

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ**  
**«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Кафедра медицинской биологии и генетики**

**Н. Е. ФОМЧЕНКО, И. В. ФАДЕЕВА**

# **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ**

**Учебно-методическое пособие  
для студентов 1 курса всех факультетов  
медицинских вузов**

**Гомель  
ГомГМУ  
2016**

УДК 575.117.2:579.238 (072)

ББК 28.04я 73

Ф 76

**Рецензенты:**

кандидат биологических наук,  
доцент кафедры медицинской биологии и общей генетики  
Гродненского государственного медицинского университета

***О. А. Дричиц;***

кандидат биологических наук,  
доцент кафедры ботаники и физиологии растений  
Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины

***О. М. Храмченкова***

**Фомченко, Н. Е.**

Ф 76 Экспрессия генов прокариот и эукариот : учеб.-метод. пособие для студентов 1 курса всех факультетов медицинских вузов / Н. Е. Фомченко, И. В. Фадеева. — Гомель: ГомГМУ, 2016. — 32 с.

ISBN 978-985-506-802-1

В пособии представлен материал об основах регуляции биосинтеза белка у прокариотических и эукариотических организмов. Рассмотрены вопросы: понятие гена, классификация генов, модель оперона, регуляция экспрессии генов прокариот, лактозный оперон *E. coli*, триптофановый оперон, регуляция активности генов эукариот, экспрессия генов гемоглобина человека.

Предназначено для студентов 1 курса всех факультетов медицинских вузов.

Утверждено и рекомендовано к изданию научно-методическим советом учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» 16 декабря 2015 г., протокол № 6.

УДК 575.117.2:579.238 (072)

ББК 28.04я 73

ISBN 978-985-506-802-1

© Учреждение образования  
«Гомельский государственный  
медицинский университет», 2016

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	4
Понятие гена. Классификация генов. Транспозоны .....	6
Индукция и репрессия генов .....	10
Общие принципы генетического контроля экспрессии генов .....	11
Модель оперона .....	12
Регуляция экспрессии генов прокариот. Лактозный оперон E.coli ...	13
Триптофановый оперон E.coli .....	17
Роль негенетических факторов в регуляции генной активности .....	18
Регуляция экспрессии генов эукариот .....	19
Гемоглобины человека. Экспрессия генов гемоглобина человека .....	24
Биологическое значение геномного уровня организации наследственного материала .....	27
Приложение 1 .....	28
Приложение 2 .....	31
Литература .....	32

## ВВЕДЕНИЕ

Реализация наследственной информации, заключенной в генотипе организма — это сложный процесс, который требует тонкой регуляции для того, чтобы в клетках разной тканевой принадлежности в определенное время в процессе развития организма обеспечить синтез специфических белков в необходимом количестве.

Все клетки многоклеточного организма, возникая из зиготы путем митоза, получают полноценный набор генетической информации. Несмотря на это, они отличаются друг от друга по морфологии, биохимическим и функциональным свойствам. В основе этих различий лежит активное функционирование в разных клетках неодинаковых частей генома. Большая часть генома находится в клетках организма в неактивном, *репрессированном*, состоянии, и только 7–10 % генов *дерепрессированы*, то есть активно транскрибируются. Спектр функционирующих генов зависит от тканевой принадлежности клетки, от периода ее жизненного цикла и стадии индивидуального развития организма.

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. Регуляция экспрессии (выражения) генов может осуществляться на нескольких уровнях: генном, транскрипционном, трансляционном и функциональном. Первый из них связан с изменением количества или локализации генов, контролирующих данный признак. Второй определяет, какие и сколько иРНК должны синтезироваться в данный момент. Третий обеспечивает отбор иРНК, транслирующихся на рибосомах. Четвертый связан с аллостерической регуляцией активности ферментов. Наконец, контроль действия генов может осуществляться путем посттрансляционной модификации полипептидов, посттранскрипционной модификации иРНК и другими путями.

Наиболее изучен транскрипционный уровень регуляции.

*Транскрипция* — это процесс считывания генетической информации с молекулы ДНК и копирование ее на молекулу иРНК.

Известно, что РНК синтезируется в ядре клетки на одной из цепочек ДНК свободных нуклеотидов. Комплементарной ДНК является только про-иРНК. Синтез молекул про-иРНК осуществляется под действием специального фермента — РНК-полимеразы. Этот фермент передвигается вдоль молекулы ДНК от одного конца к другому, удерживая на себе нуклеотиды и растущую про-иРНК. Последовательность оснований в образующейся молекуле про-иРНК точно отражает порядок чередования оснований в ДНК. В молекулярной организации генов эукариотической клетки имеются значительные отличия. В большинстве из них кодирующие последовательности — *экзоны* прерываются *интронными* участками, которые не используются при синтезе тРНК, рРНК или пептидов. Количество

таких участков варьирует в разных генах. Например, ген цепи глобулина человека включает в себя три экзона и два интрона. Все участки (экзоны и интроны) транскрибируются на молекулу РНК. В процессе созревания иРНК специальные ферменты вырезают интроны и сшивают оставшиеся участки — экзоны. Поэтому последовательность нуклеотидов в созревшей иРНК не является полностью комплементарной нуклеотидам ДНК.

Процесс созревания и-РНК (процессинг) включает укорочение первичного транскрипта путем вырезания неинформативных участков про-и-РНК (интронов) и добавление групп нуклеотидов на 5' и 3' концах (участвуют ферменты: экзонуклеазы и эндонуклеазы; осуществляется в ядре и во время перехода иРНК из ядра в цитоплазму) и сплайсинга, при котором происходит сшивание информативных участков (экзонов) и образование зрелой и-РНК, которая готова для последующей транскрипции.

Объяснение факта существования интронов пока не найдено. Допускается, что в момент образования и-РНК из про-и-РНК может иметь место различное сцепление экзонов друг с другом, что приведет к синтезу различных белков. Возможно, интроны служат материалом для образования новых генов в процессе эволюции. Показано, что мутация интронов могут нарушать процесс сплайсинга, останавливать синтез белка и изменять его структуру.

Благодаря преобразованиям, происходящим с РНК-транскриптом в ходе процессинга, зрелые мРНК эукариот характеризуются большей стабильностью по сравнению с прокариотическими.

В настоящее время доказана возможность альтернативного (взаимоисключающего) сплайсинга, при котором из одного и того же первичного транскрипта могут удаляться разные нуклеотидные последовательности и образовываться разные зрелые мРНК. В результате одна и та же последовательность нуклеотидов ДНК может служить информацией для синтеза разных пептидов. Альтернативный сплайсинг, вероятно, очень характерен в системе иммуноглобулинов у млекопитающих, где он позволяет формировать на основе одного транскрипта мРНК для синтеза разных видов антител.

## ПОНЯТИЕ ГЕНА. КЛАССИФИКАЦИЯ ГЕНОВ. ТРАНСПОЗОНЫ

В начале XX в. было доказано, что материальной единицей наследственности и изменчивости является ген, который имеет определенную структурно-функциональную организацию.

Термин «ген» сразу, как только был предложен, использовался для обозначения наследственных задатков (наследственный задаток, по Г. Менделю), определяющих развитие тех или иных внешних фенотипических признаков.

Элементарной функциональной единицей наследственности, определяющей возможность развития отдельного признака клетки или организма, является ген.

*Ген* — это участок молекулы ДНК, характеризующийся специфичностью для него последовательностью нуклеотидов, представляющей единицу функции, отличной от функции других генов, детерминирующий синтез определенного полипептида.

*Основные положения современной теории гена*

1. Ген занимает определенный локус в хромосоме.
2. Ген (цистрон) — часть молекулы ДНК; число нуклеотидов в гене неодинаково.
3. Внутри гена может происходить рекомбинация и мутация.
4. Существуют структурные и функциональные гены.
5. Структурные гены контролируют синтез полипептидов (аминокислотных, т-РНК, р-РНК) и белков.
6. Функциональные гены контролируют деятельность структурных генов.
7. Расположение триплетов в генах структурных координатной последовательности аминокислот в полипептиде.
8. Генотип, будучи дискретным, функционирует как единое целое.

*Генетический материал* — компоненты клетки, структурно-функциональное единство которых обеспечивает хранение, реализацию и передачу наследственной информации при вегетативном и половом размножении.

Генетический материал обладает универсальными свойствами живого: дискретностью, непрерывностью, линейностью, относительной стабильностью.

*Основными свойствами генетического материала являются:*

- хранение и передача информации;
- способность к изменению генетической информации (мутации);
- способность к репарации и ее передаче от поколения к поколению (процесс восстановления природной структуры ДНК, поврежденной при нормальном биосинтезе ДНК в клетке химическими или физическими агентами);

— способность к реализации — синтезу белка, кодируемого геном при участии двух матричных процессов: транскрипции и трансляции;

— генетический материал обладает устойчивостью.

Устойчивость генетического материала обеспечивается:

— диплоидным набором хромосом;

— двойной спиралью ДНК;

— вырожденностью генетического кода;

— повтором некоторых генов;

— репарацией нарушенной структуры ДНК.

Ген одновременно является целостной и дискретной единицей. При выполнении основной функции — программировании синтеза белка — ген выступает как целостная единица, изменение которой вызывает изменение структуры белковой молекулы.

Наиболее четко дискретность гена была изучена американским генетиком С. Бензером на примере исследований тонкой структуры генов фага Т4 кишечной палочки. Им было показано, что ген может быть разделен кроссинговером на множество частей. Дискретная организация генов была установлена и у эукариот.

Транскрипция начинается со стартовой точки молекулы ДНК с участием фермента РНК-полимеразы, для эукариот — адениловый нуклеотид.

Синтез и-РНК проходит в четыре стадии:

1) связывание РНК-полимеразы с промотором;

2) инициация — начало синтеза (первая диэфирная связь между АТФ и ГТФ и вторым нуклеотидом и-РНК);

3) элонгация — рост цепи и-РНК;

4) терминация — завершение синтеза и-РНК.

Дискретность наследственного материала подразумевает его делимость на части — гены. В настоящее время ген рассматривают как единицу генетической функции. Он представляет собой минимальное количество наследственного материала, которое необходимо для синтеза тРНК, рРНК или полипептида с определенными свойствами. Ген несет ответственность за формирование и передачу по наследству отдельного признака или свойства клетки, организма. Кроме того, изменение структуры гена, возникающее в разных его участках, в конечном итоге приводит к изменению соответствующего элементарного признака.

Дискретность гена заключается в наличии субъединиц.

Элементарная единица изменчивости, единица мутации названа — *мутон*.

Единица рекомбинации — *рекон*.

Минимальные размеры мутона и рекона равны 1 паре нуклеотидов и называются — *сайт*.

Таким образом, *сайт* — это структурная единица гена.

*Кодон* — функциональная единица гена.

Представление о том, что генетическая информация хранится в ДНК и передается от клетки к клетке и из поколения в поколение, что она реализуется благодаря транскрипции в РНК и следующей за ней трансляцией. Определяющей синтез белка, известно как *«центральная догма молекулярной биологии»*.

В любой клетке различие между ее фенотипом и генотипом определяется механизмами регуляции работы генов, кодирующих структуру полипептидов, белков, рРНК и тРНК. Такие гены называются *структурными*. Именно регуляцией активности структурных генов объясняется тот факт, что несмотря на идентичность генотипов клеток многоклеточного организма, они значительно различаются по строению и функции. Переключение синтеза с одних белков на другие лежит в основе всякого развития, будь то репродукция вирусов в зараженных клетках. Рост и спорообразование у бактерий, развитие эмбрионов или дифференцировка тканей. На каждом этапе этих процессов синтезируются специфические белки.

Основная масса генов, активно функционирующих в большинстве клеток организма на протяжении онтогенеза, — это гены, которые обеспечивают синтез белков общего назначения (белки рибосом, гистоны и другие), тРНК и рРНК. Транскрибирование этих генов обеспечивается соединением РНК-полимеразы с их промоторами и, видимо, не подчиняется каким-либо другим регулирующим воздействиям. Такие гены называются *конститутивными*. Другая группа генов, детерминирующих синтез специфических продуктов, в своем функционировании зависит от различных регулирующих факторов, ее называют *регулируемыми* генами. Их активное функционирование, скорость и продолжительность транскрипции регулируется путем стимуляции или запрещения соединения РНК-полимеразы с промоторной областью гена. Единица считывания информации у прокариот называется оперон, а у эукариот — транскриптон.

Многие годы биологи рассматривали гены как статические элементы ДНК, которые занимают определенные положения на хромосомах. Но теперь признается, что многие генетические структуры не занимают четко установленных положений. Гены, которые могут перемещаться называются *транспозонами* (мобильные генетические элементы, мобильная ДНК, подвижные гены или «прыгающие» гены).

Молекула ДНК (гена) выполняет различные функции. В ней имеются не только нуклеотидные последовательности, несущие генетическую информацию, но и такие, которые контролируют репликацию и экспрессию (проявление) генов.

Итак, по своим функциям гены подразделяются на следующие типы:

1. Структурные — последовательность их нуклеотидов кодирует структуру синтезируемых клеткой макромолекул (полипептидов, белков, р-РНК, т-РНК). Они дают информацию о последовательности аминокислот в белках и нуклеотидов в различных видах РНК.

2. Функциональные или акцепторные — последовательность их нуклеотидов не имеет кодирующей функции, но с помощью присоединения к



ним разных белковых факторов управляют работой структурных генов. К ним относят: гены-операторы (позволяют или не позволяют считывать информацию со структурных генов), гены-регуляторы (дают информацию о синтезе особого белка-репрессора, способного блокировать ген-оператор).

3. Транспозоны — это мобильные генетические элементы (*мобильные ДНК, подвижные гены*).

*Мобильные генетические элементы* — это мобильные последовательности ДНК, найденные в геномах всех организмов. Во многих геномах они находятся в изобилии: например, они составляют до 50 % человеческой ДНК. Большинство транспозонов способны встраиваться в различные участки ДНК, основываясь на механизмах, которые отличны от рекомбинации гомологичных хромосом. Они часто вызывают мутации, либо вставляясь в другой ген и разрушая это, или вызывая перестройки ДНК, такие как делеции, дупликации и инверсии.

Мобильные элементы бывают автономными и неавтономными. Среди автономных, одни имеют только те последовательности, которые необходимы для их собственного перемещения, тогда как другие имеют сложную структуру и кодируют ряд функций, не связанных непосредственно с перемещением. Неавтономные транспозоны для транспозиции (перемещения) нуждаются в ферментах, кодируемых автономными транспозонами.

У человека транспозоны были обнаружены в 1991, когда Фрэнсис Коллинз и его коллеги обнаружили 31-летнего человека с нейрофиброматозом, вызванным перемещением последовательности *Alu*. Нейрофиброматоз — болезнь, которая вызывает многочисленные опухоли кожи и нервов. В настоящее время установлено, что от 45 до 50 % (по данным разных авторов) человеческого генома состоят из последовательностей, происходящих от мобильных элементов, хотя большинство этих элементов является бездействующими и не способны к перемещению. Из них, около 2 % — это ДНК транспозоны и приблизительно 42 % — ретротранспозоны.

Эволюционное значение мобильных генетических элементов неизвестно, но были предложены три гипотезы объясняющих их происхождение.

Гипотезы «клеточной функции» предполагает, что мобильные элементы обеспечивают какую-то важную функцию клетки.

Гипотеза «генетической изменчивости» предполагает, что мобильные элементы, вызывая мутации, обеспечивают эволюционную гибкость видов.

Гипотеза «эгоистичной ДНК» предполагает, что мобильные элементы не приносят какую-либо пользу клетки, но они широко распространены из-за того, что они могут копироваться и распространяться.

Также установлена способность подвижных генетических элементов к точному вырезанию и удалению их из хромосом. Перемещение таких нуклеотидных последовательностей в пределах генома может влиять на регуляцию экспрессии генов, которые прилежат к месту встраивания этих элементов. В результате таких перемещений могут активироваться ранее не активные гены, и наоборот.

## ИНДУКЦИЯ И РЕПРЕССИЯ ГЕНОВ

Действующие в клетках прокариот и эукариот регуляторные механизмы обеспечивают:

— возможность включения или выключения экспрессии гена в ответ на изменение внешних условий;

— программированное каскадное включение экспрессии многих генов.

Первый тип регуляции наиболее полно изучен у бактерий. У *E. coli* ферменты, обеспечивающие утилизацию сахаров в качестве единственных источников углерода и азота, синтезируются лишь в ответ на появление в среде индуктора-субстрата, которым служит соответствующий сахар. До появления субстрата в среде ген, ответственный за синтез фермента, осуществляющего его гидролаз, неактивен, или репрессирован. Под действием индуктора происходит дерепрессия гена: он включается (индуцируется).

Выключение генов (репрессия) также может вызываться факторами внешней среды. Так, большинство генов, индуцирующих ферменты синтеза аминокислот у *E. coli* функционируют, когда в среде культивирования отсутствуют соответствующие аминокислоты. При выращивании в питательной среде, содержащей достаточное для роста бактерий количество этих же аминокислот, экспрессия кодирующих их генов подавляется. Этот пример показывает существование двух групп генов (и соответственно ферментов). Одни из них в норме репрессированы и их дерепрессия происходит под влиянием индукторов, другие находятся в дерепрессированном состоянии и репрессируются собственно продуктами. Несмотря на это различие, принципиальные механизмы регуляции обеих групп генов сходны — они действуют на уровне транскрипции.

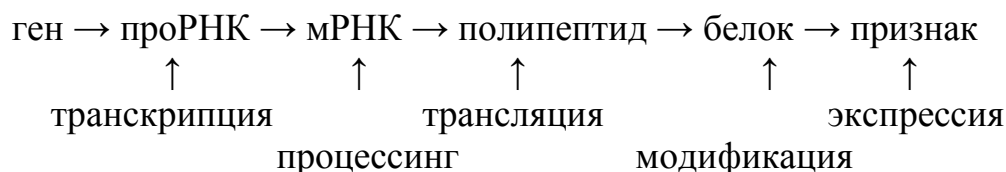
Регуляция второго типа, обеспечивающая запуск «цепной реакции» включения многих генов обнаружена у фагов, инфицировавших клетки бактерий.

Следует отметить, что оба типа регуляции осуществляются в отношении лишь тех генов, постоянное функционирование которых нежелательно для клетки, поскольку при этом расходуется энергия, необходимая для ее роста и размножения в условиях, когда продукты, кодируемые этими генами, не требуются (например, синтез ферментов, расщепляющих сахара, отсутствующие в среде культивирования бактерий, либо образование ферментов биосинтеза аминокислот, находящихся в среде культивирования в достаточном количестве). Многие же гены детерминируют синтез таких продуктов, которые нужны клетке постоянно, например ДНК- и РНК-полимераз, рибосомальных белков, молекул тРНК, рРНК и других. Подобные гены обычно экспрессируются постоянно, поэтому их называют *конститутивными*.

## ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

*Генная экспрессия* — это совокупность молекулярных механизмов реализации наследственной информации, благодаря которым ген проявляет свой потенциал в конкретном фенотипическом признаке организма.

### *Этапы процесса экспрессии гена*



Важнейшим фактором регуляции генной активности являются элементы генома, отвечающие за синтез регуляторных белков, — *гены-регуляторы*. Соединяясь с определенными нуклеотидными последовательностями ДНК, предшествующими структурной части регулируемого гена, — операторами, белки-регуляторы способствуют или препятствуют соединению РНК-полимеразы с промотором. Если белок-регулятор взаимодействует с оператором, занимающим часть промотора или расположенным между ним и структурной частью гена, то это не дает возможности РНК-полимеразе соединиться с промоторной последовательностью и осуществить транскрипцию. Такой белок называют *репрессором*, и в этом случае осуществляется *негативный контроль* экспрессии гена со стороны гена-регулятора.

Если промотор обладает слабой способностью соединяться с РНК-полимеразой, а ему предшествует область, узнаваемая белком-регулятором, присоединение последнего непосредственно перед промотором к молекуле ДНК облегчает связывание РНК-полимеразы с промотором, а затем следует транскрипция. Такие белки называют *активаторами* (или *апоиндукторами*), а контроль экспрессии гена со стороны гена-регулятора — *позитивным*.

Типы регуляции работы оперона:

1. Негативная регуляция: связывание регуляторного белка с оператором репрессирует работу оперона.

Индукция: эффектор делает регуляторный белок неспособным связываться с оператором, структурные гены транскрибируются.

Репрессия: эффектор делает регуляторный белок способным связываться с оператором, структурные гены не транскрибируются.

2. Позитивная регуляция: связывание регуляторного белка с опероном активирует работу оперона.

Индукция: эффектор делает регуляторный белок способным связываться с оператором, структурные гены транскрибируются.

Репрессия: эффектор делает регуляторный белок неспособным связываться с оператором, структурные гены не транскрибируются.

## МОДЕЛЬ ОПЕРОНА

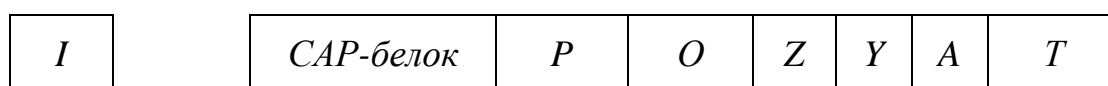
*Оперон* — это тесно связанная последовательность структурных генов, определяющих синтез белков, которые участвуют в одной цепи биохимических преобразований.

Например, это могут быть гены, которые детерминируют синтез ферментов, участвующих в метаболизме какого-либо вещества или в синтезе какого-либо компонента клетки. Оперонная модель регуляции экспрессии генов предполагает наличие единой системы регуляции у таких объединенных в один оперон структурных генов, имеющих общий промотор и оператор.

Особенностью прокариот является транскрибирование мРНК со всех структурных генов оперона в виде одного полицистронного транскрипта, с которого в дальнейшем синтезируются отдельные пептиды.

Примером участия генетических и негенетических факторов в регуляции экспрессии генов у прокариот может служить функционирование лактозного оперона у кишечной палочки *E. coli*. При отсутствии в среде, на которой выращиваются бактерии, сахара лактозы активный белок-репрессор, синтезируемый геном-регулятором (I), взаимодействует с оператором (O), препятствуя соединению РНК-полимеразы с промотором (P) и транскрипции структурных генов Z, Y, A. Появление в среде лактозы инактивирует репрессор, он не соединяется с оператором, РНК-полимераза взаимодействует с промотором и осуществляет транскрипцию полицистронной мРНК. Последняя обеспечивает синтез сразу всех ферментов, участвующих в метаболизме лактозы. Уменьшение содержания лактозы в результате ее ферментативного расщепления приводит к восстановлению способности репрессора соединяться с операторами прекращения транскрипции генов Z, Y, A (рисунок 1).

Таким образом, регуляция экспрессии генов, организованных у прокариот в опероны, является *координированной*. Синтез полицистронной мРНК обеспечивает одинаковый уровень синтеза всех ферментов, участвующих в биохимическом процессе.



**Рисунок 1 — Основные компоненты оперона:**

**I — ген-регулятор; P — промотор; O — оператор; Z, Y, A — структурные гены;  
T — ген-терминатор**

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОКАРИОТ. ЛАКТОЗНЫЙ ОПЕРОН E. COLI

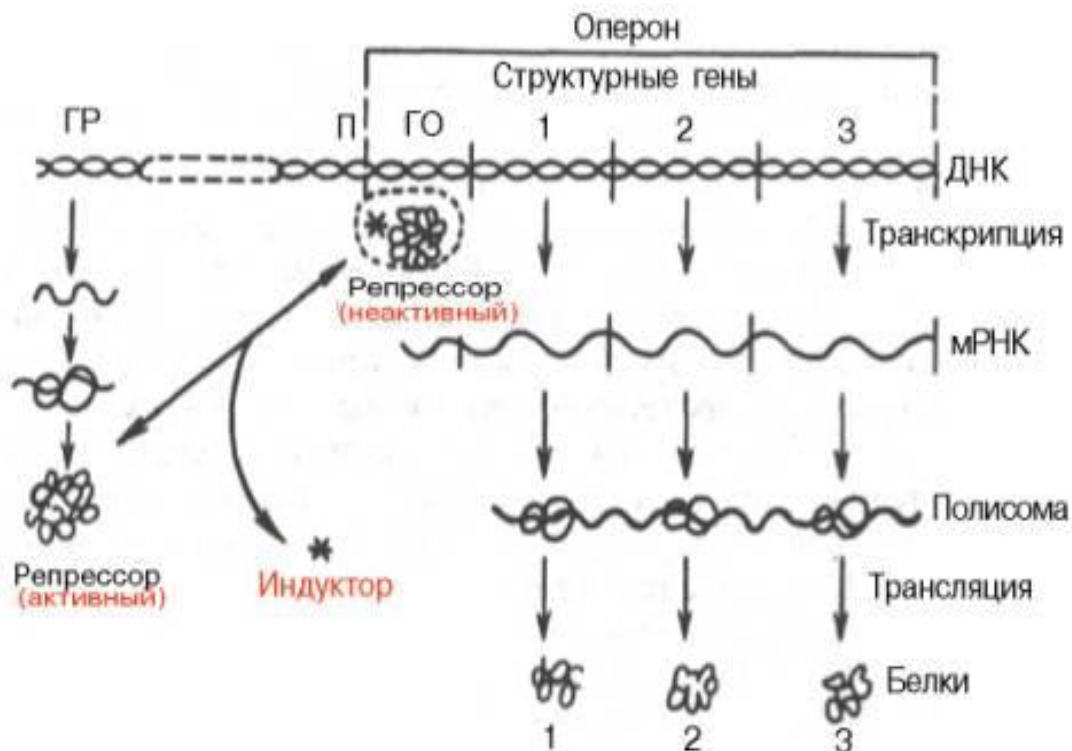
Основным условием существования любых живых организмов является наличие тонкой, гибкой, согласованно действующей системы регуляции, в которой все элементы тесно связаны друг с другом. В белковом синтезе не только количественный и качественный состав белков, но и время синтеза имеют большое значение. От этого зависит приспособление микроорганизмов к условиям окружающей питательной среды как биологической необходимости или приспособление сложного многоклеточного организма к физиологическим потребностям при изменении внутренних и внешних условий.

Клетки живых организмов обладают способностью синтезировать огромное количество разнообразных белков, однако, они никогда не синтезируют все белки. Количество и разнообразие белков, в частности ферментов, определяются степенью их участия в метаболизме. Более того, интенсивность обмена регулируется скоростью синтеза белка.

Таким образом, синтез белка регулируется внешними и внутренними факторами и условиями, которые диктуют клетке синтез такого количества белка и такого набора белков, которые необходимы для выполнения физиологических функций. Все это свидетельствует о весьма сложном, тонком и целесообразном механизме регуляции синтеза белка в клетке.

Общую теорию регуляции синтеза белка (модель оперона регуляции транскрипции) разработали французские ученые-микробиологи, лауреаты Нобелевской премии Ф. Жакоб и Ж. Моно при изучении регуляции генной активности прокариот (1961 г.). Сущность этой теории сводится к «выключению» или «включению» генов как функционирующих единиц, к возможности или невозможности проявления их способности передавать закодированную в структурных генах ДНК генетическую информацию на синтез специфических белков. Эта теория, доказанная в опытах на бактериях, получила широкое признание. У бактерий доказана индукция ферментов (синтез ферментов *de novo*) при добавлении в питательную среду субстратов этих ферментов. Добавление конечных продуктов реакции, образование которых катализируется этими же ферментами, напротив, вызывает уменьшение количества синтезируемых ферментов. Это последнее явление получило название репрессии синтеза ферментов. Оба явления — индукция и репрессия — взаимосвязаны.

Согласно теории Ф. Жакоба и Ж. Моно, в биосинтезе белка у бактерий участвуют по крайней мере 3 типа генов: структурные гены, ген-регулятор и ген-оператор. Структурные гены определяют первичную структуру синтезируемого белка. Именно эти гены в цепи ДНК являются основой для биосинтеза мРНК, которая затем поступает в рибосому и, как было указано, служит матрицей для биосинтеза белка (регуляция синтеза белка путем индукции представлена на рисунке 2).



**Рисунок 2 — Регуляция синтеза белка путем индукции (схема):**  
 ГР — ген-регулятор; П — промотор; ГО — ген-оператор

Синтез мРНК на структурных генах молекулы ДНК непосредственно контролируется определенным участком, называемым геном-оператором. Он служит как бы пусковым механизмом для функционирования структурных генов. Ген-оператор локализован на крайнем отрезке структурного гена или структурных генов, регулируемых им. «Считывание» генетического кода, то есть формирование мРНК, начинается с промотора — участка ДНК, расположенного рядом с геном-оператором и являющегося точкой инициации для синтеза мРНК, и распространяется последовательно вдоль оператора и структурных генов. Синтезированную молекулу мРНК, кодирующую синтез нескольких разных белков, принято называть полигенным (полицистронным) транскриптом.

В свою очередь деятельность оперона находится под контролирующим влиянием другого участка цепи ДНК, получившего название ген-регулятора. Структурные гены и ген-регулятор расположены в разных участках цепи ДНК, поэтому связь между ними, как предполагают Ф. Жакоб и Ж. Моно, осуществляется при помощи вещества-посредника, оказавшегося белком и названного репрессором. Образование репрессора происходит в рибосомах ядра на матрице специфической мРНК, синтезированной на ген-регуляторе (рисунок 2). Репрессор имеет сродство к гену-оператору и обратимо соединяется с ним в комплекс. Образование такого комплекса приводит к блокированию синтеза мРНК и, следовательно, синтеза белка,

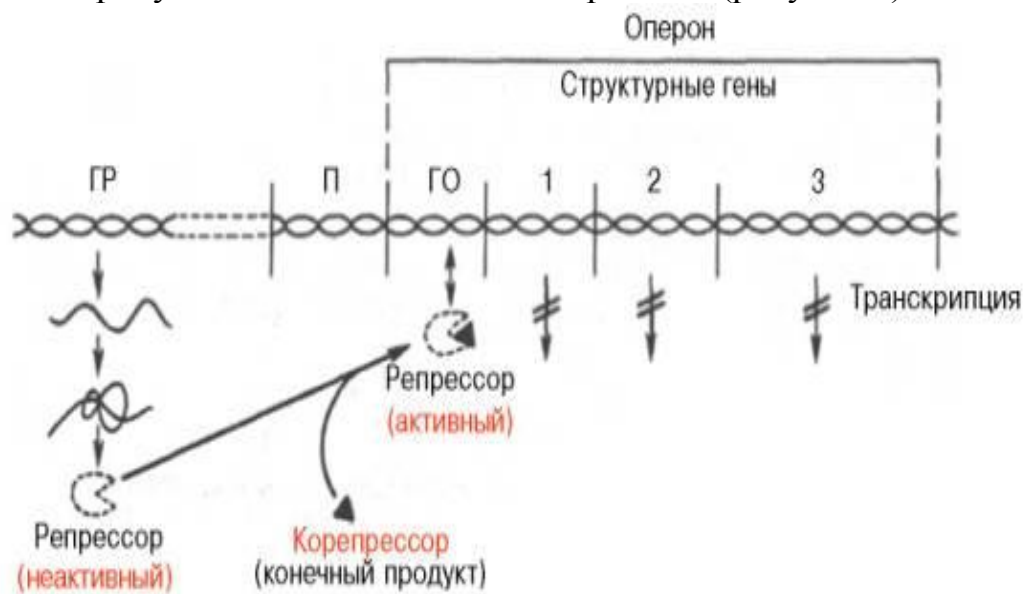
то есть функция гена-регулятора состоит в том, чтобы через белок-репрессор прекращать (запрещать) деятельность структурных генов, синтезирующих мРНК. Репрессор, кроме того, обладает способностью строго специфически связываться с определенными низкомолекулярными веществами, называемыми индукторами, или эффекторами. Если такой индуктор соединяется с репрессором, то последний теряет способность связываться с геном-оператором, который, таким образом, выходит из-под контроля гена-регулятора, и начинается синтез мРНК. Это типичный пример отрицательной формы контроля, когда индуктор, соединяясь с белком-репрессором, вызывает изменения его третичной структуры настолько, что репрессор теряет способность связываться с геном-оператором. Процесс этот аналогичен взаимоотношениям аллостерического центра фермента с эффектором, под влиянием которого изменяется третичная структура фермента и он теряет способность связываться со своим субстратом.

Механизм описанной регуляции синтеза белка и взаимоотношения репрессора со структурными генами были доказаны в опытах с *E. coli* на примере синтеза  $\beta$ -галактозидазы (лактазы) — фермента, расщепляющего молочный сахар на глюкозу и галактозу. Дикий штамм *E. coli* обычно растет на глюкозе. Если вместо глюкозы в питательную среду добавить лактозу (новый источник энергии и углерода), то штамм не будет расти, пока не будут синтезированы соответствующие ферменты (адаптивный синтез). При поступлении в клетку лактозы (индуктор) молекулы ее связываются с белком-репрессором и блокируют связь между репрессором и геном-оператором. Ген-оператор и структурные гены при этом начинают снова функционировать и синтезировать необходимую мРНК, которая «дает команду» рибосомам синтезировать  $\beta$ -галактозидазу. Одновременно ген-регулятор продолжает вырабатывать репрессор, но последний блокируется новыми молекулами лактозы, поэтому синтез фермента продолжается. Как только молекулы лактозы будут полностью расщеплены, репрессор освобождается и, поступив в ДНК, связывает ген-оператор и блокирует синтез мРНК, а следовательно, синтез  $\beta$ -галактозидазы в рибосомах.

Таким образом, биосинтез мРНК, контролирующий синтез белка в рибосомах, зависит от функционального состояния репрессора. Этот репрессор представляет собой тетрамерный белок с общей молекулярной массой около 150000 единиц. Если он находится в активном состоянии, то есть не связан с индуктором, то блокирует ген-оператор и синтеза мРНК не происходит. При поступлении метаболита — индуктора — в клетку его молекулы связывают репрессор, превращая его в неактивную форму (или, возможно, снижают его сродство к гену-оператору). Структурные гены выходят из-под запрещающего контроля и начинают синтезировать нужную мРНК.

Как было указано, концентрация ряда ферментов в клетках резко снижается при повышении содержания отдаленных конечных продуктов, об-

разующихся в цепи последовательных ферментативных реакций. Такой эффект, получивший название репрессии ферментов, часто наблюдается при реакциях биосинтеза. В этих случаях молекулы репрессора, также образующиеся в рибосомах ядра по «команде» гена-регулятора, являются неактивными и сами по себе не обладают способностью подавлять деятельность гена-оператора и, следовательно, всего оперона, но приобретают такую способность после образования комплекса с конечным или одним из конечных продуктов биосинтетического процесса (рисунок 3).



**Рисунок 3 — Схема регуляции синтеза белка путем репрессии**

Конечный продукт выступает, таким образом, в качестве корепрессора. Имеются данные, что в качестве корепрессоров в синтезе ферментов обмена аминокислот, по-видимому, выступает не только свободная аминокислота как конечный продукт биосинтетической реакции, но и комплекс ее с тРНК — аминоксил-тРНК.

В регуляции экспрессии структурных генов специфическое участие принимает особый белок — катаболитный генактивирующий белок (от англ. catabolite gene activation protein, сокращенно CAP). Этот белок, взаимодействующий с цАМФ, образует комплекс, способствующий прикреплению РНК-полимеразы к промоторному участку генома. В присутствии комплекса CAP-цАМФ фермент может начать транскрипцию оперона, включая структурные гены, то есть в клетках имеется еще один, дополнительный CAP-цАМФ-регулятор, действующий, скорее всего, в качестве положительного регулятора, поскольку его присутствие необходимо для начала экспрессии гена.

Таким образом, концепция Ф. Жакоба и Ж. Моно о механизме проявления (экспрессии) активности генов признана одним из блестящих достижений молекулярной биологии. Она явилась логическим развитием многочисленных исследований, проведенных генетиками и биохимиками в предшествующие десятилетия.



## ТРИПТОФАНОВЫЙ ОПЕРОН E. COLI

Биосинтез аминокислоты триптофана — многостадийный процесс, в результате которого хориновая кислота превращается вначале 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. Гены *trpA* и *trpB* детерминируют соответственно субъединицы триптофансинтетазы, продукты генов *trpE* и *trpD* совместно образуют фермент атранилатсинтазу, ген *trpC* кодирует индоглицерофосфатсинтазу. Наиболее проксимально к регуляторной промотор–операторной зоне расположен ген *trpE*, а наиболее дистально — ген *trpA*. Ген *trpR*, кодирующий белок–репрессор, расположен на значительном удалении от *trp*-оперона. Оператор *trp*-оперона находится внутри промотора, содержит палиндром, образованный двумя инвертированными повторами длиной 10 пар нуклеотидов. Триптофановый оперон обладает важными особенностями, характерными и для других бактериальных оперонов, контролирующих биосинтез аминокислот (рисунок 4).

Регуляция биосинтеза триптофана осуществляется на трех уровнях. Первый из них связан с ингибированием конечным продуктом, не затрагивающим обычно 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 атранилатсинтаза обладает значительно меньшим сродством к своим субстратам — глутаминовой и хориновой кислотам. Второй тип регуляции биосинтеза триптофана осуществляется на уровне взаимодействия репрессора с оператором. В отличие от оперонов, определяющих утилизацию сахаров, цАМФ и белок CAP не участвуют в регуляции оперонов, детерминирующих синтез аминокислот. Также молекула-эффектор не индуцирует генную активность в результате отсоединения репрессора от оператора, а, напротив, подавляет функционирование структурных генов вследствие присоединения к оператору апорепрессора. Последний представляет собой комплекс репрессора с конечным продуктом всего биохимического пути, то есть, в данном случае с триптофаном. При избытке триптофана в среде апорепрессор подавляет образование и-РНК, что снижает уровень продукции ферментов биосинтеза триптофана примерно в 70 раз.

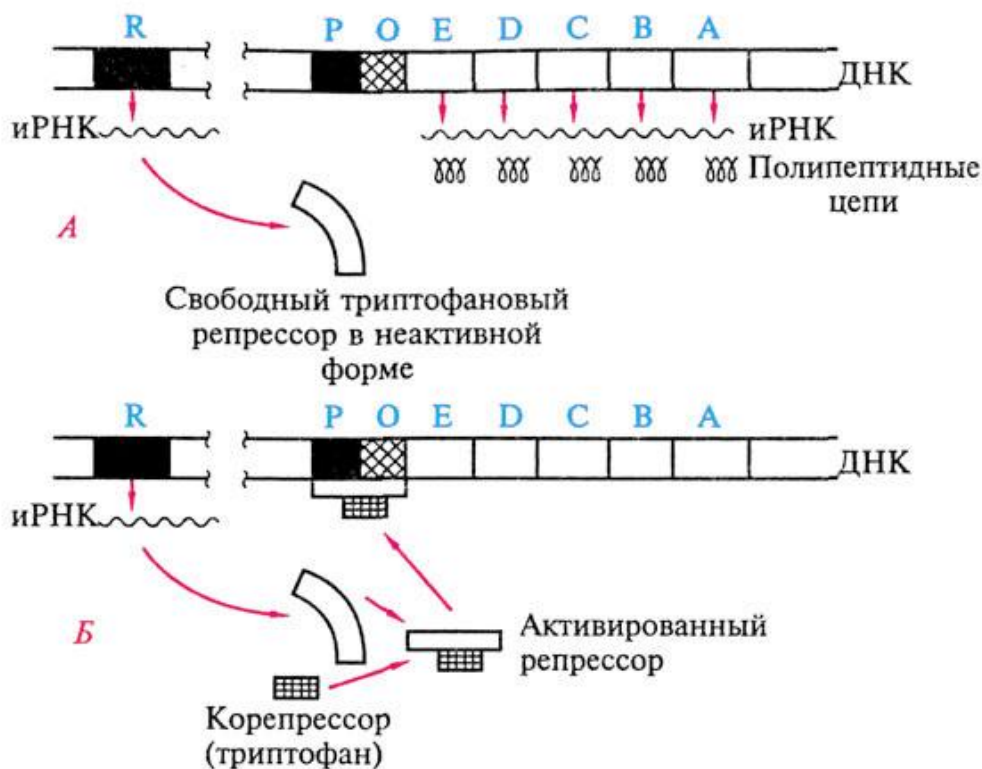


Рисунок 4 — Структура и регуляция работы триптофанового (*trp*) оперона у *E. Coli*

## РОЛЬ НЕГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕННОЙ АКТИВНОСТИ

Наряду с генетическими факторами в регуляции экспрессии генов на стадии транскрипции принимают негенетические факторы – *эффекторы*. К ним относят вещества небелковой природы, взаимодействующие с белками-регуляторами и изменяющие их способность соединяться с нуклеотидными последовательностями операторов. В зависимости от результатов такого взаимодействия среди эффекторов различают *индукторы*, запускающие транскрипцию, и *корепрессоры*, препятствующие ей.

Индукторы могут инактивировать белки-репрессоры. Которые перестают соединяться с операторами, или повышают способность белков-активаторов (апоиндукторов) к связыванию с ними, что облегчает соединение РНК-полимеразы с промотором. В результате такого воздействия на регуляторные белки регулируемые гены активно транскрибируются.

Корепрессоры могут модифицировать апоиндукторы, теряющие при этом способность соединяться с операторами, или активировать репрессоры, находящиеся в неактивном состоянии. Следствием такого взаимодействием эффектора с белками-регуляторами является невозможность соединения РНК-полимеразы с промотором и отсутствие транскрипции.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЭУКАРИОТ

В связи с особенностями организации отдельных генов эукариот и генома в целом, регуляция генной активности у них характеризуется некоторыми отличиями по сравнению с прокариотами.

У эукариот не установлено оперонной организации генов. Гены, определяющие синтез ферментов одной цепи биохимических реакций, могут быть рассеяны в геноме и, очевидно, не имеют, как у *прокариот*, *единой регулирующей системы* (*ген-регулятор*, *оператор*, *промотор*). В связи с этим синтезируемые мРНК у эукариот моноцистронны, то есть являются матрицами для отдельных пептидных цепей.

Для большинства эукариотических клеток, как и клеток прокариот, стадия инициации транскрипции является основной, главной регуляторной точкой экспрессии активности генов.

Тем не менее имеются существенные различия: во-первых, место процессов транскрипции (в ядре) и трансляции (в цитоплазме); во-вторых, активирование транскрипции у эукариот связано с множеством сложных изменений структуры хроматина в транскрибируемой области; в-третьих, в эукариотических клетках преобладают положительные регуляторные механизмы над отрицательными. Положительная или отрицательная регуляция определяется типом белков, вовлеченных в механизм регуляции.

В многоклеточных организмах среднее число регуляторных сайтов для одного гена минимум равно пяти; положительные регуляторные белки связываются со своими специфическими последовательностями в структуре ДНК. Следует указать еще на один момент, почему эукариотическая клетка использует положительные механизмы регуляции экспрессии генов. Подсчитано, что в геноме человека содержится около 32 тыс. генов, соответственно каждая клетка при отрицательном механизме регуляции могла бы синтезировать 32 тыс. разных репрессоров, причем в достаточных количествах. При положительном механизме регуляции большинство генов в принципе неактивно, соответственно молекула РНК-полимеразы не связывается с промотором и клетка синтезирует ограниченный и избирательный круг активаторных белков, необходимых для инициации транскрипции.

У эукариот выделены и охарактеризованы также пять регуляторных белков, получивших название транскрипционных факторов (ТФ: ПА, ПВ, ПД, ПЕ и ПФ). Они необходимы для узнавания участка (сайта) ДНК, названного ТАТА (consensus последовательности, ТАТАААА).

Установлено, что функционирование эукариотических генов подчиняется регуляторным воздействиям, однако регуляция транскрипции у эукариот является *комбинационной*, то есть активность каждого гена регулируется большим спектром генов-регуляторов.

У многих эукариотических генов, кодирующих белки и транскрибируемых РНК-полимеразой II, в ДНК имеется несколько областей, которые узна-

ются разными белками-регуляторами. Одной из них является область, расположенная вблизи промотора. Она включает около 100 пар нуклеотидов, в том числе ТАТА-блок, располагающийся на расстоянии 25 пар нуклеотидов от точки начала транскрипции. Установлено, что для успешного присоединения РНК-полимеразы II к промотору необходимо предварительное соединение с ТАТА-блоком особого белка — *фактора транскрипции* — с образованием стабильного транскрипционного комплекса. Именно этот комплекс ДНК с белком узнается РНК-полимеразой II. Последовательности нуклеотидов, примыкающие к ТАТА-блоку, формируют требуемый для транскрипции элемент, расположенный перед промотором.

Другая область, играющая важную роль в регуляции активности эукариотических генов, располагается на большом расстоянии от промотора (до нескольких тысяч пар нуклеотидов) и называется *энхансером* (от англ. enhance — усиливать).

И энхансер, и препромоторный элемент эукариотических генов содержат серию коротких нуклеотидных последовательностей, которые связываются с соответствующими регуляторными белками. В результате взаимодействия этих белков происходит включение или выключение генов.

Особенностью регуляции экспрессии эукариотических генов является также существование белков-регуляторов, которые способны контролировать транскрипцию многих генов, кодирующих, возможно, другие белки-регуляторы. В связи с этим некоторые (главные) белки-регуляторы обладают координирующим влиянием на активность многих генов и их действие характеризуется плеiotропным эффектом. Примером может служить существование белка, который активирует транскрипцию нескольких специальных генов, определяющих дифференцировку предшественников жировых клеток.

Ввиду того, что в геноме эукариот имеется много избыточной ДНК, а в каждой клетке организма транскрибируется всего 7–10 % генов, логично предположение о том, что у них преобладает позитивный генетический контроль, при котором активация небольшой части генома оказывается более экономичной, чем репрессия основной массы генов.

Особенностью регуляции транскрипции у эукариот является подчиненность этих процессов регулирующим влияниям со стороны гормонов организма. Последние часто играют роль индукторов транскрипции. Так, некоторые стероидные гормоны обратимо связываются особыми белками-рецепторами, образуя с ними комплексы. Активированный гормон рецептор приобретает способность соединяться со специфическими участками хроматина, ответственных за регуляцию активности генов, в которых рецепторы узнают определенные последовательности ДНК.

Специфичность регулирующего воздействия гормона на транскрипцию обусловлена не только природой самого гормона, но и природой клетки-мишени, синтезирующей специфический белок-рецептор, который влияет на

транскрипцию определенного для данной клетки набора генов. Примером участия гормонов в регуляции активности определенных генов может служить влияние тестостерона на развитие тканей организма по мужскому типу при наличии специфического белка-рецептора. Отсутствие последнего при мутации соответствующего гена не дает возможности гормону проникнуть в ядра клеток-мишеней и обеспечить включение определенного набора генов: развивается синдром тестикулярной феминизации, или синдром Мориса.

Следующая особенность регуляции генной активности у эукариот связана с образованием стойкого комплекса ДНК с белками — *хроматина*. Ведущая роль в компактизации ДНК принадлежит гистонам, поэтому они участвуют и в процессах регуляции генной активности. Непременным условием для осуществления транскрипции у эукариот является предварительная декомпактизация хроматина на соответствующем участке, где временно утрачивается связь с Н1-гистонами и несколько ослабляется связь с нуклеосомными гистонами. Нуклеосомная организация хроматина не утрачивается в ходе транскрипции, однако контакт ДНК и негистоновых белков становится возможным и происходит дерепрессия гена.

Отличительной особенностью регуляции экспрессии генов у эукариот является возможность ее осуществления не только на стадии транскрипции, но и на других этапах растянутого во времени процесса реализации наследственной информации. Регуляция на стадии транскрипции является наиболее экономичной, но не достаточно быстро реагирующей на изменение ситуации. Так, возникшая в клетке потребность в каком-либо белке не может быстро удовлетворена путем включения транскрипции соответствующего гена. Синтезированный транскрипт должен подвергнуться процессингу, затем зрелая мРНК должна образовать комплекс с рибосомами, осуществить трансляцию информации, синтезировав пептид, который, лишь пройдя посттрансляционное изменение, образует активный белок необходимый клетке.

В том случае, когда клетке нужно прекратить синтез какого-то продукта, после выключения транскрипции соответствующего гена в цитоплазму некоторое время будут продолжать поступать созревающие молекулы мРНК, осуществляющие там синтез пептидных цепей, пока они не деградируют под действием ферментов. Таким образом, для эффективной регуляции экспрессии генов у эукариот должны существовать механизмы, работающие не только на стадии транскрипции, но и на других этапах этого процесса.

Связанная с экзон-интронной организацией генов необходимость *процессинга*, в том числе *сплайсинга*, делает возможным регуляцию этих процессов в ядре.

Наконец, регуляция процесса реализации наследственной информации может осуществляться и на *стадии посттрансляционных изменений*. Прекращение этих процессов обуславливает задержку активных молекул белка при наличии для этого пептидных цепей. Например, для формирования активной формы белкового гормона — из проинсулина должны уда-

ляться две субъединицы. Торможение этих процессов уменьшает выход конечного активного продукта.

Таким образом, рассмотренный выше пример регуляции экспрессии генов демонстрирует сложнейшие взаимосвязи, которые существуют между ними в геноме. Формирование любого признака поэтому нельзя рассматривать как результат действия одной пары аллельных генов в генотипе. В любом случае регуляция экспрессии ответственного за этот признак гена осуществляется при участии других генов.

Надо отметить, что онтогенез эукариот является длительным и сложным процессом, осуществляющимся со сменой признаков, с образованием большого количества соматических клеток. В процессе онтогенеза происходит дифференцировка соматических клеток с дальнейшим образованием тканей, органов и систем органов. Дифференцировка клеток в онтогенезе не обязательно сопровождается необратимой инактивацией генетического материала ядра. Проблема генетического контроля индивидуального развития связана с дифференциальной экспрессией генов эукариот. Примеров дифференциальной активности генов эукариот является образование так называемых пухов или колец Бальбиани в гигантских хромосомах двукрылых. Пухы — это характерные вздутия определенных дисков политенных хромосом, образующиеся в результате локальной декомпактизации в них ДНК. В этих участках активно осуществляется транскрипция. Образование и исчезновение пухов регулирует внутренняя среда организма в соответствии со стадией развития. Одним из важных регуляторов образования пухов и, следовательно, дифференциальной активности генов у насекомых являются стероидные гормоны.

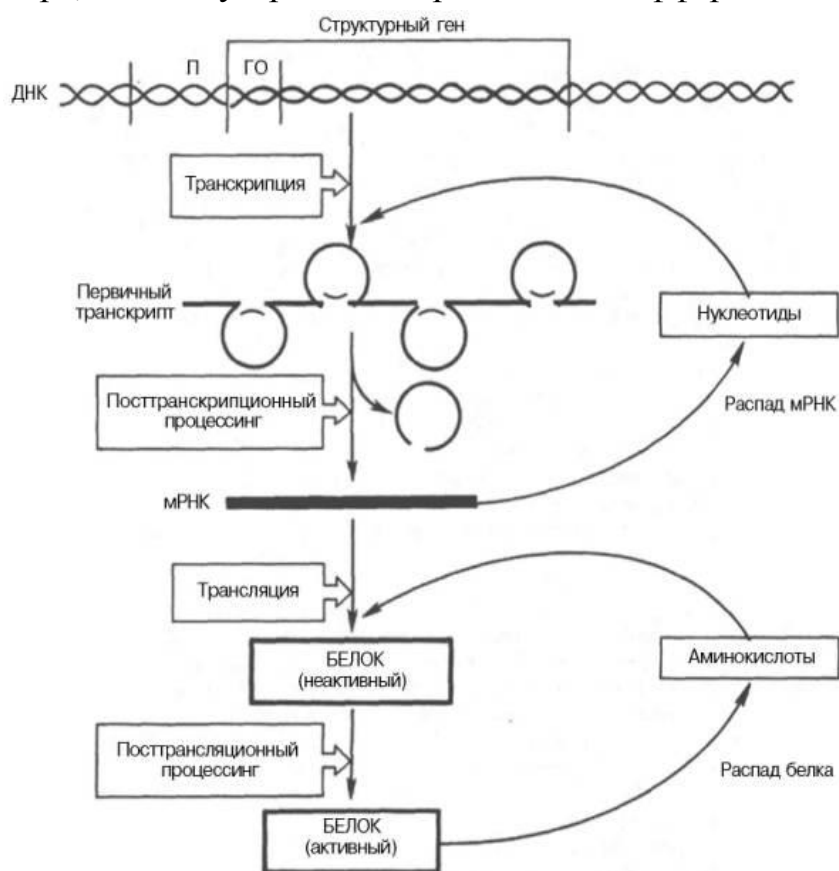
Регуляция экспрессии активности генов у эукариот осуществляется значительно более сложным путем, поскольку процессы транскрипции и трансляции разделены не только пространственно ядерной биомембраной, но и во времени. Эта регуляция базируется как минимум на 6 уровнях сложных биологических процессов, определяющих скорость синтеза и распада генетического продукта (рисунок 5).

Схема регуляции транскрипции у эукариот была предложена Г. П. Георгиевым в 1972 г. Принцип регуляции — *обратная связь* сохраняется, но механизмы ее более сложны. Транскриптон (функциональная генетическая единица эукариот — участок ДНК, с которого считывается единая непрерывная молекула РНК) состоит из информативной и неинформативной зон. Неинформативная (акцепторная) зона начинается промотором с инициатором транскрипции. Далее следует несколько генов-операторов, за которыми расположена информативная зона. Информативная (структурная) зона образована одним структурным геном. В конце которого расположен терминатор транскрипции. Структурные гены эукариот имеют вставки из неинформативных — «молчащих» участков ДНК — интронов.

Работу транскриптона регулирует несколько генов-регуляторов, дающих информацию для синтеза ряда белков-репрессоров. Индукторами в клетках эукариот являются сложные молекулы (гормоны). Когда индукторы освобож-

дают гены-операторы от белков-репрессоров, РНК-полимераза разрывает водородные связи между двумя цепочками ДНК транскриптона, начиная с инициатора транскрипции. Согласно правилу комплементарности, на кодирующей цепочке сначала синтезируется большая молекула про-иРНК, списывающая информацию (порядок нуклеотидов) как с информативной, так и с неинформативной зон. В дальнейшем в ядре клетки происходит процессинг — ферментативное разрушение неинформативной части РНК и расщепление ферментами рестриктазами информативной части на фрагменты, соответствующие экзонам. Молекулы и-РНК формируются посредством сплайсинга отдельных информативных фрагментов ферментами лигазами. Процессы, происходящие в ядре с про-иРНК (процессинг и сплайсинг), называют созреванием. В начале зрелой и-РНК имеется кодон-инициатор, а в конце — кодон-терминатор трансляции. Далее зрелая и-РНК выходит из ядра и поступает в рибосомы. Где и происходит синтез соответствующих белков-ферментов, расщепляющих индуктор. Включение и выключение транскриптона происходит примерно так же, как и у оперона прокариот.

Следовательно, у эукариот синтез и-РНК и ее трансляция происходят независимо друг от друга в разных частях клетки в разное время — сначала транскрипция и созревание в ядре. А затем трансляция в рибосомах цитоплазмы. Так же регуляция активности генов у эукариот осложняется наличием у них ядра, сложно устроенных хромосом и дифференциацией клеток.



**Рисунок 5 — Схематическое изображение регуляции экспрессии активности гена у эукариот**

### ***Основные отличия экспрессии генов прокариот от эукариот***

1. Почти всегда оперон эукариот содержит только один структурный ген в то время как у вирусов и прокариот в большинстве оперонов их бывает несколько, иногда более десятка.

2. У эукариот структурные гены, ответственные за разные звенья той или иной цепи биохимических реакций, как правило, разбросаны по геному, а не сосредоточены в одном опероне, как это часто имеет место у прокариотов.

3. У эукариот существует одновременное групповое подавление активности генов во всем ядре, в целой хромосоме, или в большом ее участке. Такая групповая репрессия генов осуществляется в значительной мере гистонами-белками, входящими в состав эукариотических хромосом. Примером групповой регуляции активности генов — это полное прекращение транскрипции всех генов при сперматогенезе.

4. Существует система регуляции с помощью стероидных гормонов. Последние связываются со специальными белками-рецепторами, расположенными в мембранах клеток-мишеней. Синтез белков-рецепторов контролируется геном тестикулярной феминизации X-хромосомы. Такой комплекс обеспечивает активацию определенного гена.

5. Транскрипция и трансляция у эукариот разобщены (у прокариот — сопряжены). Синтез и-РНК происходит в ядре, а белков — на рибосоме.

## **ГЕМОГЛОБИНЫ ЧЕЛОВЕКА. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА**

У высших позвоночных известен ряд глобиновых генов, контролирующих синтез полипептидов гемоглобина. У человека в геноме имеется восемь активных глобиновых генов, образующих два семейства. Семейства генов определяющих синтез  $\alpha$ -глобинов, содержит два глобиновых гена, активно функционирующих в эмбриогенезе, и два  $\alpha$ -глобиновых гена, которые экспрессируются у плода и взрослого человека.

Вероятно, около 1100 млн лет назад произошла дупликация гена предшественника, давшая начало гемоглобиновым и миоглобиновым генам. Позднее, около 500 млн лет назад, на ранней стадии эволюции позвоночных произошла дупликация, давшая начало двум  $\alpha$ - и  $\beta$ -семействам глобиновых генов, сопровождавшаяся транслокацией. Примерно 200 млн лет назад очередная дупликация привела к возникновению в семействе  $\beta$ -глобиновых генов  $\beta$ -глобинов плода и взрослых. Около 100 млн лет назад произошло образование  $\gamma$ -глобиновых генов и, наконец, 40 млн лет назад появились  $\sigma$ - и  $\beta$ -глобиновые гены.

Таким образом, увеличение нуклеотидных последовательностей происходившее в процессе эволюции генома, обеспечило не только его коли-



чественное увеличение, появление семейств генов, но и создавало предпосылки для накопления в них изменений, дивергенции генов, увеличения разнообразия контролируемых ими продуктов.

Существуют механизмы, обеспечивающие регуляцию процессов синтеза гемоглобиновых цепей.

Примером сложной экспрессии генов может служить генный контроль синтеза гемоглобинов у человека. Известно, что гемоглобин является сложным белком четвертичной структуры. Он состоит из четырех полипептидных цепей. Каждая цепь контролируется определенным генным локусом (таблица 1).

Таблица 1 — Гемоглобины человека

Вид Hb	Полипептидные цепи	Генные локусы
HbA	2 $\alpha$ , 2 $\beta$	$\alpha^A$ , $\beta^A$
HbA <sub>2</sub>	2 $\alpha$ , 2 $\sigma$	$\alpha^A$ , $\sigma^{A2}$
HbF	2 $\alpha$ , 2 $\gamma$	$\alpha^A$ , $\gamma^F$
Hbs	2 $\alpha$ , $\beta$ , $\beta^{\text{б-вал}}$	$\alpha^A$ , $\beta^{A'}$

HbA и HbA<sub>2</sub> относятся к нормальным гемоглобинам человека.

Кроме HbA, у человека есть еще пять других нормальных гемоглобинов, которые имеют тетрамерные структуры, сравнимые с HbA и состоящие из двух  $\alpha$ - или  $\alpha$ -подобных цепей и двух не  $\beta$ -цепей. Гены  $\alpha$ - и  $\alpha$ -подобных цепей расположены тандемно в хромосоме 16, а для  $\beta$ - и  $\beta$ -подобных — в хромосоме 11. В каждой копии хромосомы 16 есть два идентичных гена  $\alpha$ -глобина, названные  $\alpha 1$  и  $\alpha 2$ . В пределах комплекса генов  $\beta$ -глобина существует тесная гомология между разными генами. Например,  $\beta$ - и  $\sigma$ -глобины отличаются только 10 из 146 аминокислот. Все гены глобина, несомненно, возникли из общего гена-предшественника.

Изменение экспрессии различных генов глобина в ходе развития иногда называют переключением глобинов. Это классический пример упорядоченного регулирования экспрессии генов в ходе развития. Гены в  $\alpha$ - и  $\beta$ -группах размещаются в одной и той же транскрипционной ориентации и, что замечательно, гены внутри каждой группы расположены в той же последовательности, в которой они экспрессируются в процессе развития.

В эритроцитах плода преобладает гемоглобин формы HbF, его молекула состоит из двух цепей  $\alpha$  и двух цепей  $\gamma$ .

Переключение синтеза глобинов по времени сопровождается изменениями в основном месте эритропоэза. Эмбриональный синтез глобина происходит в желточном мешке с 3 по 8 недели гестации, но приблизительно около 5 недели гестации основное место кроветворения начинает перемещаться из желточного мешка в печень плода. HbF ( $\alpha 2 \gamma 2$ ) — преобладающий гемоглобин в внутриутробном периоде — составляет приблизительно 70 % общего гемоглобина при рождении, но во взрослой жизни HbF составляет менее 1 % общего гемоглобина.

$\beta$ -цепи могут обнаруживаться на ранних сроках гестации, их синтез становится значимым только ближе к сроку родов; к 3-месячному возрасту почти весь гемоглобин становится гемоглобином взрослого типа — HbA. Синтез  $\sigma$ -цепи также продолжается после рождения, но HbA<sub>2</sub> ( $\alpha 2 \sigma 2$ ) никогда не составляет более примерно 2 % гемоглобина взрослых. К несчастью, небольших количеств  $\sigma$ -глобина (и, следовательно, HbA<sub>2</sub>) и  $\gamma$ -глобина (и, следовательно, HbF), обнаруживаемых в норме в крови взрослого человека, недостаточно для компенсации сниженного количества  $\beta$ -глобина (и, следовательно, HbA), образующегося при болезнях типа  $\beta$ -талассемии. У больных серповидноклеточной анемией имеется особый гемоглобин HbS, который отличается от нормального HbA тем, что у него в одной  $\beta$  цепи в 6-м положении глутаминовая кислота заменена валином.

Четыре типа гемоглобинов контролируются отдельными генами:

— локус  $\alpha^A$  определяет формирование  $\alpha$  цепей в течение всей жизни у всех четырех гемоглобинов;

— локус  $\beta^A$  контролирует формирование  $\beta$  цепей только в HbA после рождения;

— локус  $\gamma^F$  определяет синтез  $\gamma$  цепи в гемоглобине HbF в течение внутриутробной жизни;

— локус  $\sigma^{A2}$  определяет синтез  $\sigma$  цепей в гемоглобине HbA<sub>2</sub> в течение всей жизни после рождения.

Локусы  $\alpha^A$ ,  $\beta^A$ ,  $\sigma^{A2}$ ,  $\gamma^F$  тесно сцеплены в хромосоме. Все четыре указанных генов – структурные. В их действии имеется сложная экспрессия, благодаря чему возникают четыре типа гемоглобинов.

Экспрессия генов  $\beta^A$ ,  $\sigma^{A2}$  находится под влиянием генов-регуляторов. У взрослого человека происходит замена HbF плода на HbA, HbA<sub>2</sub>.

При этом происходит репрессия гена  $\gamma^F$  и включение гена  $\beta^A$ . Взаимодействие генов  $\alpha^A$ ,  $\beta^A$ ,  $\sigma^{A2}$  определяет развитие нормального гемоглобина и является примером межгенного взаимодействия.

При формировании гемоглобина серповидноклеточной анемии наблюдается межаллельное взаимодействие аллели  $\beta^A$  и ее патологической аллели.

Изучение механизмов, регулирующих экспрессию генов глобина, дало понимание как нормальных, так и патологических биологических процессов.

Для понимания патогенеза большинства гемоглобинопатий важны различия в дозе генов (четыре гена  $\alpha$ -глобина и два гена  $\beta$ -глобина на диплоидный геном) и онтогенез  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобинов. Мутации в генах  $\beta$ -глобина более вероятно вызывают болезнь, чем мутации  $\alpha$ -цепи, поскольку мутация единственного гена  $\beta$ -глобина влияет на 50 % р-цепей, тогда как мутация одного гена  $\alpha$ -цепи влияет только на 25 %  $\alpha$ -цепей. С другой стороны, мутации в гене  $\beta$ -глобина не имеют последствий во внутриутробном периоде, так как  $\gamma$ -глобин является основным глобином до рождения, и к моменту родов HbF составляет три четверти общего гемоглобина. Поскольку

$\alpha$ -цепи – единственный  $\alpha$ -подобный компонент всех гемоглобинов, начиная с 6 недели после зачатия, мутации  $\alpha$ -глобина вызывают тяжелую патологию как плода, так и послеродовой жизни.

Следовательно, знание механизмов, регулирующих производство цепей глобина, потенциально имеет терапевтическое значение. Обнаружено множество факторов транскрипции, управляющих экспрессией генов глобина, что дает надежду на разработку лечения, направленного на увеличение синтеза  $\sigma$ - и  $\gamma$ -глобинов.

## **БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОМНОГО УРОВНЯ ОРГАНИЗАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА**

*Геномом* называют совокупность наследственного материала, заключенного в гаплоидном наборе хромосом клеток данного вида организма. Геном видоспецифичен и представляет собой необходимый набор генов, который обеспечивает формирование видовых характеристик организмов в ходе их нормального онтогенеза.

Геномный уровень организации наследственного материала объединяет всю совокупность хромосомных генов, является эволюционно сложившейся структурой, характеризующийся относительно большой стабильностью, в отличие от генного и хромосомного уровней. На генном уровне система сбалансированных по дозам и объединенных сложнейшими функциональными взаимосвязями генов представляют собой нечто большее, чем простая совокупность отдельных единиц. Поэтому результатом функционирования генома является формирование фенотипа целостного организма. В связи с этим фенотип организма нельзя представлять как простую совокупность признаков и свойств, это организм во всем многообразии его характеристик на всем протяжении индивидуального развития. Таким образом, поддержание постоянства организации наследственного материала на геномном уровне имеет первостепенное значение для обеспечения нормального развития организма и воспроизведения у особи в первую очередь видовых характеристик.

В то же время допустимость рекомбинации единиц наследственности в генотипах особей обуславливает их генетическое разнообразие, что имеет важное эволюционное значение. Мутационные изменения, реализующиеся на геномном уровне организации наследственного материала, — мутации регуляторных генов, обладающих широким плеiotропным действием, количественные изменения доз генов, транслокации и транспозиции генетических единиц, влияющие на характер экспрессии генов, наконец, возможность включения в геном чужеродной информации при горизонтальном переносе нуклеотидных последовательностей между организмами разных видов, — оказываясь иногда эволюционно перспективными, вероятно, являются основной причиной ускорения темпов эволюционного процесса на отдельных этапах исторического развития живых форм на Земле.

**СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ**

*Белок-репрессор* — регуляторный белок, связывающийся с оператором на ДНК или с РНК, предотвращающий соответственно транскрипцию или трансляцию.

*Ген (цистрон)* — фрагмент ДНК, участвующий в образовании полипептидной цепи; в его состав входят участки, расположенные перед кодирующей последовательностью или после нее, а также инсерционные последовательности (интроны).

*Ген* — Элементарная единица наследственности, наименьший неделимый элемент наследственного материала, который может быть передан от родителей потомству как целое и который определяет признаки, свойства или физиологическую функцию организма. На молекулярном уровне — это участок молекулы ДНК, кодирующий первичную структуру белков и РНК.

*Индуктор* — небольшая молекула, включающая транскрипцию гена за счет связывания с регуляторным белком.

*Индукция* — свойство клеток (бактериальных или дрожжевых) синтезировать определенные ферменты только при наличии соответствующих субстратов; применительно к экспрессии генов термин означает включение транскрипции в результате взаимодействия индуктора с регуляторным белком.

*Интрон* — транскрибируемый участок ДНК, который удаляется из состава транскрипта при сплайсинге; в результате последовательности, находящиеся по обе стороны от интрона (экзоны), объединяются.

*Каскадная регуляция оперонов* — переключение транскрипции с одних структурных генов на другие в течение жизненного цикла вирусов и прокариот.

*Катаболическая репрессия* — ослабление экспрессии многих бактериальных оперонов, происходящее при добавлении глюкозы; вызывается уменьшением уровня циклического АМР в клетке и инактивацией вследствие этого регуляторного CAP-белка.

*Кластер* — расположенные в ряд функционально связанные гены.

*Кодирующая цепь* — цепь ДНК, последовательность которой идентична иРНК.

*Коллинеарность гена и кодируемого им белка* — обусловленность порядка расположения аминокислотных остатков в белке чередованием нуклеотидов ДНК.

*Комплементарная цепь* — одна из цепей ДНК, используемая в качестве матрицы комплемента для синтеза РНК и комплементарная ей.

*Координированная регуляция* — означает общий контроль экспрессии группы генов.

*Координированная репрессия ферментов* — прекращение синтеза фермента в присутствии продукта реакции, которую он катализирует.

*Корепрессор* — малая молекула, которая включает механизм репрессии транскрипции, связываясь с регуляторным белком.

*САР-белок (КАБ)* — активируется циклическим АМР и осуществляет позитивную регуляцию; необходим для инициации транскрипции РНК-полимеразой некоторых катаболит-чувствительных оперонов *E. coli*.

*Ограниченная транскрипция* — в случае неполного считывания генома при нарушении генов, продукты которых необходимы для проявления активности других генов.

*Оператор* — участок ДНК, связываясь с которым белок-репрессор предотвращает инициацию транскрипции на прилежащем промоторе.

*Оперон* — единица транскрипции и регуляции у бактерий, состоящая из структурных генов, регуляторного гена (генов) и контролирующих элементов, узнаваемых продуктами регуляторного гена.

*Пенетрантность* — частота экспрессии аллеля определенного гена у разных особей родственной группы организмов.

*Первичный транскрипт* — первоначально синтезированная немодифицированная молекула РНК, соответствующая транскрипционной единице.

*Позитивная индукция* — тип регуляции, при которой белковый продукт гена-регулятора не запрещает, а активирует синтез.

*Позитивная репрессия* — тип регуляции, при которой регуляторный белок, активирующий работу оперона инактивируется эффектором.

*Промотор* — участок ДНК, ответственный за связывание РНК-полимеразы, иницирующей транскрипцию.

*Регуляторный ген* — кодирует РНК или белок, чья функция состоит в контроле экспрессии других генов.

*Репрессия* — ингибирование транскрипции (или трансляции) за счет связывания белка-репрессора со специфическим сайтом на ДНК (или иРНК).

*Сплайсинг* — процесс удаления нитронов и объединение экзонов в иРНК.

*Стартовая точка (иницирующий сайт)* — обозначает участок ДНК, соответствующий первому основанию, включающемуся в РНК.

*Супрессия* — изменения, которые устраняют проявление мутаций, не исправляя при этом первоначального нарушения в ДНК.

*Супрессор бессмысленного кодона* — ген, кодирующий мутантную тРНК, способную узнавать бессмысленный кодон.

*Терминатор* — последовательность РНК, находящаяся на конце транскрипта и ответственная за прекращение транскрипции.

*ТАТА-последовательность (белок Хогнесса)* — А-Т- богатая семи-членная последовательность, находящаяся на расстоянии около 25 пар нуклеотидов перед стартовой точкой каждой транскрипционной единицы, транскрибируемой РНК-полимеразой II; вероятно, необходима для такого расположения фермента, при котором он может осуществлять правильную инициацию.

*Усилители транскрипции (enhancer)* — участки ДНК, усиливающие транскрипцию с ряда эукариотических промоторов, находящихся по отношению к ним в *цис*-положении. Эти элементы оказывают свое действие независимо от того, с какой стороны промотора они располагаются.

*Цистрон* — генетическая единица, выявляемая путем комплементационного теста; эквивалентна гену и означает единицу ДНК, кодирующую белок.

*Экзон* — любой отдельный фрагмент прерывистого гена, который сохраняется в зрелой РНК.

*Экспрессивность* — степень экспрессии пенетрантного гена.

*Экспрессия гена* — реализация генетической информации, закодированной в участке ДНК, путем ее транскрипции и трансляции.

*Эффект положения* — изменение экспрессии гена в результате его перемещения в необычное место при хромосомных перестройках.

### Краткие биографические сведения

1. Жакоб Франсуа, французский микробиолог и генетик. Окончил парижский университет (1947). С 1985 г. — профессор кафедры генетики в Коллеж де Франс. Основные работы посвящены генетике бактериальных клеток и вирусов. Предложил схему регуляции активности генов. Лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине (1965) совместно с Ж. Моно и А. М. Львовым.

2. Моно Жак Люсьен, французский биохимик и микробиолог. Окончил Парижский университет (1934). С 1939 г. — профессор парижского университета. Совместно с Ф. Жакобом высказал гипотезы о переносе генетической информации и механизме генетической регуляции синтеза белков в бактериальных клетках. Разработал теорию роста и развития бактерий, доказал возможность управления этими процессами. Лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине (1965) совместно с Ф. Жакобом и А. М. Львовым.

3. Георгиев Георгий Павлович, советский биохимик, академик АН СССР (1987). Окончил 1-й Московский медицинский институт (1956). С 1963 г. в Институте молекулярной биологии АН СССР. Основные работы посвящены изучению механизма реализации генетической информации. Исследовал ядерные рибонуклеопротеидные частицы, содержащие про-иРНК (ядерные информосомы). Изучил в геноме животных подвижные генетические элементы. Лауреат Ленинской премии (1976) и Государственной премии СССР (1983).

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Алиханян, С. И.* Общая генетика: учебник / С. И. Алиханян, А. П. Акифьев, Л. С. Чернин. — Минск: Высш. шк., 1985. — 448 с.
2. *Бокуть, С. Б.* Молекулярная биология: молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации: учеб. пособие / С. Б. Бокуть, Н. В. Герасимович, А. А. Малютин. — Минск: Высш. шк., 2005. — 463 с.
3. *Медицинская биология и общая генетика: учебник / Р. Г. Заяц [и др.].* — Минск: Высш. шк., 2012. — 496 с.
4. *Инге-Вечтомов, С. Г.* Генетика с основами селекции: учебник / С. Г. Инге-Вечтомов. — Минск: Высш. шк., 1989. — 591 с.
5. *Каминская, Э. А.* Общая генетика: учебник / Э. А. Каминская. — Минск: Высш. шк., 1992. — 352 с.
6. *Слюсарев, А. А.* Биология: учебник / А. А. Слюсарев, С. В. Жукова. — К.: Вища шк, 1987. — 415 с.
7. *Биология: учебник: в 2 кн. / В. Н. Ярыгина [и др.].* — Минск: Высш. шк., 2000. — Кн. 1. — 448 с.



Учебное издание

**Фомченко** Наталья Евгеньевна  
**Фадеева** Ирина Витальевна

**ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ  
ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ**

**Учебно-методическое пособие  
для студентов 1 курса всех факультетов  
медицинских вузов**

Редактор *Т. М. Кожемякина*  
Компьютерная верстка *Ж. И. Цырыкова*

Подписано в печать 13.04.2016.  
Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная 65 г/м<sup>2</sup>. Гарнитура «Гаймс».  
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 2,03. Тираж 170 экз. Заказ № 128.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя,  
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/46 от 03.10.2013.  
Ул. Ланге, 5, 246000, Гомель