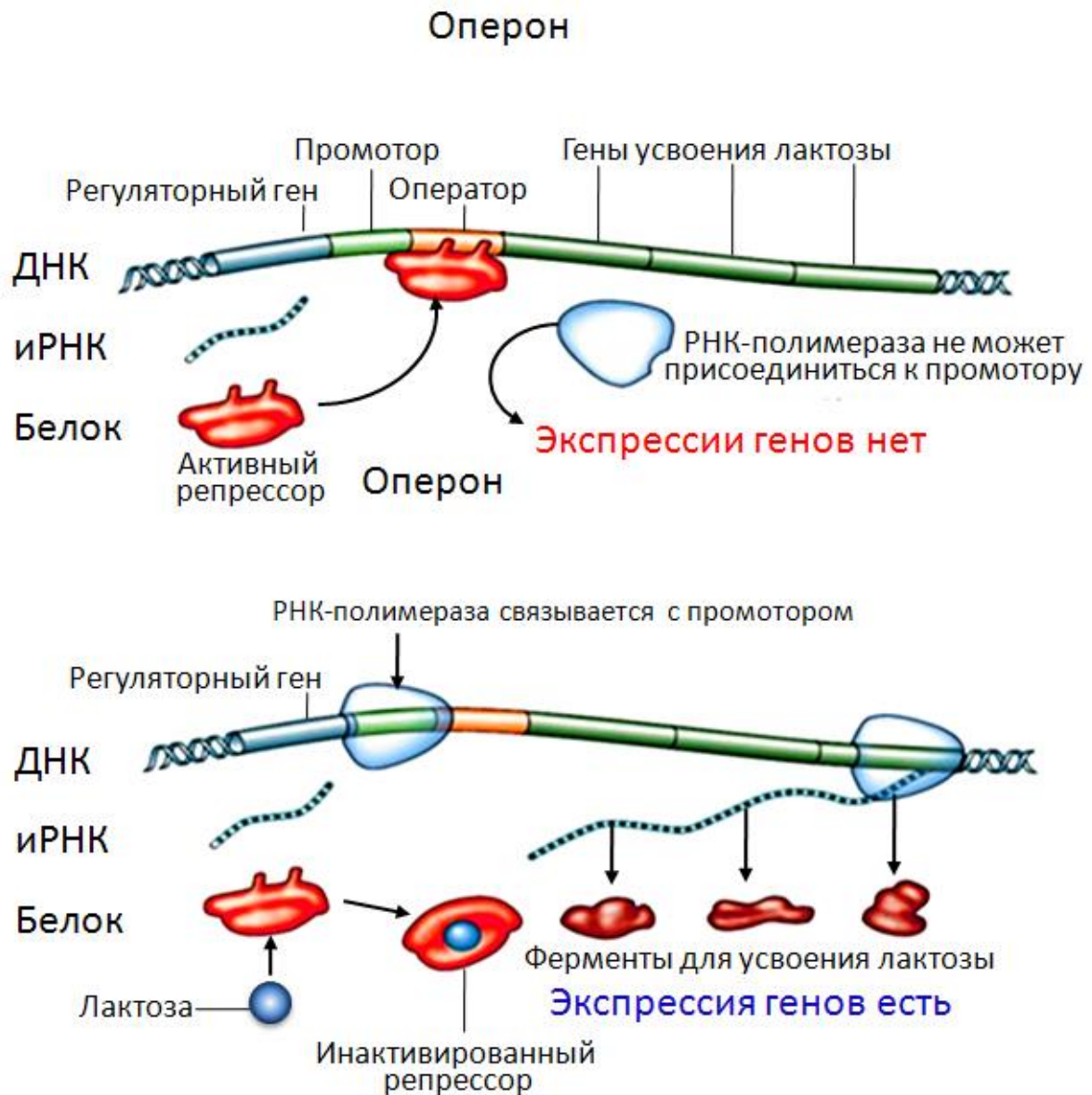


Рис. 45. Регуляция экспрессии генов лактозного оперона по типу негативной индукции

Механизм его заключается в следующем. С гена-регулятора экспрессируется белок-репрессор, который взаимодействует с оператором лактозного оперона и блокирует продвижение РНК-полимеразы к структурным генам. Появление лактозы в культуральной среде приводит к запуску (индукции) экспрессии: лактоза (индуктор) взаимодействует с белком-репрессором и не позволяет ему связаться с геном-оператором, в результате чего его блокирующее действие нейтрализуется, оперон становится функционально активным и структурные гены транскрибируются. Такой вариант регуляции работы оперона является примером **негативной индукции**.

Жак Моно провел эксперимент, в ходе которого выявил, что помимо негативной регуляции, функционирование *lac*-оперона *E. coli* находится под контролем и позитивно влияющих факторов. Механизм позитивной регуляции лактозного оперона заключается в следующем. Транскрипция структурных генов лактозного оперона находится под контролем двух элементов: цАМФ и белка-активатора катаболизма САР (catabolite activator protein). Промотор лактозного оперона содержит два сайта связывания: первый взаимодействует с РНК-полимеразой, второй – с комплексом цАМФ-САР. Комплекс цАМФ-САР повышает сродство РНК-полимеразы к промотору, что позитивно влияет на транскрипцию генов *lac*-оперона. Этот механизм функционирует в том случае, когда в среде низкая концентрация глюкозы, но высокая концентрация лактозы. Когда в среде появляется глюкоза, она угнетает активность фермента аденилатциклазы (катализирует наработку в клетке цАМФ), в результате концентрация цАМФ снижается, комплекс цАМФ-САР не образуется, транскрипция не идет. Такой вариант регуляции работы оперона является примером **позитивной репрессии**, благодаря которой в культуральной среде в первую очередь используется вся имеющаяся глюкоза, так как она является самым эффективным источником энергии, а потом только начинается утилизация лактозы.

Аналогичный вариант регуляции реализуется в **арабинозном опероне** *E. coli*. В его промоторе также имеется участок связывания САР с цАМФ, благодаря которому экспрессия оперона активизируется,

когда глюкоза заканчивается.

Для арабинозного оперона существует и еще один вариант регуляции – по типу **позитивной индукции**. Арабинозный оперон содержит в себе три структурных гена (*araB*, *araA* и *araD*), которые кодируют ферменты метаболизма арабинозы. Работа оперона контролируется регуляторным белком – продуктом регуляторного гена *araC*, который имеет собственный промотор. Белок *araC* негативно регулирует собственный синтез: связывается с оператором и не позволяет РНК-полимеразе связаться с собственным промотором. Таким образом, в отсутствие арабинозы белок *araC* функционирует как репрессор. Если в культуральной среде появляется арабиноза, она выступает в роли индуктора – связывается с белком-регулятором *araC*, изменяет его конформацию и превращает его в белок-активатор. В таком состоянии *araC* взаимодействует с промотором и помогает РНК-полимеразе начать транскрипцию генов *araB*, *araA* и *araD*.

Лактозный и арабинозный опероны *E. coli* являются примерами, так называемых, **катаболических оперонов**, в которых закодирована информация о белках, принимающих участие в процессах расщепления сложных молекул до более простых и протекающих с выделением энергии. Существуют и **анаболические опероны**, гены которых ответственны за процессы синтеза сложных веществ из простых. Примером такого оперона является **триптофановый оперон *E. coli***. Синтез триптофана в бактериальной клетке является многостадийным процессом: вначале хоризмовая кислота превращается в антраниловую кислоту, затем в фосфорибозилантранилат, далее в индолглицерофосфат и на следующем этапе в триптофан. Эта цепь ферментативных реакций кодируется пятью структурными генами, образующими триптофановый оперон. Ген-регулятор *trpR* локализуется на значительном расстоянии от триптофанового оперона и кодирует структуру белка-репрессора. Последний синтезируется в неактивном состоянии (апорепрессор) и не может заблокировать транскрипцию генов, кодирующих ферменты синтеза триптофана. Синтез триптофана будет в клетке продолжаться до тех пор, пока в питательной среде не накопится много этой аминокислоты. Триптофан выступает в каче-

стве корепрессора и, соединяясь с белком-репрессором, активирует его. Далее такой активный комплекс присоединяется к оператору и блокирует транскрипцию. Таким образом, при наличии триптофана в среде прекращается его внутриклеточный синтез. Такой вариант регуляции является примером **негативной репрессии**.

Однако, это не единственный вариант регуляции активности триптофанового оперона. Как и для других анаболических бактериальных оперонов, контролирующих биосинтез аминокислот, регуляция биосинтеза триптофана осуществляется на нескольких уровнях. Один из них связан с ингибированием конечным продуктом, не затрагивающим непосредственно активность генов. Суть этого феномена состоит в том, что один из продуктов биосинтетической цепи, обычно конечный, подавляет активность продуктов – предшественников. Например, при высоких концентрациях триптофана в среде фермент антранилатсинтетаза обладает значительно меньшим сродством к своим субстратам – глутаминовой и хоризмовой кислотам. Ингибирование конечным продуктом не следует путать с репрессией, то есть с ингибированием синтеза фермента в результате выключения транскрипции кодирующего его гена.

Существует еще и третий уровень регуляции работы триптофанового оперона – аттенюация. Этот способ регуляции возможен потому, что у прокариот, лишенных ядра, процессы транскрипции и трансляции не разделены во времени и пространстве, как у эукариот, и идут одновременно: пока РНК-полимераза синтезирует мРНК, синтезированный участок этой мРНК транслируется рибосомой. В связи с этим процесс трансляции может оказывать непосредственное влияние на транскрипцию оперона.

В триптофановом опероне сразу после оператора располагается последовательность длиной 162 п.н., получившая название лидерной последовательности. Она кодирует так называемый лидерный пептид, который получил такое название, поскольку с полицистронной мРНК триптофанового оперона этот пептид синтезируется первым. В состав лидерной последовательности входит особая аттенюаторная последовательность (аттенюатор), которая, влияя на вторичную структуру

синтезируемой мРНК, способна вызывать преждевременную терминацию транскрипции. Аттенюатор имеет четыре области с обращёнными повторами, поэтому транскрипция аттенюатора приводит к образованию шпилек в мРНК (рис. 46).

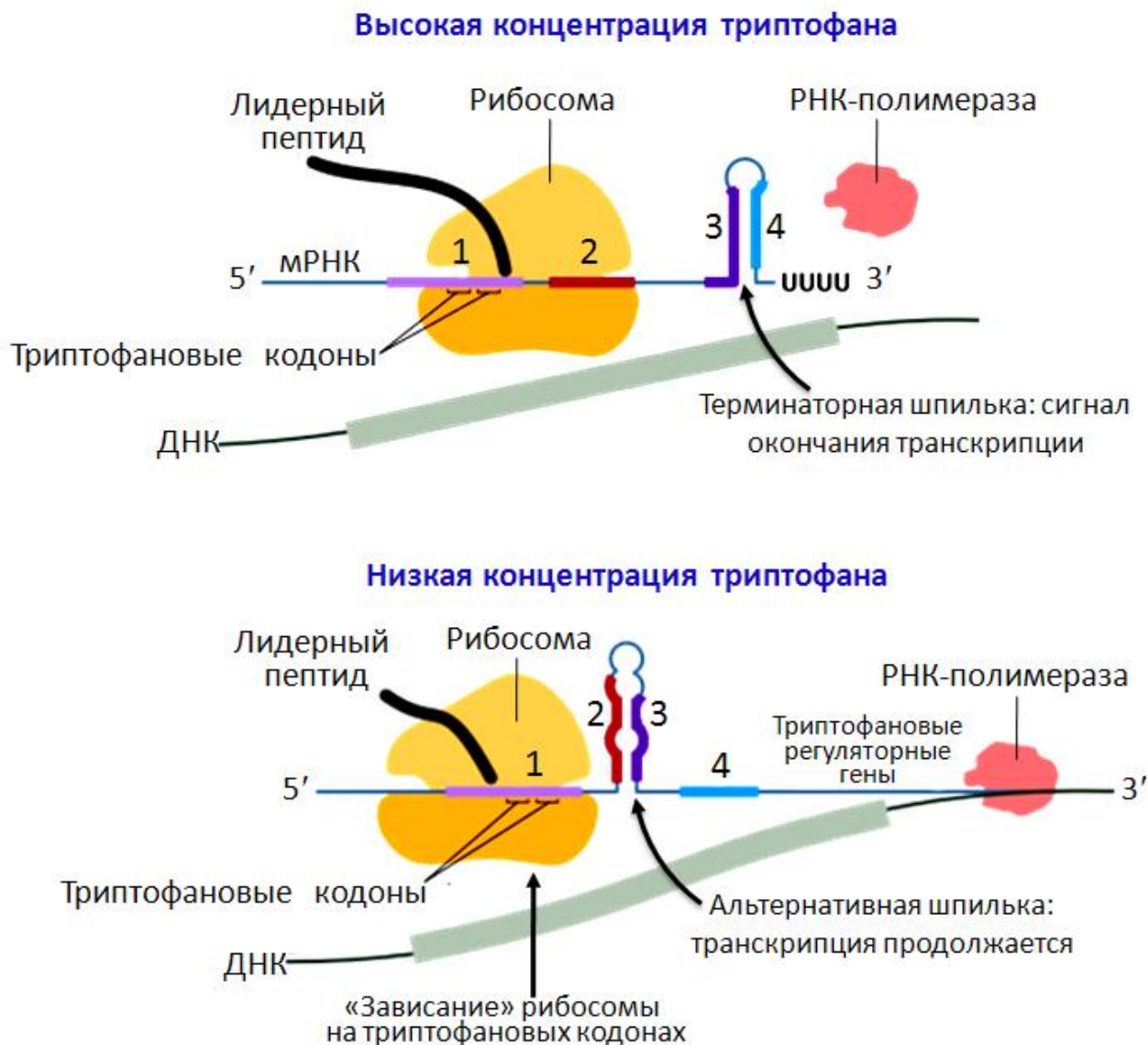


Рис. 46. Аттенюация триптофанового оперона

Возможны 3 варианта шпилек, а именно между последовательностями: 1-2, 2-3, 3-4. При этом образование шпильки 1-2 блокирует образование шпильки 2-3, а образование шпильки 2-3, в свою очередь, препятствует образованию шпильки 3-4. Только шпилька 3-4 является терминаторной, то есть при её образовании

РНК-полимераза с высокой вероятностью диссоциирует от ДНК, и транскрипция прерывается.

Часть лидерного транскрипта кодирует короткий пептид длиной 14 аминокислотных остатков – лидерный пептид. Этот пептид содержит 2 располагающихся друг за другом триптофановых остатка. Триптофан – редкая аминокислота (на 100 остатков аминокислот белка *E. coli* приходится 1 триптофановый остаток), в условиях нехватки триптофана внутриклеточная концентрация триптофанил-тРНК становится очень низкой и рибосома начинает «зависать» на триптофановых кодонах, так как соответствующий комплекс не может «найтись» быстро. Остановившись на двух триптофановых кодонах, рибосома закрывает первую из 4-х областей обращённых повторов. Из-за этого образуется шпилька 2-3, а терминаторная шпилька 3-4 не образуется, и транскрипция продолжается дальше в область структурных генов. Итак, в условиях недостатка триптофана образуются ферменты, необходимые для его синтеза.

Если же концентрация триптофана высока, то «зависания» рибосомы на триптофановых кодонах не происходит: необходимый комплекс триптофанил-тРНК находится быстро. В этом случае рибосома закрывает уже не одну первую, а две первые области обращённых повторов. Остаются свободными области 3 и 4, из-за чего формируется терминаторная шпилька 3-4, а значит, транскрипция останавливается. В итоге образуется лишь короткий нефункциональный пептид. Таким образом, в условиях избытка триптофана ферменты, необходимые для его синтеза, не образуются.

Для правильной работы аттенюатора чрезвычайно важна одновременность процессов транскрипции и трансляции лидерного пептида. Чтобы обеспечить её, в лидерной области имеется особый «сайт паузы». Достигнув его, РНК-полимераза приостанавливает транскрипцию, пока не начнётся трансляция. Таким образом, процессы транскрипции и трансляции протекают синхронизировано. Схожий механизм аттенюации имеет место при синтезе других аминокислот: гистидина, фенилаланина и треонина.



## 4.2. Регуляция активности генов у эукариот

Основные принципы регуляции транскрипции генов у прокариотических и эукариотических организмов сходны: регуляция осуществляется через специфические взаимодействия белков и нуклеиновых кислот друг с другом, а также между собой. Однако, в связи с особенностями строения генов и организации генома в целом, механизмы регуляции генной активности у эукариот намного разнообразнее и сложнее по сравнению с прокариотами. Прежде всего, это связано с необходимостью поддержания координированной экспрессии эукариотических генов в сложно организованной генетической системе, которая имеет свои особенности:

- эукариоты превосходят прокариот по размерам генома, клетки и организма в целом;
- организм эукариот может состоять из разных типов клеток, жизненный цикл которых более сложен и продолжителен;
- ядерная ДНК находится не в одной молекуле, а представлена несколькими разными молекулами, формирующими хромосомы;
- кроме ядерной ДНК у эукариот имеется ДНК митохондрий и хлоропластов, которая также находится под контролем ядра;
- ввиду наличия ядра процессы транскрипции и трансляции генов у эукариот разделены в пространстве и во времени.

В организме человека гистологически различают более 100 типов клеток, формирующих различные органы и ткани. Все этапы жизнедеятельности клеток высших организмов обеспечиваются функционированием их генов. В связи с этим у многоклеточных организмов в клетках разных тканей и в разных типах клеток одной ткани экспрессируются различные гены, то есть для эукариот характерно явление тканеспецифической экспрессии, обусловленное сложной системой регуляторных механизмов генетической активности.

Необходимо отметить, что в отличие от прокариот, у эукариот большинство генов репрессировано (выключено), поэтому регуляция направлена в основном на их включение. Например, в клетках эука-

риотического организма постоянно транскрибируется не более 7–10% генов, большинство из которых относится к группе «генов домашнего хозяйства» (housekeeping genes), обеспечивающих процессы гликолиза, катаболизма белков, биосинтеза протеинов общего назначения (рибосомальные белки, гистоны, белки, формирующие веретено деления и т.п.), транспортных и рибосомальных РНК. Гены, относящиеся к другой группе – «гены роскоши» (luxury genes) – экспрессируются лишь в определенных типах клеток при определенных метаболических условиях либо на отдельных этапах клеточной дифференцировки в зависимости от ее тканевой принадлежности, периода жизненного цикла и стадии индивидуального развития всего организма.

Тканеспецифический характер экспрессии генов роскоши обеспечивается различными механизмами, ключевым из которых является специфическое взаимодействие белковых факторов транскрипции с регуляторными последовательностями ДНК. В этом заключается комбинаторный принцип регуляции экспрессии генов у эукариот на уровне транскрипции: молекулы транскрипционных факторов (ТФ) обладают консервативными доменами, принимающими участие в различных высокоспецифических белок-белковых и белково-нуклеиновых взаимодействиях, что позволяет им, объединяясь в разных сочетаниях с другими регуляторными белками, формировать большие регуляторные комплексы. Таким образом, активность каждого гена регулируется большим спектром генов-регуляторов. Это комбинирование дает возможность собрать огромное количество уникальных управляющих «сигналов» (регуляторные комплексы) из небольшого числа «деталей» (ТФ, другие регуляторные белки). Например, относительно небольшое количество белковых факторов инициации транскрипции, образуя на промоторах разных генов разные сочетания, позволяет РНК-полимеразе II выбрать нужный ген и начать его транскрипцию, а необходимая активность каждого гена эукариот регулируется сочетанным влиянием большого количества генов-регуляторов. В результате реализации такого механизма достигается беспрецедентная гибкость в модуляции уровней транскрипции эукариотических генов и, соответственно, в контроле экспрессии фе-

нотипических признаков эукариотических клеток.

Регуляция на уровне транскрипции является основным уровнем регуляции экспрессии у эукариот. Варианты такой регуляции весьма разнообразны и на сегодняшний день не все они до конца изучены. Контроль транскрипции генов у эукариот условно можно подразделить на три уровня взаимодействия. Первый уровень – это уровень первичной структуры ДНК, которая формирует платформу взаимодействия, обеспечивая сайты связывания регуляторных последовательностей генома с ТФ. Второй уровень – это локальный уровень хроматина, который включает в себя модификацию геномной ДНК и гистонов, эффекты некодирующих РНК (малые ядерные РНК, длинные некодирующие РНК, микроРНК и др.), работу факторов транскрипции и взаимодействие между ними. Третий уровень взаимодействий – это трёхмерная упаковка генома (сворачивание ДНК в структуры более высокого порядка), обеспечивающая условия, которые могут облегчить либо заблокировать начало транскрипции.

Сложность процесса транскрипционной регуляции активности генов у эукариот связана со следующими обстоятельствами. Во-первых, экспрессия генов в эукариотических клетках осуществляется под действием трех разных РНК-полимераз, как уже было описано выше (см. раздел 2.2. Транскрипция: биосинтез РНК). Во-вторых, РНК-полимераза эукариот не может самостоятельно инициировать процесс транскрипции, необходима сборка преинициаторного комплекса, скорость формирования которого обуславливает скорость инициации транскрипции. В-третьих, у эукариот большое количество регуляторных белков могут влиять на скорость транскрипции, даже если эти белки связываются с регуляторными участками генома, расположенными очень далеко от промотора. Для большинства эукариотических клеток, как и для клеток прокариот, стадия инициации транскрипции является основной и главной регуляторной точкой экспрессии активности генов.

В геноме эукариот различают следующие виды регуляторных последовательностей:

– цис-элементы – это регуляторные последовательности, находящие-

ся на той же молекуле ДНК, что и регулируемый ими ген. К цис-элементам относятся промоторные области, энхансеры, сайленсеры, инсуляторы;

- транс-элементы – это регуляторные последовательности, которые находятся на другой молекуле ДНК (не на той, которая несет регулируемый ген). К транс-элементам относятся, например, гены, кодирующие транскрипционные факторы.

Регуляторные элементы, как правило, собраны в регуляторные регионы, имеющие сложную блочно-иерархическую организацию. Основным регуляторным элементом эукариот является коровый (базальный) промотор. Он обеспечивает сборку базального транскрипционного комплекса (из основных факторов транскрипции и РНК-полимеразы) и инициацию транскрипции на базальном (исходном) уровне. Но даже эта регуляция приводит к синтезу лишь единичных молекул РНК. Поэтому экспрессия генов эукариот часто контролируется энхансерами (от англ. *enhancer* – усилитель) и сайленсерами (от англ. *silencer* – глушитель) – регионами генома, повышающими или подавляющими транскрипцию, которые могут быть расположены на ДНК очень далеко от точки начала транскрипции. Энхансеры и сайленсеры содержат плотно расположенные регуляторные последовательности ДНК (сайты), которые также как и промотор связывают ТФ. Кроме того, в геноме эукариот имеются инсуляторы (англ. *insulate* – разобщать, изолировать) – последовательности ДНК, определяющие зону действия данного энхансера или сайленсера.

Транскрипция одного гена обычно зависит от суммы воздействий целого набора энхансеров, сайленсеров и других регуляторных районов ДНК. Например, большинство генов ядерного генома человека содержит не один, а три и более классов регуляторных цис-элементов – от промотора до энхансера и сайленсера. При этом каждый такой цис-элемент может содержать множество коротких (обычно 8–10 пар оснований) сайтов распознавания транскрипционных факторов, в общей сложности занимающих область в несколько сот пар нуклеотидов. Кроме того, и сами цис-элементы, контролирующие работу данного гена, могут находиться на значительном удалении друг от

друга. Описан предполагаемый механизм влияния энхансера на транскрипцию, полученный на основе данных рентгеноструктурного анализа и известный как «петлевая модель» (рис. 47).

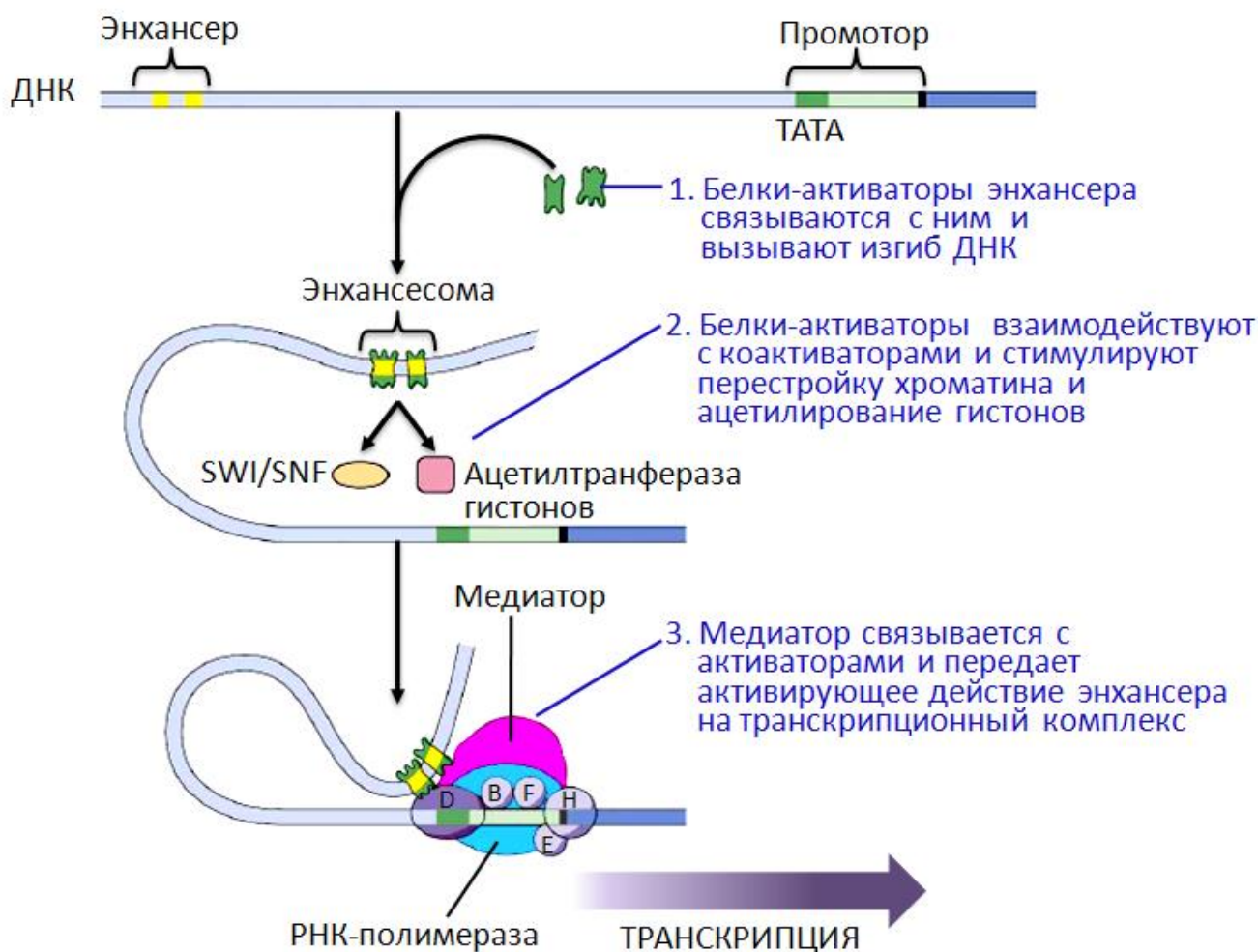


Рис. 47. Петлевая модель работы энхансера

Регуляторные элементы ДНК (энхансеры, сайленсеры) могут оказывать свое влияние на транскрипцию гена лишь опосредованно, через регуляторные белки – транскрипционные факторы. Транскрипционные факторы, идентифицированные к настоящему моменту в эукариотических клетках, весьма разнообразны. Транскрипционные факторы, активирующие транскрипцию, называются позитивными регуляторами, или активаторами, а подавляющие транскрипцию – негативными, или репрессорами. И те, и другие могут пребывать в

активном и неактивном состоянии.

Фоновая (базальная) транскрипционная активность обеспечивается набором ТФ, общим для всех генов. Основная (базальная) транскрипционная машина включает в себя РНК-полимеразу II и белковые комплексы – основные факторы транскрипции TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIЕ, TFIIF, TFIIN и TFIIK (см. раздел 2.2. Транскрипция: биосинтез РНК).

Комплекс РНК-полимеразы II и общих факторов транскрипции обычно функционирует с низкой эффективностью. Чтобы достичь необходимого уровня экспрессии генов, требуется участие специфических факторов транскрипции, являющихся регуляторными белками, необходимыми для контроля процесса образования инициаторного комплекса на промоторе. Специфические факторы транскрипции должны обладать двумя важнейшими свойствами: 1) опознавать специфические последовательности-мишени, расположенные в энхансерах, промоторах и других регуляторных элементах данного гена; 2) связываться с другими компонентами транскрипционного аппарата после присоединения к ДНК. В транскрипционном комплексе число общих и специфических факторов может достигать до 50, при этом замена или отсутствие хотя бы одного из факторов приводит к изменению способности РНК-полимеразы инициировать транскрипцию на данном промоторе. Таким образом, общие белковые факторы обязательны при сборке транскрипционного комплекса в районе промотора любого гена и на любой стадии развития, тогда как набор специфических белковых факторов будет меняться в зависимости от транскрибируемого гена, типа клеток, фазы жизненного цикла, средовых условий и т.д.

Одним из видов регуляции генетической активности у эукариот является метилирование ДНК. Это один из наиболее изученных механизмов, так называемой, эпигенетической регуляции активности генов. Эпигенетическая регуляция – это наследственные и ненаследственные изменения экспрессии конкретного гена без каких-либо структурных изменений в его нуклеотидной последовательности. Термин «эпигенетика» был предложен в 1965 г. эмбриологом К.

Уодингтоном, объединившим два других «эпигенез» и «генетика» с целью показать, что генотип реализуется в фенотип, благодаря влиянию многих модифицирующих факторов. Эпигенетика исследует изменения в экспрессии определенных локусов генома, которые не могут быть объяснены классическими мутациями и структурными нарушениями нуклеотидных последовательностей.

Процесс метилирования ДНК заключается в добавлении метильной группы к цитозиновым основаниям, находящимся в составе пар Г-Ц на участках с высокой концентрацией таких пар (Г-Ц-островки). Метилирование остатков цитозина оказывает влияние на структурные характеристики ДНК. Это проявляется в облегчении перехода метилированных участков ДНК из В-формы в Z-форму, увеличении шага спирали ДНК и изменении кинетики образования крестообразных структур. Метильная группа выступает на поверхности большой бороздки ДНК, находящейся в В-форме, и увеличивает ее гидрофобность, что в ряде случаев является решающим фактором при взаимодействии транскрипционных факторов с соответствующими участками ДНК. Таким образом, метилированные участки ДНК оказываются в репрессированном состоянии и не транскрибируются (не экспрессируются).

К эпигенетическим механизмам регуляции активности генов относится также химическая модификация гистоновых белков, например, ацетилирование и фосфорилирование. В отличие от метилирования ДНК, которое представляет собой достаточно стабильное эпигенетическое вмешательство и в большинстве случаев закрепляется, модификация гистонов более вариативна. Изменения гистонов влияют на регуляцию экспрессии генов, поддержание структуры хроматина, дифференциацию клеток, канцерогенез, развитие генетических заболеваний, старение, репарацию ДНК, репликацию, трансляцию. Например, эффектом ацетилирования является ослабление связи между ДНК и гистонами из-за изменения заряда, в результате чего хроматин становится доступным для факторов транскрипции. Обратный процесс (деацетилирование гистонов) с помощью ферментов деацетилаз репрессируют транскрипцию. Если гистоновые модифика-



ции идут клетке на пользу, то они могут быть довольно продолжительными.

Эпигенетические изменения могут передаваться по наследству (трансгенеративная эпигенетическая наследственность). Однако в отличие от генетической информации, эпигенетические изменения могут воспроизводиться в 3-4 поколениях, а при отсутствии фактора, стимулирующего эти изменения, исчезают. Из всех эпигенетических механизмов наибольшее прикладное значение имеет метилирование ДНК, так как оно напрямую связано с рационом питания, эмоциональным статусом, мозговой деятельностью и другими факторами. Показано, что эукариотические клетки обладают, так называемой, эпигенетической памятью, т.е. способны сохранять набор эпигенетических модификаций при делении (митозе и мейозе). Таким образом, в ходе делений дочерние клетки наследуют не только прямую генетическую информацию в виде новой копии всех генов, но и паттерн их активности.

Примером регуляции активности генов, приводящей к эпигенетическому наследованию признаков, является **геномный импринтинг** — механизм регуляции экспрессии гомологичных генов развивающегося организма в зависимости от их родительского происхождения. Основными эпигенетическими модификациями, необходимыми для установления геномного импринтинга, являются метилирование ДНК и ацетилирование гистонов. В участках генома, подверженных импринтингу (от англ. *imprint* – отпечаток, запечатление), экспрессируется только один аллель (отцовский или материнский). Иными словами, экспрессия импринтированного гена в организме потомке определяется его родительским происхождением, то есть зависит от того, передается ли он геномом сперматозоида или яйцеклетки.

К настоящему времени в геноме человека идентифицированы около 80 генов, работа которых осуществляется по принципу геномного импринтинга, однако, предполагается, что число импринтированных генов может достигать 300–500, то есть более 1% от общего числа генов человека. Большинство импринтированных генов обес-

печивает рост и развитие эмбриона и плаценты, а также клеточную пролиферацию в постнатальном онтогенезе. Следует отметить, что экспрессия некоторых импринтированных генов может быть моноаллельной на одной стадии онтогенеза и биаллельной – на другой. Экспрессия (моно- или биаллельная) таких генов может различаться в зависимости от типа клеток и/или периода онтогенеза, то есть она имеет ткане- и/или стадийно-специфический характер. Предполагается, что импринтинг изменяет структуру гена так, что регуляторные факторы, действие которых проявляется в клетке позднее, распознают импринтированные материнские и отцовские аллели и избирательно их инактивируют. Отсутствие проявления таких факторов, как и нарушение модификации генов, может приводить к потере их нормальной моноаллельной экспрессии.

Несмотря на то, что импринтированные гены составляют небольшую часть генома человека, нарушения их функционирования в силу гемизиготного состояния (в результате микроделеций), однородительского наследования (при однородительских дисомиях) или аномалий эпигенетического маркирования (нарушениях метилирования ДНК) приводят к патологии у человека. В настоящее время описано значительное число патологических состояний, наследственных болезней и синдромов, обусловленных нарушением работы импринтированных генов, которые выделяют в отдельный класс – болезни геномного импринтинга (например, синдромы Прадера–Вилли, Ангельмана, Беквитта–Видемана и др.).

Одним из вариантов эпигенетической модификации является действие коротких некодирующих РНК (нкРНК). Сегодня изучение регуляторных РНК является одной из наиболее активно развивающихся областей молекулярной биологии. В геноме человека закодировано несколько тысяч нкРНК, образующих обширную регуляторную сеть, которая задействована в самых разных сигнальных путях и клеточных процессах. Обнаружено, что многие короткие нкРНК выполняют свои функции на основе явления, названного РНК-интерференцией. Суть этого феномена заключается в подавлении экспрессии гена на стадии транскрипции или трансляции при актив-

ном участии малых молекул РНК, так называемых, микроРНК.

В 2006 г. Нобелевской премии по физиологии и медицине были удостоены американские исследователи Эндрю Файр и Крэйг Мэллоу за открытие явления РНК-интерференции. Их исследования показали, что матричную РНК можно разрушить с помощью другой молекулы РНК, но двуцепочечной (дцРНК). Механизм разрушения мРНК при помощи дцРНК строго избирателен. Попадая в клетку, длинные дцРНК связываются с клеточным ферментом Dicer (от англ. *dice* – нарезать) – ключевым белком в механизме РНК-интерференции – и разрезаются на короткие фрагменты, так называемые, короткие интерферирующие РНК (siRNAs). Последние связываются с клеточным комплексом RISC, способным разрушать молекулы мРНК, и направляют его только к тем мРНК, которые «узнают» по принципу гомологии нуклеотидных последовательностей (рис. 48).

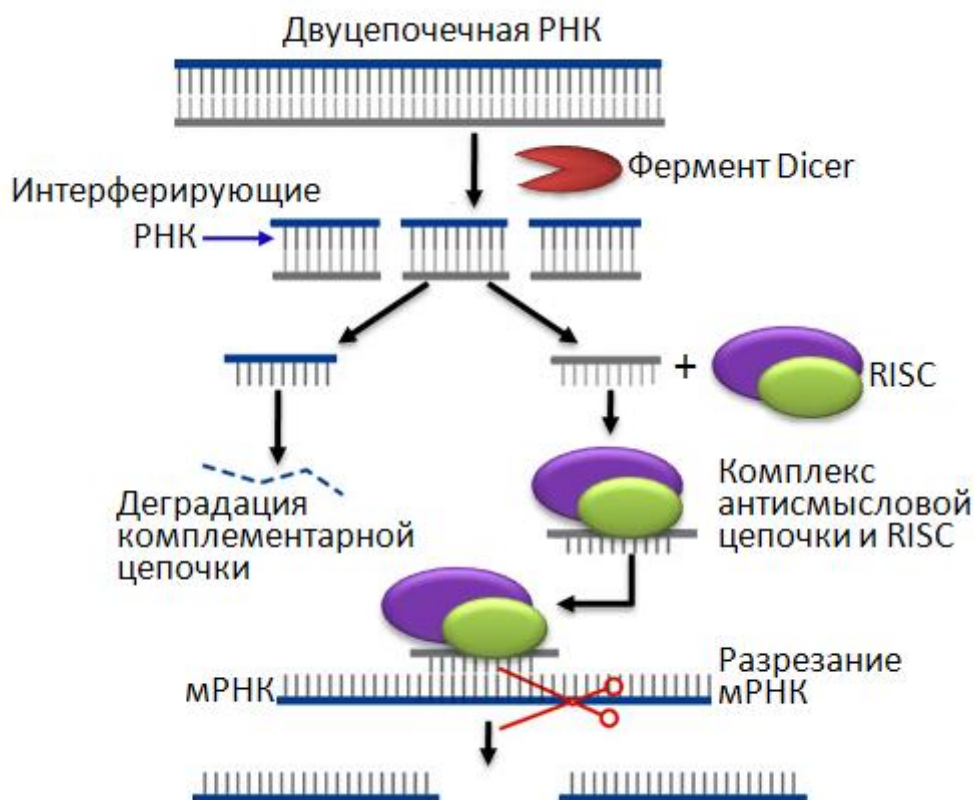


Рис. 48. Механизм РНК-интерференции

Таким образом, обеспечивается специфичность РНК-интерференции. У простейших РНК-интерференция обеспечивает иммунитет, в частности, защиту от вирусов. У более развитых организмов этот механизм включается в борьбу не только с внешними, но и с внутригеномными паразитами, а также становится важнейшим регулятором активности генов.

Показано, что в эукариотических клетках микроРНК также образуют комплекс с белком RISC. Комплекс комплементарно связывается с мРНК-мишенью. В свою очередь RISC-комплекс в цитоплазме определяет главный эффект микроРНК в подавлении экспрессии генов-мишеней, мРНК которых имеет участок, комплементарный последовательности микроРНК. Одна и та же микроРНК может воздействовать на все мРНК, имеющие в своей последовательности соответствующие сайты связывания. Более того, поскольку для посадки RISC-комплекса не требуется полной комплементарности, то эти сайты могут иметь слегка различающиеся последовательности. Длина интерферирующей микроРНК всего 21–23 нуклеотида, поэтому она может регулировать большое количество разной мРНК. Таким образом, если сотни мРНК оказываются под контролем одной микроРНК, то их транскрипция оказывается связанной. Фактически РНК-интерференция является исключительно универсальным механизмом подавления экспрессии, т.к. задействована в регуляции широкого спектра клеточных процессов. Следует отметить, что в отдельных случаях микроРНК могут являться не репрессорами, а прямыми активаторами трансляции, однако распространенность такого «исключения» пока недостаточно изучена.

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Определите термин «экспрессия генов». Перечислите этапы экспрессии генов.
2. Опишите общую схему строения и функционирования бактериального оперона.

3. Что означают термины «негативный и позитивный контроль генетической активности»?
4. Опишите строение и принцип функционирования лактозного оперона кишечной палочки.
5. Опишите регуляцию экспрессии генов на примере триптофанового оперона кишечной палочки. Каков механизм аттенуации триптофанового оперона?
6. Перечислите особенности регуляции экспрессии генов у эукариот. Перечислите и охарактеризуйте (с примерами) механизмы регуляции экспрессии генов у эукариот на уровне транскрипции.
7. Перечислите и охарактеризуйте виды регуляторных последовательностей в геноме эукариот. Опишите «петлевую модель» действия энхансера.
8. Охарактеризуйте основные эпигенетические механизмы регуляции активности генов эукариот.
9. Определите термин «геномный импринтинг». Каковы его механизмы? Приведите примеры болезней геномного импринтинга.
10. Опишите механизм РНК-интерференции. Каково биологическое значение данного процесса?

## **ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ**

*Выберите один или несколько правильных ответов.*

1. **БИОЛОГИЧЕСКИЙ ОБЪЕКТ, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗОВАЛИ Ф. ЖАКОБ И Ж. МОНО В ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО ВЫЯСНЕНИЮ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ – ЭТО**
  - а) бактериофаг
  - б) дрозофила
  - в) стрептококк
  - г) кишечная палочка
2. **РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПО ТИПУ НЕГАТИВНОЙ ИНДУКЦИИ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В СЛЕДУЮЩЕМ**
  - а) белок-регулятор, блокирующий транскрипцию, может быть инактивирован индуктором
  - б) белок-регулятор, активирующий транскрипцию, может быть инактивирован эффектором
  - в) индуктор связывается с белком-репрессором, превращая его в пози-

тивный регулятор

3. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПО ТИПУ ПОЗИТИВНОЙ РЕПРЕССИИ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В СЛЕДУЮЩЕМ

- а) индуктор связывается с белком-репрессором, превращая его в позитивный регулятор
- б) белок-регулятор, блокирующий транскрипцию, может быть инактивирован индуктором
- в) белок-регулятор, активирующий транскрипцию, может быть инактивирован эффектором

4. РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПО ТИПУ ПОЗИТИВНОЙ ИНДУКЦИИ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В СЛЕДУЮЩЕМ

- а) индуктор связывается с белком-репрессором, превращая его в позитивный регулятор
- б) белок-регулятор, блокирующий транскрипцию, может быть инактивирован индуктором
- в) белок-регулятор, активирующий транскрипцию, может быть инактивирован эффектором

5. КАТАБОЛИЧЕСКИМ ОПЕРОНОМ НЕ ЯВЛЯЕТСЯ

- а) лактозный оперон
- б) арабинозный оперон
- в) триптофановый оперон

6. ВЫБЕРИТЕ НЕВЕРНОЕ СУЖДЕНИЕ

- а) у прокариот большинство генов «выключено», поэтому регуляция очень часто направлена на их «включение».
- б) транскрипционный аппарат эукариот состоит из множества белковых факторов, комбинирование которых делает регуляцию более разнообразной.
- в) эукариоты активно нарабатывают мРНК заранее и используют их «по потребности».

7. МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК – ЭТО

- а) присоединение метильной группы к тимину в позиции С5
- б) присоединение метильной группы к цитозину в позиции С5
- в) присоединение метильной группы к гуанину в позиции С5
- г) присоединение метильной группы к аденину в позиции С5

8. ГЕНОМНЫЙ ИМПРИНТИНГ ЯВЛЯЕТСЯ ПРИЧИНОЙ

- а) блокировки транскрипции определенных генов
- б) активации транскрипции определенных генов

9. ЭНХАНСЕРЫ – ЭТО

- а) гены-усилители экспрессии
- б) гены-подавители экспрессии
- в) разновидность транскрипционных факторов

#### 10. САЙЛЕНСЕРЫ – ЭТО

- а) гены-усилители экспрессии
- б) гены-подавители экспрессии
- в) разновидность транскрипционных факторов

#### 11. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЭУКАРИОТ МОЖЕТ КОНТРОЛИРОВАТЬСЯ

- а) только на уровне транскрипции
- б) только на уровне трансляции
- в) на уровнях транскрипции и трансляции
- г) на уровнях транскрипции, трансляции, процессинга РНК, активности белка

#### 12. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ДНК, УЧАСТВУЮЩАЯ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ

- а) энхансер
- б) промотор
- в) последовательность Шайна–Дальгарно
- г) транскрипционный фактор ТФIIA

#### 13. К ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИМ МЕХАНИЗМАМ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ОТНОСЯТСЯ

- а) ацетилирование гистонов
- б) мутации цис-сайтов
- в) фосфорилирование гистонов
- г) метилирование ДНК

#### 14. МИКРО-РНК ОБРАЗУЮТ КОМПЛЕКС С БЕЛКОМ RISC В ПРОЦЕССЕ

- а) метилирования ДНК
- б) РНК-интерференции
- в) посттрансляционной модификации протеинов
- г) образования гликолипидов

#### 15. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ – ЭТО

- а) внезапные, естественные или вызванные искусственно наследуемые изменения генетического материала, приводящие к изменению признаков организма и повышению транскрипционной активности генов
- б) процесс, приводящий к изменению активности гена без изменений в его кодирующей последовательности, которое может наследоваться после исчезновения фактора, вызвавшего это изменение
- в) ненаследственное изменение фенотипа организма в онтогенезе под



влиянием экстремальных факторов среды  
г) негативная регуляция инициации транскрипции, или репрессия, осуществляется белками-репрессорами, которые связываются с операторами

# ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

## Раздел I

№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ
1.	а	6.	а	11.	а, д
2.	а	7.	б	12.	б, в, г
3.	а	8.	б, в	13.	г
4.	г	9.	г	14.	а
5.	в	10.	а	15.	б

## Раздел II

№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ
1.	д	8.	б	15.	а
2.	а	9.	а	16.	б
3.	б	10.	а	17.	а
4.	б	11.	б	18.	б
5.	г	12.	а	19.	а
6.	а	13.	б	20.	б
7.	а	14.	а		

## Раздел III

№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ
1.	г	8.	б	15.	б
2.	в	9.	б	16.	в
3.	г	10.	б	17.	г
4.	в	11.	д	18.	в
5.	б	12.	б	19.	в
6.	б	13.	г	20.	в
7.	г	14.	в		

## Раздел IV

№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ	№ вопроса	Ответ
1.	г	6.	а	11.	г
2.	а	7.	б	12.	а
3.	в	8.	а	13.	а, в, г
4.	а	9.	а	14.	б
5.	в	10.	б	15.	б

# РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

## Основная

1. Жимулёв, И.Ф. Общая и молекулярная генетика : учебное пособие для вузов / И.Ф. Жимулёв. – 4-е изд., стер. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2007. – 479 с. – ISBN 978-5-379-00375-3. Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL: <http://ezproxy.ssmu.ru:2048/login?url=http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785379003753.html> (дата обращения: 06.03.2021). – Режим доступа: по подписке.
2. Дымшиц, Г.М. Молекулярные основы современной биологии : учебное пособие / Дымшиц Г.М. , Саблина О.В. – Новосибирск : РИЦ НГУ, 2012. – 251 с. – ISBN 978-5-4437-0114-1. – Текст : электронный // ЭБС «Консультант студента» : [сайт]. – URL : <https://ezproxy.ssmu.ru:2877/book/ISBN9785443701141.html> (дата обращения: 06.03.2021): Режим доступа : по подписке.

## Дополнительная

1. Албертс, Б. Молекулярная биология клетки / Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон : В 3-х т. 2-е изд., перераб. и доп. Т. 1. Пер. с англ. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. – М.: Мир, 1994. – 517 с.
2. Аппель, Б. Нуклеиновые кислоты: от А до Я / Б. Аппель, Б.И. Бенеке, Я. Бененсон / Под ред. Мюллер С. Пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2013. – 413 с.
3. Бокуть, С.Б. Молекулярная биология: молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации: учебное пособие / С.Б. Бокуть, Н.В. Герасимович, А.А. Милютин. – Мн.: Выш. шк. – 2005. – С. 439–448.
4. Коничев, А.С. Молекулярная биология : учебник для вузов / А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова, И. Л. Цветков. – 5-е изд. — Москва : Издательство Юрайт, 2021. – 422 с. – ISBN 978-5-534-13468-1 – Текст: непосредственный.
5. Патрушев, Л.И. Экспрессия генов / Л.И. Патрушев. - М. : Наука, 2000. – 526 с. – ISBN 5-02-001890-2. – Текст: непосредственный.

Учебное издание

**Ольга Владимировна Воронкова,  
Ирина Евгеньевна Есимова,  
Иван Анатольевич Осихов,  
Резеда Рахматулловна Хасанова,  
Ольга Юрьевна Рыбалкина,  
Екатерина Александровна Трифонова,  
Альберт Геннадьевич Семенов,  
Марина Сергеевна Костромеева,  
Светлана Леонидовна Коптелова**

# **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ**

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ**

Редактор А.Ю. Коломийцев  
Технический редактор Е.М. Харитонова  
Обложка О.В. Воронкова

Издательство СибГМУ  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107  
Тел. 8(382-2) 51-41-53  
E-mail: [otd.redaktor@ssmu.ru](mailto:otd.redaktor@ssmu.ru)

---

Подписано в печать 15.06.2021 г.  
Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Гарнитура «Times». Печ. лист 7,18. Авт. лист 7,1  
Тираж 50 экз. Заказ № 20

---

Отпечатано в Издательстве СибГМУ  
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2  
E-mail: [lab.poligrafii@ssmu.ru](mailto:lab.poligrafii@ssmu.ru)