

УДК 612.6.05:575.1

ГЕН: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЕДИНИЦ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

В.П. Андреев, к.м.н.

Кафедра медицинской биологии и общей генетики
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Анализ современных данных позволяет утверждать, что ген представляет единицу функции. Гены функционируют в зависимости друг от друга, образуя так называемую сеть генов (GeneNet). Результатом экспрессии генов являются генные продукты, которые в совокупности образуют сложнейшую систему, передающую сигналы внутри клетки, и от одной клетки к другой.

Ключевые слова: ген, геном, экспрессия генов, генные сети.

Recently, many studies have shown that gene is the basic functional unit of life. Genes and results of their expression comprise gene-regulating networks (GeneNet), signal-transduction cascades and many forms of interactions not only between genes but between different cells as well.

Key words: gene, genome, gene expression, gene networks.

Гены – это атомы наследственности
С. Бензер

Стандартное начало

Понятие «ген» (от греч. *genos* – род, рождение, происхождение) в генетике является фундаментальным. Этим термином обозначают неделимую в функциональном отношении единицу генетической информации. Важность этого понятия определяется тем, что в геноме организма гены формируют генетическую систему управления, на основе которой развиваются элементарные признаки (в форме огромного разнообразия белковых молекул), а затем гуморальные и нервные механизмы регуляции, физиологические и поведенческие функции целостного организма. Гены определяют не только структуру, функции, развитие, гомеостаз и самовоспроизведение организма, но и его способность приспосабливаться к изменяющимся условиям среды. В норме гены отвечают также за регуляцию деления клеток, их дифференциацию и апоптоз (запрограммированную гибель клеток), за репарацию поврежденной ДНК, антиоксидантную защиту и многие другие процессы, нарушение которых становится причиной возникновения многих болезней, в том числе онкологических.

Гены в клетке находятся в составе генома. Геном человека состоит примерно из 26 тыс. генов, все они между собой связаны и как-то взаимодействуют друг с другом. Можно считать, что геном в широком смысле слова, представляет собой совокупность всей ДНК клетки, где хранится набор инструкций для формирования и функционирования индивида. Общие принципы построения геномов разных организмов и их структурно-функциональную организацию изучает наука геномика, задачами которой являются секвенирование (прочтение нуклеотидной последовательности ДНК), картирование и идентификация функций генов, их взаимосвязей в геноме. Геномика человека является основной молекулярной медицины и имеет важнейшее

значение для разработки методов диагностики, лечения и профилактики наследственных и ненаследственных болезней. С геномикой тесно связана протеомика – наука, занимающаяся исследованием всех клеточных белков и их взаимодействий.

Генетическая информация, закодированная в виде последовательности нуклеотидов в ДНК, является составной частью наследственной информации. Наследственная информация более широкое понятие. Оно включает генетическую информацию, передающуюся потомству через половые клетки, а также все сведения, которые переходят из поколения в поколение через устную и письменную речь, другую логическую информацию. При этом по каналу лингвистической информации передаются знания, религии, обряды, обычаи, технологии, философские системы и производственные отношения, научные парадигмы. Элементарные единицы информации в этом канале Ричард Докинз назвал мемами (англ. *memory* – память). Мемы – это как бы гены культуры. Единицы передачи культурного наследия. (В 1988 году это слово попало в Оксфордский словарь английского языка). Мемы в человеческом обществе рождаются ежедневно: делаются изобретения и открытия; пишутся книги, создаются кинофильмы, музыкальные произведения. Придумываются анекдоты, сказки, мифы, пословицы, поговорки, кроссворды. Новые рецепты, новые модели одежды и фасоны обуви и т.п. Можно сказать, что мемы – это аналоги генов в канале генетической информации. Долговечные мемы создаются талантливыми мыслителями, учеными, писателями, поэтами, государственными деятелями.

Мемы и гены похожи друг на друга, похожи в том, что и те и другие являются репликаторами, способными создавать более или менее точные копии. Конечно, есть и существенные отличия, ведь гены находятся в ДНК наших клеток, а мемы – в нейронных структурах мозга. Гены управляют инстинктами, а мемы (идеи) – сознательным пове-

дением людей. Мемы, подобно генам, размножаются и конкурируют за право быть переданными новым поколениям. Гены со временем перемешиваются и обезличиваются в общем генофонде человечества. Некоторые уникальные комбинации генов вообще не передаются следующему поколению. Например, никто не видел И.Ньютона в обществе женщины, однако его законы (мемы) знает каждый школьник. В отличие от генов, мемы могут передаваться от потомка родителю, от учителя ученику. Например, мемы Великого Учителя и его двенадцати учеников-апостолов более двух тысяч лет живут в нас с вами.

Таким образом, человек представляет собой не что иное, как материальное воплощение двух информационных структур: генетической информации внутреннего генома и культурной информации внешнего генома. Между генетической и культурной информацией существует неразрывная связь. Известны примеры влияния генов на поведение, интеллект, память. Способность воспринимать, использовать и улучшать (или, к сожалению, уничтожать) также зависит от генов.

Признание существования генов является основной концепцией генетики, поэтому история развития науки о наследственности и изменчивости тесно связана со становлением теории гена. Представления о гене складывались на основе научных исследований, продолжающихся более ста сорока лет. В течение этого времени основные положения теории гена многократно уточнялись и дополнялись. Историю генетики и учения о гене можно условно разделить на три основных периода: классический, догеномный и постгеномный (после прочтения генома человека).

Основные достижения формальной, или классической генетики связаны с именами Г.И.Менделя и Т. Х.Моргана, Б. Мак-Клинток и др. Это – открытие наследственных факторов (генов), определяющих развитие конкретных морфологических признаков, и законов наследования их в поколениях потомков; установление материальной природы генов и доказательство локализации генов в хромосомах, формирование хромосомной теории наследственности, открытие мобильных генетических элементов.

Догеномный период характеризуется установлением молекулярной природы гена и расшифровкой генетического кода, открытием в 70-х годах XX века прерывистых (мозаичных) генов и сплайсинга у эукариотических организмов, развитием генной инженерии, разработкой метода клонирования ДНК.

Постгеномный период понимания гена ознаменовался секвенированием (прочтением) генома *Homo sapiens*, развитием функционального анализа генов (определение роли каждого гена в организме), раскрытием механизмов экспрессии генов, открытием генных сетей, массовым прочтением целых геномов разных организмов.

Немного истории

Факт существования единиц наследственности установил И.Г. Мендель в 1865 г. в своих опытах по скрещиванию различных сортов растения садового гороха, отличающихся друг от друга морфологическими признаками (окраска и форма семян, высота растений, и др.). На основании своих исследований Мендель пришел к заключению, что морфологические признаки организма определяются дискретными (лат. *discretus* – раздельный, самостоятельный) наследственными факторами, которые передаются от родителей к потомкам через половые клетки.

Г.Мендель не имел никаких сведений о местонахождении наследственных факторов в клетке и тем более об их химической природе, а также механизме их влияния на признак. В связи с этим наследственный фактор выступал как условная элементарная единица наследственности, определяющая тот или иной морфологический признак организма. Несмотря на это, его учение о наследственных факторах, как единицах наследственности, легло в основу теории гена.

Датский биолог В.Иогансен предложил для открытых Менделем наследственных факторов термин «ген», а для совокупности всех генов организма – термин «генотип»; для признака, который определяется одним геном – термин «фен», а для совокупности всех признаков организма – термин «фенотип».

Мендель был первым, открывшим дискретную, т.е. прерывистую природу наследственных факторов в эпоху, когда господствовала концепция слитной наследственности, не подтвердившаяся впоследствии. Согласно теории слитной наследственности, совокупность всех признаков каждого из родителей передается в виде некоего целого потомку, у которого эти совокупности смешиваются и утрачивают свою индивидуальность. Наследственную субстанцию представляли себе, как материал непрерывный (слитный) и точно разделяющийся. В качестве её символа использовали кровь. Тот факт, что потомок отличается как от одного, так и от другого из своих родителей, приписывали смешению кровей. Различия между сестрами и братьями объясняли тем, что «сила крови» того и другого родителя подвержена изменчивости. В качестве довода в пользу слитной наследственности часто ссылались также на то, что некоторые признаки потомков представляют собой нечто среднее между признаками их родителей. Отголосками подобного представления являются сохранившиеся до настоящего времени такие выражения, как «чистокровный», «полукровка», применительно к животным, или же «голубая кровь», «кровное родство», «кровный брак» – о людях.

Менделю не удалось убедить современников в том, что выведенные им законы имеют всеобщий характер. Его гениальный труд, опубликованный в 1866 г., не привлек внимания ученых. Позднее появилось множество дополнительных фактов по

скрещиванию других растений, были открыты хромосомы, показана их индивидуальность, парность и независимость их комбинирования при образовании половых клеток. Всё это создало почву для переоткрытия работы Менделя и понимания её фундаментальности. Правоту Менделя подтвердили в 1900 г. Гуго де Фриз в Голландии, Карл Эрхарт Корренс в Германии, Эрих фон Чермак в Австрии. В связи с этим, 1900г. считается годом рождения генетики.

Теория дискретной или, как её часто называют, менделевской наследственности содержит, с учетом современных данных, следующие основные положения:

1. Наследственность корпускулярна (дискретна, или раздельна, прерывиста). Наследственные признаки определяются дискретными единицами – генами, которые передаются от родителей потомкам в процессе размножения. Каждая из родительских особей передает своему потомку примерно одинаковое число генов.

2. Каждый ген может существовать в популяции в форме одной, двух и более (иногда десятков и даже сотен) разновидностей, называемых аллелями, каждая из которых ответственна за один из возможных вариантов проявления признака, например, красная и белая окраска цветка.

3. Каждый наследственный признак диплоидного организма определяется одной парой одинаковых (гомозиготность) или неодинаковых (гетерозиготность) аллельных генов. Аллельные гены вносятся в зиготу мужской и женской гаметами при оплодотворении.

4. Аллельные (парные) гены располагаются в гомологичных (сходных) хромосомах в идентичных участках, при формировании гамет они расходятся в разные гаметы (независимое распределение), так, что половина гамет получает один ген, а другая половина – второй (каждая гамета чиста, т.е. свободна от второго аллеля). Закономерность мейоза, проявляющаяся в «чистоте гамет», лежит в основе закона расщепления.

5. Аллельные гены, полученные потомком от родителей, не сливаются друг с другом, остаются раздельными на протяжении всей жизни особи и могут вновь проявиться в более поздних поколениях, даже если в промежуточных поколениях они были замаскированы, вследствие явления доминирования. Этим объясняется тот факт, что у внуков иногда появляются признаки, которых не было у родителей, но которые имелись у дедушек и бабушек.

6. Во время образования гамет гены различных аллельных пар (неаллельные гены) распределяются по гаметам (расщепление) и в последующем передаются потомкам случайным образом: так что любой аллель одного признака может объединиться в гамете с любым аллелем другого признака. Это явление лежит в основе независимого комбинирования (наследования) признаков, который гласит, что признаки наследуются независимо друг

от друга и могут комбинироваться в различных сочетаниях. Этот закон справедлив только для генов, расположенных в различных парах гомологичных хромосом.

Связь между генами и хромосомами

Когда Мендель проводил свои эксперименты, не было ничего известно о возможном, материальном носителе генетической информации в зародышевых клетках. Однако к концу XIX века в ядрах делящихся клеток были обнаружены тельца, интенсивно красящиеся основными красителями. Эти элементы клетки В. Вальдейер в 1888г. назвал хромосомами (греч. *chromos* – краска, цвет, *soma* – тельце). Однако роль хромосом в клетке долгое время оставалась неизвестной.

В 1902 г. два исследователя, Вальтер Сэттон в США и Теодор Бовери в Германии, независимо друг от друга предположили, что гены расположены в хромосомах. Аргументом в пользу такого предположения был параллелизм между расщеплением признаков у потомков (второй закон Менделя) и разделением двойного набора хромосом по половым клеткам во время мейоза. (Половые клетки несут одинарный набор хромосом). Экспериментально подтвердить это предположение удалось американскому биологу Т.Х. Моргану на плодовой мушке дрозофиле. На основе цитологических (изучение хромосом) и генетических методов Моргану удалось доказать, что конкретный ген окраски глаз расположен на X-хромосоме.

В своих опытах Морган использовал мутантных мух, возникших в результате спонтанных мутаций, причинами которых являются внутренние факторы. Так как спонтанные мутации возникают редко, то нахождение мутантной мухи – редкое и случайное событие. (*Морган потратил два года на отыскание мутантного белоглазого самца среди красноглазых мух*). Однако в 1927 году ученик Моргана Мёллер на дрозофиле получил наследственные изменения (мутации) под влиянием рентгеновских лучей. Таким образом впервые экспериментально была доказана изменчивость генов под влиянием факторов окружающей среды. Было также установлено полное тождество искусственно вызываемых мутаций со спонтанно возникающими мутациями. Рентгеновские лучи позволили открыть у мух сотни неизвестных генов и определить их взаимное расположение в хромосомах. Оказалось, что открытые гены образуют четыре группы, получившие название групп сцепления. Четыре группы сцепления генов соответствовали четырём парам хромосом дрозофилы. Это убедительно доказывало теорию, согласно которой гены находятся в хромосомах.

Морган и его ученики открыли также явление множественного аллелизма, (свойство генов существовать в двух и более разновидностях), явление нерасхождения хромосом при делении клеток, гены-модификаторы и летальные гены. Показали способность гомологичных хромосом, полученных от отцовского и материнского организмов, обме-

ниваться блоками генов; разработали правило составления хромосомных карт. Эти и многие другие открытия легли в основу хромосомной теории наследственности, которая существенно дополнила менделевское представление о гене как единице, определяющей элементарный признак организма. Хромосомная теория наследственности включает три четко доказанных положения.

1. Признаки и свойства организма определяются генами.

2. Гены находятся в хромосомах.

3. Гены располагаются в хромосомах в линейном порядке и имеют определенное место (локус).

Работы Менделя и Моргана явились причиной научной революции в развитии генетики. Обоснованная ими хромосомная теория наследственности привела к непримиримому противоречию с господствовавшей до нее концепцией слитной наследственности, которая к этому времени полностью потеряла научное значение.

Хромосомная теория наследственности и открытия в области искусственного получения мутаций привлекли внимание физиков, пытавшихся объяснить природу и свойство генов проявлять устойчивость и одновременно способных изменяться в мутационном процессе. В 1944 году один из основоположников квантовой теории Э.Шрёдингер опубликовал книгу «Что такое жизнь? С точки зрения физики». Шрёдингер высказал мысль, что гены содержат «сложный» шифровальный код, включающий в себя все будущее развитие организма. Используя аналогию с азбукой Морзе, Шрёдингер убедительно показывает, что небольшое количество атомов в структуре гена способно обеспечить безграничное число возможных комбинаций. Книга Шрёдингера оказала глубокое впечатление на тех физиков и биологов, которым в дальнейшем удалось внести решающий вклад в познание структуры и функций генетического кода.

Концепция один ген – один фермент

Когда встает вопрос о гене, необходимо иметь в виду, что у него есть структура и есть функции. Структура – это то, из чего состоит и как организован ген, функция – что и как он делает. До 1945 г. было лишь известно, что гены – это основные единицы наследственности. Но каким путем они выполняют свою функцию, оставалось неясным. Гены можно было идентифицировать, только исходя из мутаций, вызывающих некоторые отклонения от нормы в фенотипе, причем степень отклонения варьировала от изменения одного признака (такого, как цвет глаз) до крайне редких морфологических перестроек, затрагивающих ряд тканей организма.

В 1945 г. Джордж Бидл и Эдуард Татум провели серию исследований по влиянию рентгеновского облучения на красную хлебную плесень *Neurospora crassa*. Были индуцированы мутанты *Neurospora*, не способные расти на минимальной питательной среде. Биохимическую природу дефекта можно было установить. Для этого было

достаточно определить, добавление какого именно вещества в среду позволяет расти мутантному штамму. Было установлено, что у каждого мутанта блокирована определенная метаболическая стадия и для каждой такой стадии у штамма дикого (нормального) типа соответствовал один определенный фермент. Результаты этого исследования легли в основу концепции: «Один ген – один фермент». Согласно этой концепции, каждую биохимическую реакцию катализирует отдельный фермент, за образование которого отвечает один ген.

Сформулированная Бидлом и Татумом теория «один ген – один фермент» быстро получила широкое признание у генетиков. С позиций этой концепции легко объяснить природу рецессивных биохимических мутаций: у них нарушена функция гена, потому что мутация препятствует образованию нужного фермента. В последующем оказалось, что существует соответствие не только между генами и ферментами, но и вообще между генами и всеми белками. Эти данные нашли отражение в концепции «один ген – один белок».

Фермент, как и любой другой белок, может состоять из нескольких субъединиц (полипептидных цепей), объединенных в одно целое за счет нековалентных или за счет ковалентных связей. Такие белковые комплексы называют субъединичными (мультимерными) белками. Оказалось, что каждая субъединица такого белка детерминируется отдельным геном. В связи с этими данными концепция «один ген – один фермент», относящаяся к любому (даже сложному) белку, получила детальное уточнение: «один ген – одна полипептидная цепь». Следует заметить, что представление «один ген – один фермент» отлично работает на практике, однако оно не универсальное. Один ген – это отнюдь не только один фермент. В настоящее время известно много генов, которые вообще не контролируют структуру ферментов или каких-либо белков. Это гены, ответственные за синтез рибосомальных и транспортных РНК, а также некоторые гены, обеспечивающие регуляторные функции.

Открытие биохимических мутаций способствовало конкретизации представлений о гене, его структуре и функциях. Достижения биохимической генетики легли в основу генетики и селекции микроорганизмов и способствовали становлению микробиологической промышленности, которая использует штаммы микроорганизмов, продуцирующих в большом количестве антибиотики, витамины, аминокислоты и т.д.

Справедливости ради следует отметить, что основоположником медицинской биохимической генетики является английский врач Арчибалд Гаррод. В 1908г. Гаррод использовал экспериментальный подход Менделя для исследования человека. Изучая родословные больных алкаптонурией детей, Гаррод обнаружил, что это заболевание вызывается повреждением одного рецессивного гена и что болезнь проявляется согласно анализу родословных, когда мутантный аллель находится

в гомозиготном состоянии, т.е. получен от обоих родителей. (При этом заболевании из-за метаболического блока образуется много гомогентизинной кислоты, из-за чего моча приобретает красный цвет, а пелёнки на воздухе темнеют). После критического анализа возможных причин алкаптонурии (а позднее альбинизма и цистинурии) Гаррод делает вывод, что эта болезнь обусловлена блокированием какой-то метаболической реакции азотистого обмена, катализируемой ферментом. Результаты своих исследований Гаррод опубликовал в медицинском журнале «Lancet». Однако генетики его не читают, и работа Гаррода осталась невостребованной научной общественностью. К тому же в начале XX века о генах мало что было известно, да и концепция фермента ещё только зарождалась.

Постулат «один ген – один полипептид» создал концептуальную базу для анализа связи генотипа с его фенотипом. (Фенотип представляет собой любые проявления организма в каждый момент его жизни). Но до решения проблемы структурной организации белков и ДНК, т.е. до начала 50-х годов XX в., эта теория не имела молекулярной основы. С разработкой новых методов анализа белковой структуры было установлено, что каждый белок обладает уникальной линейной аминокислотной последовательностью. Эта последовательность, называемая первичной структурой, определяет характер укладки полипептидной цепи с образованием биологически активной трехмерной формы. Таким образом, структура белка определяется его аминокислотной последовательностью, которая в свою очередь кодируется генами. Доказательством этому служит тот факт, что мутации в гене приводят к изменению аминокислотной последовательности соответствующего белка. Представление о том, что каждый белок состоит из постоянного числа определённых аминокислот, возникло в 50-х годах на основе работы Ф. Сэнгера по расшифровке структуры белкового гормона инсулина.

Доказательства генетической роли ДНК

До середины XXв. среди биологов господствовало мнение, что генетический материал в хромосомах представляют белки. Биологи были уверены, что «монотонная» ДНК с её только четырьмя различающимися азотистыми основаниями просто не могла нести генетическую информацию о миллионах самых разных белков. Только в начале 40-х годов XX века были получены прямые доказательства участия ДНК в передаче генетической информации. Этому открытию предшествовали опыты английского врача Фредерика Гриффитса.

Изучая анализы микрофлоры мокроты больных пневмонией, Гриффитс предположил возможность превращения пневмококков одного штамма в другой. Такая трансформация пневмококков легко осуществлялась *in vivo* – в опытах на мышах. При этом мертвые вирулентные, имеющие капсулу пневмококки, передавали живым бактериям, ли-

шенным капсулы, способность синтезировать эту капсулу и становиться патогенными. Причем способность синтезировать капсулу передавалась в потомстве трансформированных бактерий из поколения в поколение. Осуществить трансформацию в пробирке (*in vitro*) Гриффитсу не удалось.

Трансформация пневмококков в пробирке была успешно осуществлена в 1943 г. в лаборатории Освальда Эвери. Он и его коллеги расфракционировали содержимое капсульных пневмококков и испытали отдельные фракции на их трансформирующую активность. Вещество, способное трансформировать бактерии, удалось выделить и идентифицировать. Им оказалась дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Отсюда следовало, что гены бактерий, ответственные за проявление и наследование признаков, должны состоять из ДНК.

Второе убедительное доказательство генетической роли ДНК было получено в 1952 году на бактериофагах. Альфред Херши и Маргарет Чейз с помощью радиоактивных изотопов показали, что при заражении бактериофагами бактерий, в бактерию проникает только ДНК, а белковая оболочка фага остается вне бактерии. И только ДНК передается потомству. Из этого был сделан вывод, что гены фага и бактерий состоят из ДНК. Но что является собой генетический материал у высших организмов, и каким путем гены выполняют свою функцию, оставалось неизвестным.

Доказательства того, что молекула ДНК способна быть носителем информации у всех организмов, были получены на основе работ патриарха молекулярной биологии Эрвина Чаргаффа. С его именем связано открытие в начале 50-х годов XXв. регулярности парных соотношений пуриновых и пиримидиновых оснований в молекулах нуклеиновых кислот (правило Чаргаффа). Им было также показано, что четыре азотистых основания, найденные в молекуле ДНК, находятся в варьирующих количествах. Эти количества различны у разных организмов и характерны для каждого вида. На основе этих наблюдений была выдвинута концепция, согласно которой информация заложена в последовательности оснований ДНК, и эта последовательность каким-то образом определяет или кодирует последовательность аминокислот в белке. Центральная роль в наследственности, приписываемая хромосомам, могла быть теперь отнесена к ДНК, которую они содержат. Последующие исследования показали, что нуклеиновые кислоты, ДНК (или для некоторых вирусов РНК) составляют материальную основу наследственности для всех организмов. После этих открытий главной проблемой стало выяснение структуры молекулы ДНК.

ДНК и гены

Открытие Эвери и его коллег, а также Херши и Чейз, состоявшее в том, что только ДНК является носителем генетической информации, послужило импульсом для изучения структуры ДНК с помощью высокоразрешающего физического мето-

да. На основе данных, полученных методом рентгеноструктурного анализа, Джеймс Уотсон и Френсис Крик создали в 1953 г. модель двойной спирали молекулы ДНК. Согласно предложенной модели, ДНК – это полимер, состоящий из четырех разных, но родственных мономеров. Каждый мономер-нуклеотид содержит одно из четырех гетероциклических азотистых оснований: аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) или Тимин (Т), связанный с дезоксирибозофосфатом. В целом молекула ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей. В свою очередь, каждая цепь – это линейная последовательность нуклеотидов четырех видов. Каждый нуклеотид отличается от другого только азотистым основанием. Азотистые основания цепей обращены друг к другу, спариваясь водородными связями по принципу комплементарности (дополнительности): А соединяется с Т, а Г – с Ц. Именно в обнаружении комплементарности двух нуклеотидных цепей одной молекулы ДНК заключалась революционность открытия Уотсона и Крика.

Они также высказали мысль, что каждая цепь молекулы ДНК служит матрицей при синтезе комплементарной цепи и в результате образуются две пары цепей, в каждой из которых только одна является родительской. Идея о том, что удвоение ДНК происходит путем последовательного соединения нуклеотидов в соответствии с правилом комплементарности, заданным каждой цепью спирали, разрешило концептуальную проблему точного воспроизведения генов. Матричная природа механизма репликации была подтверждена многочисленными данными, полученными как *in vivo*, так и *in vitro* для различных организмов, в том числе и для вирусов. Если геном представлен одноцепочечной ДНК (как в некоторых вирусах), то эта единственная цепь служит матрицей для образования комплементарной цепи, с которой она образует дуплекс, а затем на этом дуплексе синтезируются либо дочерние дуплексы, либо одноцепочечные копии одной из матричных цепей.

Было высказано предположение, что гены – это протяженные участки молекулы ДНК. Гены отличаются друг от друга специфическим чередованием пар нуклеотидов. Наследственная информация закодирована в генах в виде последовательности азотистых оснований. Модель носителя информации в виде двух комплементарных цепочек нуклеотидов дала простое и красивое объяснение процессам удвоения и передачи генетической информации. Парность хромосом – двойная спираль ДНК – вот прямое логическое следствие идеи Менделя о парности генов. Таким образом, абстрактные гены обрели конкретное молекулярное воплощение.

«Наш код так мал...»

С открытием структуры ДНК ген стал представляться в виде участка двуспиральной молекулы, кодирующей последовательность аминокислот в составе молекулы белка. Поскольку свойства каждого белка обусловлены специфическим

расположением аминокислот в молекуле белка, то появилась мысль о том, что каждый ген должен каким-то образом точно определять последовательность соединения аминокислот в молекуле белка. На то, как это происходит, дали ответ последующие открытия.

Американский физик русского происхождения Г.А. Гамов обратил внимание, что генетический код 20-ти аминокислот, из которых построены белки, написан алфавитом, в котором всего четыре буквы-нуклеотида. Перебрав варианты, Гамов математически доказал, что слова генетического языка могут быть только трёхбуквенными, а весь словарь включать шестьдесят четыре (4^3) слова-кодона. Таким образом, кончиком пера было установлено, что последовательность трёх смежных нуклеотидов смысловой цепи ДНК кодирует одну аминокислоту полипептидной цепи.

Когда была установлена триплетная природа генетического кода, возникла необходимость расшифровать кодоны для всех аминокислот. Были разработаны методы, с помощью которых расшифровали большинство кодонов. Этот секрет учёным выдали бактерии, (точнее, бесклеточный экстракт бактерий), которым «подсовывали» искусственно синтезированные информационные РНК. Если, например, иРНК состояла только из УУУУУУУУУУУУУУУУ (нуклеотидов, включающих урацил), то синтезировалась полипептидная цепь, состоящая только из аминокислоты фенилаланин. Это означало, что кодону УУУ соответствует данная аминокислота. Аналогично этому гомополимеры (С) и поли (А) стимулировали синтез полипептидов из пролина и лизина.

С расшифровкой генетического кода разрешился имеющий долгую историю вопрос о связи между химической структурой гена и кодируемого им белка, и стало ясно, что мутации есть следствие изменений в структуре ДНК. В 1967 г. Ингрэм обнаружил, что причиной серповидноклеточности в молекуле гемоглобина является патологическое замещение глутаминовой кислоты в положение 6 с amino-конца цепи β -глобина на валин. Так было впервые показано, что даже замена отдельной аминокислоты в полипептидных цепочках молекулы может вызывать не только патологические изменения в молекуле, но и общесистемное заболевание, каким является серповидноклеточная анемия.

Доказательством справедливости мнения о том, что общая патология живых организмов основана на изменениях молекул, является открытие на протяжении менее 20 лет у одной лишь молекулы гемоглобина сотен вариантов строения с различной сопутствующей патологией.

Прерывистые («мозаичные») гены

Первые представления о молекулярном строении генов и их организации в геноме были получены при исследовании прокариот (бактерий). Данные, полученные при изучении бактерий эстраполировались и на ядерные организмы, поскольку считалось, что главное различие между двумя эти-

ми надцарствами организмов заключается в том, что хромосомы эукариот находятся в ядре. Такое убеждение подкреплялось свойством универсальности генетического кода для всех форм жизни. Некоторые биологи имели смелость утверждать, будто то, что справедливо для генов кишечной палочки, должно быть справедливо для генов слона и человека. Однако оказалось, что прокариоты ко-ренным образом отличаются от эукариот.

К концу 70-х годов стало очевидно, что белок-кодирующие последовательности ДНК у млекопитающих вовсе не обязательно бывают непрерывными, как у большинства прокариот (бактерий), а прерываются некодирующими участками ДНК; такие некодирующие сегменты называются вставочными последовательностями или интронами. Термин интрон образован из английских слов – **intervening zone** – зона, «перемежающая» смысловую последовательность гена. Кодированные участки, т.е. имеющие смысл, были названы экзонами (экзон – англ. **expressing zone** – экспрессируемая зона). Эти данные были получены в результате сравнительного изучения структуры ДНК гена и соответствующей информационной РНК.

Почти все гены, кодирующие белки позвоночных, содержат интроны. Размеры, число и местоположение интронов у разных генов различны. Тем не менее, сходные гены у организмов разных видов имеют часто одинаковое число интронов в одних и тех же позициях, хотя длина и нуклеотидная последовательность интронов могут заметно различаться. Интроны располагаются в единицах транскрипции не случайным образом. В генах тРНК они примыкают к петлям антикодонов, а в белок-кодирующих генах часто находятся между сегментами, которые кодируют отдельные структурные или функциональные домены белка. Большая часть эукариотических генов, кодирующих полипептиды, содержит хотя бы одну вставочную последовательность, а у некоторых генов их гораздо больше. Так, у человека ген, детерминирующий синтез аполипопротеина В, содержит 28 интронов, ген рецептора липополипротеина низкой плотности – 17, ген тиреоглобулина – около 40.

Перед исследователями сразу встал вопрос: как работает такой мозаичный ген? Было установлено, что первоначально при транскрипции гена синтезируется копия ДНКового текста (про-матричная РНК) вместе с экзонами и интронами. Далее интроны вырезаются, а экзоны соединяются. В результате формируется зрелая молекула мРНК. Данный процесс (вырезание интронов и сшивание экзонов) обозначается как сплайсинг. Термин «сплайсинг» в буквальном переводе с английского – «соединение». Точность сплайсинга достигается, благодаря тому, что в начале и в конце каждого интрона имеются определенные последовательности нуклеотидов: так интроны про-мРНК всегда начинаются с Г – У (гуанин-урацил), а кончаются дуплетом А – Г (аденин – гуанин). Для узнавания этих последовательностей используются малые

ядерные РНК (мяРНК), которые связаны с ферментами, катализирующими сплайсинг. Такие рибонуклеопротеидные комплексы называются сплайсингосомами. (Известны также различные виды самосплайсинга).

Установлено, что интроны из первичного транскрипта удаляются по очереди – стадийно. В случае возникновения ошибки, например, будет вырезан нуклеотид из экзона или не произойдет вырезания какого-либо интрона, это приведет к тому, что ген свою функцию не выполнит из-за того, что изменится смысл всех кодонов. В результате – генетическое заболевание, сопровождающееся снижением жизнеспособности или смертью. Например, с нарушением механизма сплайсинга связан один из видов β -талассемии – генетического заболевания, при котором нарушено образование β -цепей гемоглобина. У таких больных в гене β -гемоглобина замещена всего одна нуклеотидная пара в интроне. Поэтому не происходит узнавание этого интрона, интрон не вырезается и зрелая мРНК не образуется.

Альтернативный сплайсинг: один ген – множество белков

За счет сплайсинга в мРНК может происходить соединение не только между соседними экзонами (конститутивный сплайсинг), но и между экзонами, отстоящими в гене на значительном расстоянии. Это связано с тем, что некоторые четко определённые экзоны вырезаются вместе с интронами. Альтернативный сплайсинг позволяет клетке синтезировать разные белки от одного-единственного гена без изменения его геномной организации. В некоторых случаях альтернативного сплайсинга разные мРНК образуются одновременно, при этом отдельные изоформы белка могут выполнять как одинаковые, так и разные функции. Например, иммуноглобулины представлены двумя формами – мембраносвязанной и секреторируемой. В разных тканях набор сшиваемых экзонов может различаться, тем самым определяя синтез различных белков. Так, при экспрессии единственного гена кальцитонина в щитовидной железе синтезируется кальцитонин, а в мозгу его изоформа – белок, родственный кальцитонину. Различия интрон-экзонной структуры зрелой мРНК могут определять интенсивность синтеза одного и того же белка в разных тканях или на разных этапах онтогенеза.

Следует подчеркнуть, что и на одной уже сформированной мРНК могут образовываться разные белки. Это происходит за счет наличия в 50% мРНК человека не одного, а двух АУГ-кодонов, являющихся старт-сигналами для синтеза белка на мРНК. За счет этого, в разных ситуациях клетка может начать синтез белка с разных мест мРНК, в результате чего образуются разные по длине, а порой и по своим свойствам, белки.

В связи с этим понятно, что классическая концепция генетиков «один ген – один белок» оказывается в реальности справедливой лишь для небольшой группы генов, а для остальных генов не-

редко действует принцип «один ген – очень много белков». Таким образом, «мозаичное» устройство большинства генов и альтернативный сплайсинг – чрезвычайно важное приобретение высших организмов, так как фенотипические признаки любого организма, в конечном счёте, проявляются в разнообразии и количестве белков, кодируемых ДНК. Несомненно, что альтернативный сплайсинг РНК способствовал прогрессивной эволюции высших организмов и человека. В связи с этим становится понятно, почему при небольшом различии в количестве генов у низших и высших организмов имеются огромные различия в их структурно-функциональной организации.

Экспрессия генов

Экспрессия (работа) генов – это весь процесс передачи (реализации) информации от ДНК к белкам. (В широком смысле термин экспрессия употребляется также и по отношению к генам, кодирующим рРНК, тРНК и др. РНК). В результате экспрессии образуются один или несколько функциональных генных продуктов – молекулы РНК или полипептидов. Основной структурной единицей белков являются аминокислоты. Важным «передаточным звеном» при переводе информации с языка нуклеотидов на язык аминокислот являются рибонуклеиновые кислоты (РНК), которые синтезируются на определенных участках ДНК (генах) как на матрицах в соответствии с их нуклеотидной последовательностью. Существуют три основных типа РНК: информационная (мРНК), рибосомная (рРНК) и транспортная (тРНК). Все они играют важную роль в процессе расшифровки генетической информации. Экспрессия информации о структуре определенного белка включает два основных этапа: а) транскрипция; б) трансляция. Экспрессии подвергается не вся имеющаяся в ядре информация, а лишь какая-то (обычно весьма небольшая) ее часть.

Экспрессия генов начинается с транскрипции их нуклеотидной последовательности, т.е. перевода её на язык РНК. При этом определенный участок (3-штрих – 5-штрих) цепи ДНК используется как матрица для синтеза РНК путем комплементарного спаривания оснований. В результате транскрипции генов, в которых закодирована структурная информация о белках, образуются молекулы матричной РНК (мРНК). Кроме матричной РНК, в синтезе белков участвуют молекулы рибосомной РНК (рРНК) и транспортной РНК (тРНК); они также синтезируются на ДНК как на матрице. Правильное начало транскрипции, и ее успешное завершение обеспечивают специфические нуклеотидные последовательности в ДНК и белковые факторы.

Трансляция («перевод») – это процесс реализации информации, закодированной в структуре мРНК, в последовательность аминокислотных остатков белка. Одним из главных участников трансляции является рибосома – особый мультиферментный комплекс, состоящий из нескольких видов

рРНК и множества белков. Рибосомные субъединицы синтезируются в ядрышке и покидают ядро в виде комплексов 40S и 60S. Эти субъединицы не образуют функционирующую рибосому до тех пор, пока не присоединятся к мРНК. Малая субъединица (40S) связывается с 5' участком мРНК вместе с другими компонентами комплексов трансляции белка. Затем присоединяется 60S субъединица и формируется зрелая 80S рибосома. *(Кроме рибосом, еще целая армия ферментов и различных факторов катализирует множество химических событий, необходимых для успешного синтеза белка).*

Важную роль в трансляции играют молекулы тРНК, с помощью которых осуществляется расшифровка генетического кода. В клетке, интенсивно синтезирующей белок, обычно присутствует около 60 разных тРНК. Трансляция с мРНК начинается сразу после образования функционирующей рибосомы. В 60S субъединице есть канал, достаточно длинный для того, чтобы содержать полипептид, состоящий приблизительно из 30 аминокислотных остатков. Удлиняющийся полипептид проходит в этот канал. Когда сформированная рибосома перемещается по нити мРНК, захватывая по 6 нуклеотидов, образуется второй, а затем третий комплексы трансляции, которые считывают информацию, заключенную в мРНК. Этот процесс продолжается до тех пор, пока рибосомные комплексы не «прочитают» всю мРНК. Каждая рибосома, достигшая терминирующего кодона, покидает матричную РНК, затем рибосомные субъединицы отделяются друг от друга и поступают в цитозольный пул, из которого могут быть образованы новые рибосомы. Необходимо отметить, что белки, предназначенные для «внутреннего пользования» синтезируются на свободных рибосомах в цитозоле (основном веществе цитоплазмы), а интегральные белки плазмолеммы и белки «на экспорт», синтезируются на гранулярной эндоплазматической сети.

Регуляция экспрессии генов

Фенотипические признаки, а также состояние клетки (и организма в целом) определяются не только набором генов, полученных от отца с матерью, но и соотношением работающих и выключенных генов, то есть количеством и свойством продуцируемых ими структурных, каталитических и регуляторных белков. Ферменты энергетического обмена, белки, необходимые для репарации ДНК и многие другие белки нужны всем клеткам, и их гены (класс «домашнего хозяйства») экспрессируются постоянно во всех клетках, за исключением таких высокоспециализированных, как зрелые эритроциты. Другие гены включаются в определённые периоды и при некоторых ситуациях: например, в период органогенеза, при половом созревании, во время болезни. Общая цель процесса регуляции – избежать напрасных затрат энергии и создать условия для того, чтобы клетка производила наиболее эффективным образом все, в чем она нужда-

ется. Часто гены экспрессируются последовательно: активация одного или нескольких генов приводит, в конечном счете, к каскаду событий. Так, например, включение в работу «гена мужественности» секс региона Y-хромосомы является иницирующим моментом в сложнейшем процессе формирования мужского пола, в котором задействованы сотни генов. Экспрессия определенных генов происходит под действием химических индукторов. В печени любой лекарственный препарат, например, фенобарбитал вызывает увеличение количества ферментов, метаболизирующих это вещество. Имеет место и репрессия генов: холестерин, например, репрессирует первый фермент метаболического пути его синтеза. У человека имеется целый ряд гормонов и других регулирующих агентов, которые вызывают селективную модуляцию синтеза специфических белков, контролируя экспрессию их генов. При определенных условиях многие гены вообще не экспрессируются, а степень экспрессии других генов различается на несколько порядков. Изменение условий может привести к активации «молчавших» ранее генов и репрессии активно работавших. Известно, что при злокачественном перерождении клеток большие группы генов становятся неактивными, т. е. клетки возвращаются к более примитивной, эволюционно древней форме. Осуществляя контроль за тем, каким генам экспрессироваться, а каким нет, а также регулируя уровень экспрессии различных генов, клетки приспособливают свой фенотип к определенным условиям внешней и внутренней среды. Таким образом, в любой клетке в каждый момент «звучит» свой аккорд генов, определяя спектр синтезируемых на них матричных РНК.

Экспрессия генов осуществляется на многих уровнях, но, как правило, регулируется на уровне синтеза (транскрипции) мРНК. Обычно регулируемым этапом является инициация транскрипции, при этом регуляция осуществляется либо с помощью репрессорных белков, предотвращающих транскрипцию, либо с помощью активаторных, необходимых для ее начала. Механизмы регуляции экспрессии генов на уровне транскрипции весьма разнообразны, многочисленны и очень сложны. И хотя многим из них присущи общие черты, тонкие механизмы регуляции всегда уникальны для данного гена, определенного физиологического состояния организма и условий окружающей среды.

В последнее время стал известен принципиально иной механизм регуляции активности генов на посттранскрипционном уровне. При таком типе регуляции зрелая матричная РНК уничтожается раньше, чем дойдет до рибосомы, которая должна построить соответствующий белок. Деградацию зрелой матричной РНК осуществляет белковый комплекс RISK (RNA-induced silencing complex), взаимодействующий с короткими двуниевыми молекулами так называемой микроРНК. (Сегодня в клетках млекопитающих найдено около 500 микроРНК; они регулируют активность 30% генов).

Молекула микроРНК необходима для распознавания матричной РНК, подлежащей уничтожению. Механизм регуляции экспрессии генов с участием двуниевой микроРНК называют РНК-интерференцией (Эндрю Файер, Крейг Мелло, лауреаты Нобелевской премии 2006).

Большое значение в жизнедеятельности клетки имеет эпигенетический механизм регуляции активности генов. В этом случае ген выключается из работы за счет того, что его цитозины подвергаются метилированию метилазой. В результате нарушается взаимодействие гена с регуляторным белком, что приводит к нарушению считывания информации. Этот механизм регуляции широко встречается в нормальных клетках. Но такой же механизм используют и злокачественные клетки, выключая гены, участвующие в апоптозе (запрограммированной гибели) и, тем самым, избегая суицида.

Генные сети

Рассматривая такие процессы, как морфогенез (образование органа), деление клетки, дифференцировку (превращение неспециализированных клеток в специализированные), биохимический цикл и мн. др., никак нельзя обойтись без представления о генных сетях – системах функционально связанных генов. В зависимости от процесса в генные сети могут объединяться десятки, сотни, тысячи генов. Так, например, в процессе клеточного деления включаются в работу более 3-х тыс. генов (около 10% всех генов человека). Согласно современным представлениям, генная сеть – группа координированно экспрессирующихся генов, контролирующая выполнение определенной функции организма. В каждой генной сети выделяют несколько обязательных типов компонентов (элементов): 1) группа генов, составляющая ядро сети; 2) белки, кодируемые этими генами; 3) пути передачи сигналов от мембраны к ядру, обеспечивающие активацию или подавление транскрипции в ответ на внешние стимулы; 4) отрицательные и положительные взаимодействия, обеспечивающие авторегуляцию; 5) низкомолекулярные соединения (гормоны, метаболиты энергетические компоненты), осуществляющие переключение функций генной сети.

Любая генная сеть связана с внешней средой и другими генными сетями, поэтому в любой генной сети есть компоненты, обеспечивающие либо восприятие и передачу внешних сигналов, либо способность продуцировать такие сигналы. Ключевой особенностью генных сетей является способность к саморегуляции за счет замкнутых регуляторных контуров с отрицательными и положительными обратными связями. Молекулярной базой таких регуляторных контуров являются сайты-мишени в ДНК, РНК и белках, с которыми взаимодействуют различные молекулярные компоненты генной сети и внешние регуляторные факторы. Благодаря этим двум типам регуляторных контуров, возможно поддержание определенного функционального состояния генной сети или ее переход в другой ре-

жим функционирования, в том числе и под влиянием факторов внешней среды. Регуляция функций генной сети происходит на уровне транскрипции, трансляции, сплайсинга, деградации иРНК и белков, активного мембранного транспорта и т.д.

Координированная работа генных сетей обеспечивается положительными и отрицательными обратными связями. Генные сети необратимых процессов, контролирующие рост и развитие организмов, дифференцировку клеток, морфогенез тканей и органов, содержат контуры положительной обратной связи, обеспечивающие максимально эффективное отклонение контролируемого параметра от исходного значения. Генные сети, обеспечивающие гомеостаз организма, содержат контуры отрицательной обратной связи. Примером такой генной сети является координированная работа генов по регуляции холестерина в клетке. Генные сети, обеспечивающие ответ организма на изменение внешних условий, имеют двухэтапную схему работы: сначала происходит быстрая активация за счет положительной обратной связи, затем включается отрицательная обратная связь, которая подавляет ответ. В качестве примера такой регуляции работы генной сети является ответная реакция организма на внедрение какого-либо патогена, например, вируса.

В настоящее время имеется информация (база данных GeneNet), в которой хранятся сведения о 16 генных сетях в 6-ти тематических разделах: липидный обмен, эритропоэз, противовирусный ответ и др.

Таким образом, наследственность включает генетическую информацию, а также и все сведения, которые передаются из поколения в поколение. Генетическая информация, закодированная в виде последовательности нуклеотидов в ДНК, является составной частью наследственной информации. Единицей генетической информации является ген. Гены в клетке находятся в составе генома. Геном представляет собой совокупность всей ДНК клетки, где хранится набор инструкций для формирования и функционирования организма.

Ген представляет собой участок хромосомной ДНК, на которой синтезируется матричная РНК (мРНК). Эта молекула переносит информацию из ядра клетки в цитоплазму к рибосомам – специальным органоидам, которые по «чертежу» мРНК строят белок. Белковая молекула является элементарным признаком. Известны также гены, которые вообще не контролируют структуру каких-либо белков. Это гены, ответственные за синтез рибосомальных, транспортных и других типов РНК, а также некоторые гены, обеспечивающие регуляторные функции. Анализ современных данных по-

зволяет утверждать, что ген, являясь участком молекулы нуклеиновой кислоты, представляет единицу функции.

Гены в клетке работают в зависимости друг от друга, образуя функционально связанную сеть генов, или генную сеть. Одни из них кодируют рецепторы внешних сигналов, другие – рецепторы гормонов, третьи – структурные и рабочие белки (например, ферменты или белки транспортеры). Есть гены внутриклеточных регуляторов, продукты которых индуцируют одни группы генов и репрессивуют другие. Результатом работы генов являются генные продукты, которые в совокупности образуют сложнейшую систему, передающую сигналы внутри клетки, и от одной клетки к другой. Под влиянием этих сигналов осуществляются все обратимые и необратимые процессы в клетке и организме.

Литература

1. Асанов, А.Ю. Основы генетики и наследственные нарушения развития у детей: учебное пособие/ А.Ю Асанов, Н.С. Демикова, С.А. Морозов; под ред. А.Ю.Асанова. – М.: Academia. – 2003. – 212 с.
2. Бочков, Н.П. Клиническая генетика: учебник – М.: Гэотар-мед. – 2001. – 447 с.
3. Докинз, Р. Эгоистичный ген: пер. с англ. – М.: Мир, 1993. – 318 с.
4. Кольман, Я. Наглядная биохимия/ Я. Кольман, К.-Г. Рём; пер. с нем., под ред. П.Д. Решетова, Т.И.Сорокиной. – М.: Мир. – 2004. – 469 с.
5. Клаг, У.С. Основы генетики/ У.С. Клаг, М. Р. Каммингс. – М.: 2007. – 896с.
6. Клещенко, Е.В. // Химия и жизнь – XXI век. – 2006. – №11. – С.14-15
7. Льюин, Б. Гены /пер. с англ., под ред. Г.П. Георгиева. – М.: Мир. – 1987. – 544 с.
8. Мutowин, Г.Р. Основы клинической генетики. – М.: «Высшая школа» – 2001. – 232 с.
9. Мушкхамбаров, Н.Н. Молекулярная биология: учеб. пособие/ Н.Н. Мушкхамбаров, С.Л. Кузнецов. – М.: – 2003. – 544 с.
10. Равич-Щербо, И.В. Психогенетика: учебник / Т.М. Марютина., Е.Л. Григоренко. – М.: 2004. – 447 с.
11. Сингер, М. Гены и геномы: в 2т. /пер. с англ. М. Сингер, П. Берг; под ред. Н.К. Янковского. – М.: Мир.– 1998.
12. Фаллер, М. Молекулярная биология клетки: руководство для врачей / М Фаллер, Д. Шилде; пер. с англ. под ред. И.Б. Збарского. – М.: –2006. – 256 с.
13. Фогель, Ф. Генетика человека: в 3-х т. / Ф. Фогель, А. Мотульский; пер. с англ., под ред. Ю.П. Алтухова, В.М. Гиндилиса. – М.: Мир, 1990. –т.3. – 378 с.
14. Хохлачев, Ю.С. Внешний геном человечества // Химия и жизнь – XXI век. – 2006. –№2 – с. 53
15. Щипков, В.П. Общая и медицинская генетика: учеб. пособие / В.П. Щипков, Г.Н. Кривошеина. – М.: 2003. – 256 с.
16. <http://www. lebed.com/ 2004/art3782.htm>
17. <http://www. ict.nsc.ru/ws/ Lyap 2001/2527/>

Поступила 23.02.07