

REGULATION OF GENE EXPRESSION IN THE COURSE OF RNA MATURATION

V. A. GVOZDEV

Chemical transformations of new nuclear RNA in the course of maturation associated with the discontinuous nature of genes were studied. Alternative ways of RNA maturation form the basis of gene regulation and allow to optimize the use of information encoded in nucleotide sequence of genes.

Рассмотрены процессы созревания (химические превращения) ядерной новообразованной РНК, обусловленные прерывистой структурой генов. Альтернативные пути созревания молекулы РНК являются основой для генной регуляции, они обеспечивают экономичность использования информации, закодированной в нуклеотидной последовательности генов.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ПРИ СОЗРЕВАНИИ КЛЕТОЧНЫХ РНК

В. А. ГВОЗДЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Генами называют участки ДНК, используемые для кодирования белков и некоторых клеточных РНК. РНК, способные кодировать белки, называют информационными, или матричными, РНК (иРНК или мРНК). Кроме того, ряд генов определяет синтез РНК рибосом, транспортных РНК, специального класса РНК, участвующего в процессах секреции белков, и, наконец, малых ядерных РНК, обеспечивающих созревание РНК. Транскрипция генов с образованием РНК у эукариот осуществляется в ядре [1], после чего новообразованная РНК претерпевает сложные превращения, сопровождающиеся химической модификацией молекул и укорочением их размеров. Эти процессы обеспечивают созревание молекул РНК. Созревшие молекулы переходят в цитоплазму, где и функционируют, кодируя белки или, например, входя в состав рибосом, осуществляющих синтез белка. Активность генов может регулироваться не только в результате изменения интенсивности образования РНК (транскрипции генов), но и благодаря контролю за созреванием РНК (информационных, рибосомных, транспортных и др.), претерпевающих в ядре сложные превращения.

Вопросы, касающиеся регуляции транскрипции генов, обсуждались ранее [1]. Здесь же остановимся на рассмотрении механизмов созревания РНК. Увидим, каким образом на стадиях созревания РНК в ядре может осуществляться регуляция работы генов. Станет очевидным, что странная на первый взгляд прерывистая структура генов не только обеспечивает тонкую регуляцию их активности, но и способствует экономному, эффективному использованию информации, закодированной в нуклеотидной последовательности ДНК.

СОЗРЕВАНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ, ИЛИ МАТРИЧНЫХ, РНК, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ

В 1977 году была установлена прерывистость генов у эукариот. Оказалось, что кодирующие белок последовательности прерываются вставками, которые не кодируют белок и при созревании молекулы удаляются из предшественника РНК. Эти участки были названы интронами (рис. 1). Участки РНК, ковалентно соединяющиеся друг с другом и

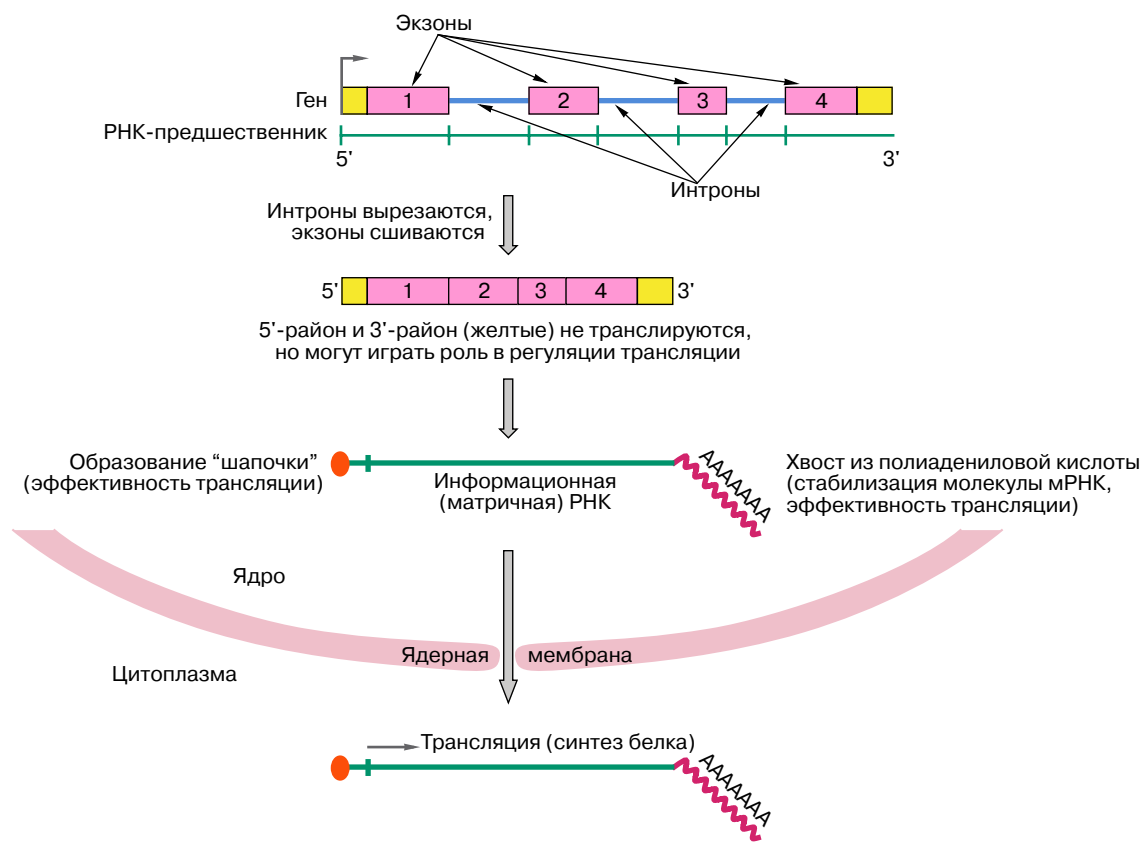


Рис. 1. Созревание информационной РНК: нуклеотидные последовательности интронов удаляются, экзоны сшиваются (сплайсинг). Стрелка на 5'-конце указывает начало транскрипции.

сохраняющиеся в составе зрелой РНК, называют экзонами. Зрелая информационная РНК, содержащая экзоны, транслируется в цитоплазме с участием рибосом. Оказалось, что экзон-интронная структура генов эукариот является скорее правилом, а гены без интронов – немногочисленными исключениями. Гены бактерий обычно не содержат экзонов. Экзоны включают последовательность нуклеотидов, содержащую следующие друг за другом кодоны (нуклеотидные триплеты), определяющие положение аминокислот в белке [2]. Молекулы РНК, как и комплементарные нити двойной спирали ДНК, полярны [3], различают 5'- и 3'-концы молекулы. Участки экзонов или даже отдельные целые экзоны, располагающиеся на 5'- и 3'-концах молекулы информационной РНК, могут не использоваться при трансляции, они не кодируют аминокислоты. Такие нетранслируемые участки, однако, необходимы для эффективной трансляции или стабилизации мРНК (см. рис. 1). Некодирующий участок на 3'-конце может определять локализацию мРНК как в клетке, так и в пространственно ограниченном участке ткани развивающегося эмбриона. По концам мРНК проходит химическая моди-

фикация: навешивание специальной нуклеотидной структуры – “шапочки” и присоединение к хвосту молекулы остатков адениловой (А) кислоты. Такая модификация обеспечивает стабильность мРНК и способность к трансляции в цитоплазме с участием рибосом.

Процесс удаления интронов и сшивания экзонов получил название сплайсинга (от англ. to splice – соединять концы). РНК-предшественник может содержать один-два или десятки интронов, размеры которых сильно варьируют (от 50 до нескольких тысяч нуклеотидов). В результате удаления интронов РНК укорачивается. Поэтому длина РНК-предшественника (тысячи и десятки тысяч нуклеотидов) часто в несколько раз превосходит длину информационной РНК. Сплайсинг РНК происходит в ядре по мере образования (транскрипции) РНК на ДНК-матрице (см. [1]).

Механизм сплайсинга должен осуществляться точно, ошибки при вырезании интронов и сшивании экзонов могут привести к нарушению кодирующей способности сшитых экзонов. В результате белок, закодированный в последовательности РНК,

не будет образовываться. Молекулярный механизм сплайсинга представляет собой последовательные этапы упорядоченных, следующих друг за другом взаимодействий компонентов машины сплайсинга с новосинтезированным РНК-предшественником. Эти компоненты, катализирующие процесс сплайсинга, представлены так называемыми малыми ядерными РНК (мяРНК) и белками, которые не только определяют эффективность сплайсинга, но и, как будет видно, могут менять его характер.

Молекулярные механизмы сплайсинга РНК-предшественника практически одинаковы у всех эукариот – от дрожжей и микроскопического почвенного червяка до позвоночных. Компоненты машины сплайсинга, в том числе мяРНК, очень сходны по своему строению и свойствам. Это говорит о том, что сплайсинг возник в процессе эволюции достаточно давно. Экзон-интронная структура генов также является древней. Было, например, выяснено, что ген глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, участвующей в метаболизме глюкозы, как в ядре, так и в ДНК хлоропластов растений содержит пять интронов в идентичных положениях. Считается, что хлоропласты возникли в результате эволюции из бактерий-симбионтов эукариотических клеток, имеющих обособленное ядро. Следовательно, эти интроны уже существовали у общего предка эукариот и прокариот (бактерий), не имеющих обособленного ядра.

Прежде всего рассмотрим, какую роль в сплайсинге играют мяРНК, которые кодируются специальными генами. Молекулы мяРНК становятся активными только после того, как они побывают в цитоплазме, где происходит химическая модификация их 5'-концов (рис. 2). Вновь образованные химические группы, включающие метилированные остатки гуанина (G), узнаются белками. Эти белки содержат специфические ярылки, представленные определенными последовательностями аминокислот, которые диктуют переход в ядро комплекса белок – мяРНК. Таким образом, цитоплазма также участвует в созревании ядерных предшественников мяРНК и, следовательно, других типов клеточных РНК. Молекулы мяРНК присоединяются к РНК-предшественнику и друг к другу посредством комплементарных взаимодействий [2], подобных тем, которые наблюдаются в двуспиральной ДНК, где они представлены парами Уотсона–Крика [3]. Здесь взаимодействуют G (гуанин) с C (цитозин) и A (аденин) с U (уридином), которому в ДНК соответствует тимидин. На участках, где могут осуществляться такие комплементарные взаимодействия, образуются РНК-спирали, обозначенные на рис. 2 штрихами, соединяющими молекулы РНК. Удаление интрона возможно лишь в случае, если на границах с экзонами находятся так называемые незаменимые канонические нуклеотиды – GU на одном конце и AG на другом. Замены этих нуклеотидов на

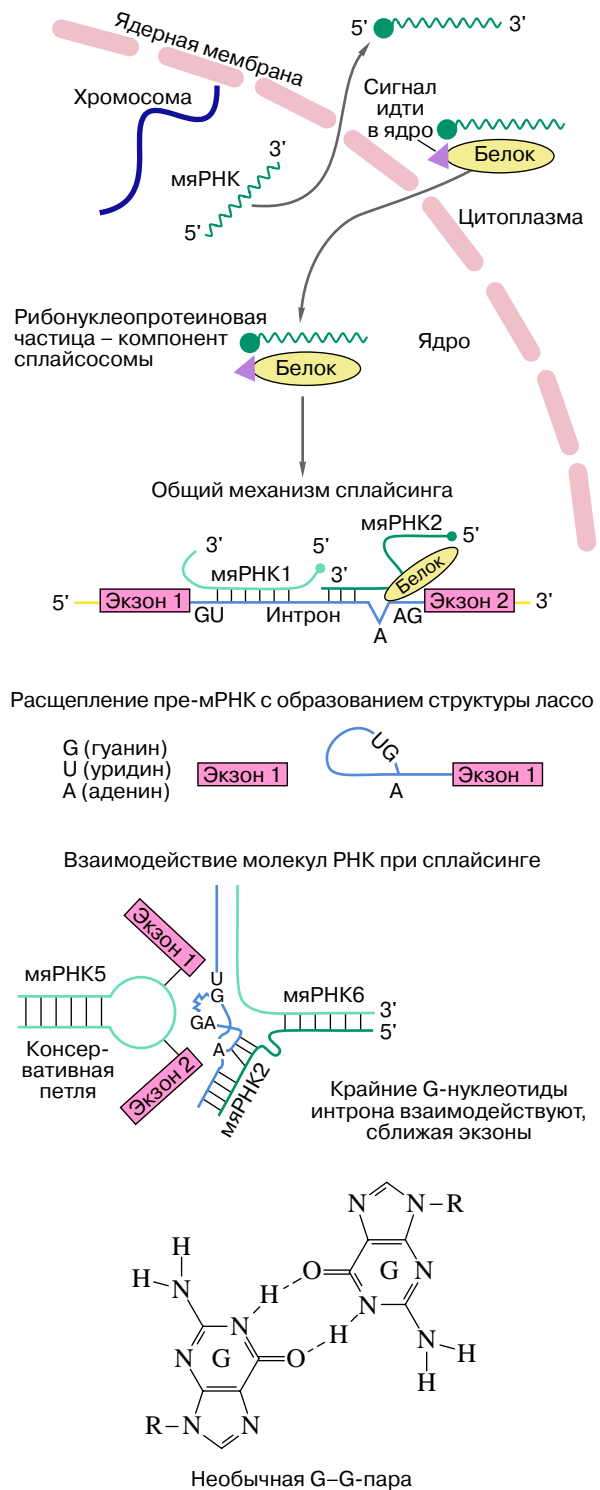


Рис. 2. Механизм сплайсинга с участием малых ядерных РНК. Взаимодействия комплементарных нуклеотидных пар показаны штрихами. Обозначение оснований такое же, как в статьях [2, 3]. Ломаной линией показаны G-G-взаимодействия, обусловленные водородными связями.

другие в результате точечных мутаций (например, G на C) вызывают нарушение сплайсинга и прекращение образования нормального белка, кодируемого геном. Подобные мутации обнаружены, например, в генах глобинов у человека. Недостаточность глобина (гемоглобина) в таком случае приводит к анемии. Этот дефект, вызванный мутацией в гене глобина, приводит к наследственной болезни.

Замены нуклеотидов в интроне нарушают комплементарные взаимодействия РНК-предшественника (пре-мРНК) с мяРНК 1 и 2 (см. рис. 2). Важным элементом в нуклеотидной последовательности интрона является А (аденин), который не образует пары с U и, следовательно, не входит в состав двойной спирали в результате взаимодействия с мяРНК 2. Поэтому этот А обладает особой реакционной способностью. В результате при разрыве межнуклеотидной связи на границе экзон 1 – интрон образуется ковалентная эфирная связь между гидроксилом рибозы аденозина и фосфатной группой первого нуклеотида (G) интрона. Соответствующие структурные формулы можно найти в статье [3]. Возникшая промежуточная структура напоминает лассо (рис. 2). Затем интрон выщепляется и частично или полностью деградирует, а экзоны сшиваются с образованием фосфодиэфирных связей. В основном благодаря биохимическим исследованиям *in vitro* удалось выяснить, что представляет собой промежуточная структура при сплайсинге экзонов, в состав которой входят по крайней мере три типа мяРНК: 2, 5 и 6. Молекула мяРНК 5 содержит петлю из неспаренных нуклеотидов на ножке (стволике), где нуклеотиды образуют пары, создавая двойную РНК-спираль. Нуклеотиды петли, взаимодействуя за счет водородных связей с экзонами, удерживают их вблизи друг от друга. Молекула мяРНК 2, сохраняя взаимодействие с интроном (А нуклеотид не образует пары!), “спаривается” другим своим участком с мяРНК 6.

На рис. 2 показаны также так называемые неканонические взаимодействия двух G (гуанинов), находящихся по краям интрона. Эти взаимодействия помогают стягивать экзоны и осуществлять сплайсинг. Характер водородных связей функциональных групп гуанина отличается от классических, наблюдаемых в паре G–C Уотсона и Крика (см. [3]). Так, аминогруппа G, участвующая в установлении комплементарных взаимодействий с C, здесь остается вне игры (рис. 2). Отметим, что мяРНК 6 только на определенном этапе сплайсинга становится способной к изображенным на рис. 2 взаимодействиям, перед этим мяРНК 6 находилась в прочном комплексе с мяРНК 4 (не показано на рис. 2) за счет протяженного участка комплементарных нуклеотидных пар. Другими словами, мяРНК 4 до поры до времени блокировала активность мяРНК 6.

Таким образом, сплайсинг протекает в несколько этапов: начинается с взаимодействия пре-мРНК

с мяРНК 1, затем образуются лассо и сложная многокомпонентная структура, представленная на рис. 2. Пространственная структура взаимодействующих участков молекул РНК обеспечивает каталитические реакции разрыва одних межнуклеотидных связей и возникновение новых. В основе катализа лежит способность РНК образовывать описанные структуры, обеспечивающие высокую реакционную способность определенных нуклеотидов, расположенных по длине молекул РНК. Возникновение таких структур обеспечивает точность сплайсинга. В ряде случаев, например в транскриптах генов клеточных органелл (митохондрий или хлоропластов), образование сложной трехмерной структуры в районе интрона обеспечивает его вырезание и сшивание экзонов без участия белков. Такой процесс, не зависящий от белков, называют самосплайсингом.

Обнаружение способности молекул РНК катализировать собственные химические превращения или модификацию (созревание) других молекул РНК позволило назвать их рибозимами по аналогии с ферментами (энзимами) – хорошо изученными биологическими катализаторами. Необходимо отметить, что активность рибозимов сильно увеличивается, когда они находятся в комплексе с белками. В обоих случаях успешный ход катализа обеспечивается трехмерными структурами белка или РНК–РНК-комплекса. Повреждение этих структур останавливает реакцию. В случае рибозимов первостепенную роль играют комплементарные взаимодействия нуклеотидных пар. Заметим, однако, что белки ускоряют взаимодействия мяРНК с пре-мРНК. Присутствие белков показано на схеме (рис. 2) лишь в одном месте (вблизи AG нуклеотидов) ввиду того, что механизмы действия и районы связывания других белков, способных специфически узнавать участки РНК, изучены недостаточно.

В сплайсинге принимают участие белки, обладающие ферментативной активностью. Для сборки комплекса, катализирующего сплайсинг, необходимо потребление энергии в виде расщепляемых молекул АТФ, поэтому в его составе обнаруживаются белки, обладающие аденозинтрифосфатазной активностью. Кроме того, здесь функционируют и РНК-хеликазы – ферменты, способные расплетать при потреблении АТФ двойные спирали РНК–РНК. Эти ферменты подобны ДНК-хеликазам, расплетающим двунитевую спираль ДНК при репликации молекулы ДНК [3]. Хеликазы обеспечивают ход сплайсинга. Они вовремя разрушают одни РНК–РНК взаимодействия (например, мяРНК 4 – мяРНК 6), способствуя тем самым возникновению новых нековалентных связей между молекулами РНК. Таким образом, последовательность событий, ведущих к сплайсингу экзонов, достаточно жестко определена, причем каждая последующая стадия (или реакция) обусловлена предыдущей. Реакции сплайсинга осуществляются в крупном рибонуклеопротеидном

комплексе – тельце, содержащем несколько молекул РНК и десятки белков, необходимых для эффективного сплайсинга. Эта структура получила название сплайсосомы.

Многокомпонентность машины сплайсинга позволяет ускорять или тормозить процесс созревания РНК, если изменять концентрацию отдельных компонентов или вызывать их химическую модификацию. Например, наблюдали фосфорилирование белков сплайсинга, сопровождающееся активацией одних и инактивацией других белков.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ РЕГУЛИРУЕМЫЙ СПЛАЙСИНГ

Оказалось, что экзоны, если их несколько, могут сшиваться (сплайсироваться) в разных комбинациях. Более того, нуклеотидная последовательность, выступающая как экзон в одном случае, ведет себя как интрон в другом. Эти возможности выбора путей сплайсинга молекулы РНК-предшественника представлены на рис. 3. Так, например, участок экзона 1а может вести себя как интрон. Другой случай демонстрирует образование двух разных РНК, несущих участки, кодирующие разные белковые структуры. Так, если экзон 2 кодирует в молекуле белка элементы α -спирали, а экзон 3 – так называемой β -структуры (укладка полипептидной цепи схематически показана на рис. 3), то РНК 1 будет кодировать белок, не включающий указанный участок β -структуры, а РНК 2, напротив, служит матрицей при образовании белка без участка α -спирали. В ре-

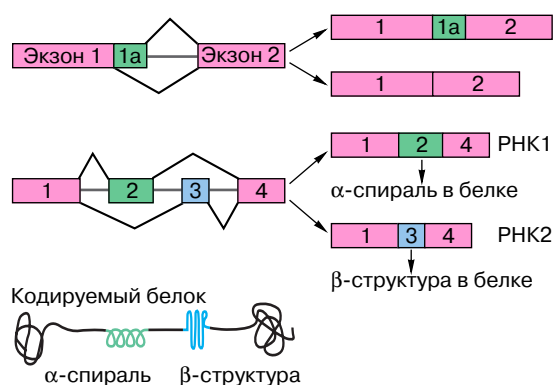


Рис. 3. Разные пути сплайсинга РНК-предшественника (альтернативный сплайсинг) приводят к образованию информационной РНК, кодирующей белки с разными свойствами. Красные прямоугольники обозначают экзоны, используемые при обоих путях альтернативного сплайсинга. Зеленые и синие прямоугольники обозначают экзоны, которые при альтернативном сплайсинге могут вырезаться и, следовательно, ведут себя как интроны. Линии, соединяющие экзоны над прямоугольниками и под ними, указывают разные пути сплайсинга.

зультате образуются так называемые изоформы белка. Это наблюдаемое для многих генов явление выбора путей созревания мРНК получило название альтернативного сплайсинга. Многие гены содержат десяток и более экзонов. Поэтому число вариантов зрелых молекул иРНК, содержащих разные экзоны, потенциально может быть достаточно большим, приближаясь к величине 2^n , где n – число экзонов. Таким образом, экзон-интронная структура оказывается чрезвычайно экономичной, обеспечивая большое разнообразие белков, кодируемых разными мРНК, которые, однако, произошли из одного и того же РНК-предшественника в результате транскрипции одного гена.

Случаи альтернативного сплайсинга имеют место в мышечной ткани, приводя к образованию функционально различающихся, но во многом сходных (содержат общие экзоны!) белков. Это же явление широко распространено в нервной ткани, где, как известно, транскрибируется огромное множество генов, обеспечивая разнообразие белков. Так, например, разнообразие белков оболочки нервных волокон обусловлено альтернативным сплайсингом. Альтернативный сплайсинг нередко используется при синтезе вариантов белков – “факторов транскрипции” [1], необходимых для включения (или выключения) гена и работы РНК-полимеразы. Наличие белка – фактора транскрипции может определять судьбу клетки, ее дифференцировку в клетку специализированной ткани: нервной, жировой, почечной и т.д. (о процессах дифференцировки см. [4]). Альтернативный сплайсинг выполняет свою роль и при образовании вариантов белков клеточной адгезии, которые отвечают за передвижение клеток и структурирование тканей. Бактерии, обладающие, как правило, генами без интронов, лишены этого способа регуляции работы (экспрессии) генов.

Каким образом осуществляется выбор пути альтернативного сплайсинга, являющегося важным механизмом регуляции активности генов и клеточной дифференцировки? Характер сплайсинга регулируется белками, способными связываться с молекулой РНК в районах интронов или пограничных участках экзон–интрон. Такие белки могут блокировать удаление одних интронов, в то же время активируя вырезание других. Рис. 2 показывает, что РНК-предшественник складывается в сложную трехмерную структуру, взаимодействуя с другими компонентами сплайсосомы. Поэтому нетрудно представить себе такие пространственные изменения этой структуры при участии белков, регулирующих сплайсинг, которые исключат катализ объединения одной пары интронов и, напротив, будут эффективно способствовать сшиванию другой пары.

Направленная регуляция путей сплайсинга может иметь громадные биологические последствия, например определять пол организма. Случай определения пола, основанный на регуляции сплайсинга,

достаточно хорошо изучен у плодовой мушки дрозофилы. Успехи этих исследований основаны на работах генетиков, изучавших мутации, нарушающие становление пола. Огромную роль здесь сыграли также работы, в которых в экспериментах *in vitro* были использованы “клонированные гены” (рекомбинантные ДНК). Полученные результаты суммированы на рис. 4.

У дрозофилы (впрочем, как и у человека) есть две половые хромосомы (X и Y). Две X-хромосомы имеют самки, тогда как самцы — единственную X-хромосому, а также Y-хромосому. Наличие двух X-хромосом у самок достаточно для включения “главного гена”, заставляющего включиться “нижележащие” гены, участвующие в определении пола. Главный ген (рис. 4) поначалу начинает работать (транскрибироваться) только у самок с двумя X-хромосомами. В клетке срабатывают механизмы, подсчитывающие число X-хромосом. Этот механизм основан на том, что у самок с двумя X-хромосомами образуется достаточное количество белка, кодируемого генами X-хромосомы, который активирует промотор главного гена (о промоторах см. [1]). Транскрипция главного гена начинается с промотора 1 (на рис. 4 не показан). У самцов с одной X-хромосомой количество белка недостаточно, чтобы запустить главный ген. В результате сплайсинга транскрипта главного гена образуется РНК 1, содержащая экзоны 1, 4, 5, 6, 7 и 8. В этом случае потенциальные экзоны 2 и 3 не входят в состав мРНК. Эти события происходят на самых ранних стадиях развития эмбриона. Немного позднее ген 1 начинает транскрибироваться как у самок, так и у самцов с использованием другого промотора 2, лежащего левее. В этом случае 5'-конец РНК-предшественника будет удлинен, в результате чего экзон 1 сплайсируется иным путем и становится короче в РНК 1а и 1б по сравнению с РНК 1. Белок 1, образующийся при трансляции РНК 1, является регуляторным белком сплайсинга, отсутствующим у самцов. Этот белок направляет сплайсинг у самок с образованием зрелой РНК 1а, содержащей фрагмент экзона 1, к которому пришиваются последующие экзоны: 2-4-5-6-7-8. Белок, определяющий такой характер альтернативного сплайсинга, отсутствует у самцов. В результате в ядрах клеток развивающегося эмбриона, обладающего только одной X-хромосомой, предшественник РНК созревает с образованием РНК 1б, включающей экзон 3 (рис. 4).

Регуляторный белок 1 сплайсинга, образовавшийся у самок на РНК1, позволяет машине сплайсинга “узнавать” в клетках самок экзон 3 как интрон и удалять его с образованием РНК1 и РНК1а. Оказывается, экзон 3 содержит так называемый стоп-кодон, который не кодирует аминокислоты и останавливает рост полипептидной цепи белковой молекулы. В результате синтез белка на РНК 1б если и начнется, то быстро оборвется с образованием

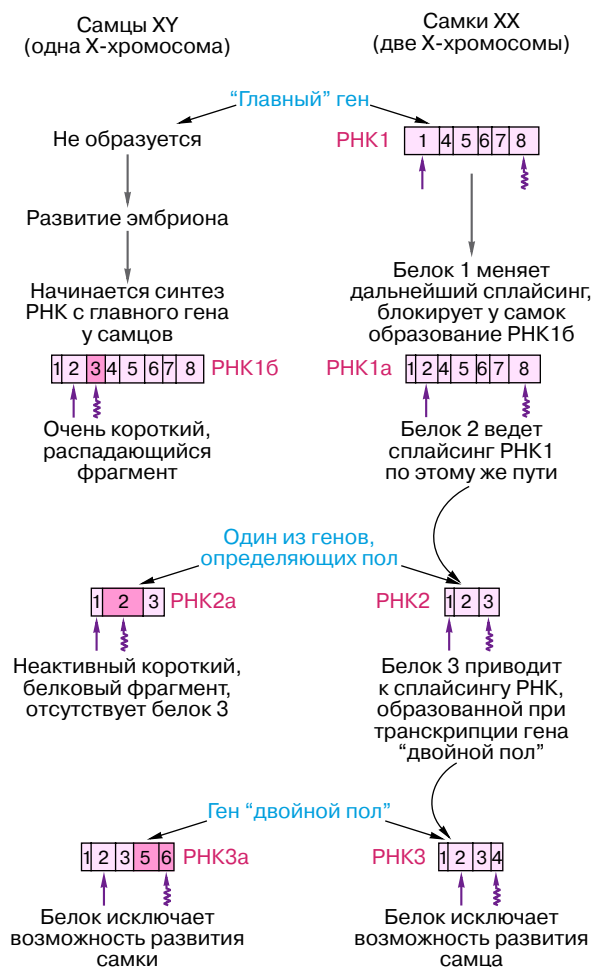


Рис. 4. Регулируемый каскад следующих друг за другом альтернативных путей сплайсинга определяет становление пола на самых ранних стадиях развития дрозофилы. Прямая и волнообразная стрелки обозначают соответственно начало и конец трансляции (образования белка). Экзоны, специфичные для самцов, выделены красным цветом. В случае РНК 1б и 2а эти экзоны содержат стоп-кодон, останавливающий трансляцию.

очень короткого, распадающегося белкового фрагмента. Таким образом, “самцовый” тип сплайсинга приводит фактически к инактивации гена, поскольку ген не способен кодировать образование функционирующей белковой молекулы. Следовательно, результатом альтернативного сплайсинга может быть не только образование изоформ белков, кодируемых одним геном, но и инактивация гена (“главного гена” у самцов). Белок 2, образующийся у самок, не только постоянно направляет ход сплайсинга с образованием РНК 1а, но и регулирует созревание РНК 2, содержащей экзоны 1-2-3. Эта РНК 2 образуется уже на другом гене, входящем в систему

генов определения пола у дрозофилы. У самцов образуется несколько иной вариант РНК 2 - РНК 2а, включающая несколько увеличенный экзон 2. Этот фрагмент экзона у самок узнается как интрон. Опять “самцовая” часть экзона 2 содержит стоп-кодон, останавливающий трансляцию, тогда как у самок образуется активный белок 3, приводящий к образованию мРНК 3 РНК 3, включающей экзоны 1-2-3-4. При отсутствии белка 3 предшественник мРНК 3 РНК 3 в ядрах клеток самцов “сплайсируется” таким образом, что последовательность, соответствующая экзону 4 самок, выглядит как интрон, а к экзону 3 пришиваются экзоны 5 и 6. На этот раз РНК 3а (экзоны 1-2-3-5-6) у самок, кодируемая геном “двойной пол”, не содержит вредных стоп-кодонов, она кодирует функциональный белок. Мишенями действия регуляторных белков, синтезированных на матричных РНК 3 и 3а, являются гены, дальнейшая работа которых полностью исключает соответственно развитие самца или самки (рис. 4). Отметим, что, несмотря на вариации в характере сплайсинга, всегда по краям интронов должны находиться упомянутые выше канонические нуклеотидные последовательности, используемые при катализе того или иного пути сплайсинга.

Мы проследили каскад регулируемых событий альтернативного сплайсинга. У самцов он дважды приводил к образованию дефектной мРНК, не способной кодировать достаточно длинный и функционирующий белок. У самок наблюдается последовательное, поэтапное образование матриц РНК для кодирования белка, регулирующего транскрипцию и/или ход событий альтернативного сплайсинга.

Примеры альтернативного сплайсинга новообразованной РНК показывают, как в конечном счете окупаются затраты, в том числе энергетические, идущие на синтез избытка участков РНК, которые затем удаляются и не используются для синтеза белка. Альтернативный сплайсинг обеспечивает регуляцию работы гена, дифференцировку тканей и развитие организма. Однако биологическая роль прерывистой экзон-интронной структуры генов и роль интронных последовательностей на этом не заканчивается. Недавно было обнаружено, что вырезаемые интроны могут быть предшественниками особых малых ядерных РНК, участвующих в созревании РНК рибосом.

Заканчивая рассмотрение механизмов созревания РНК, необходимо отметить существование процессов так называемого редактирования РНК. В этих случаях может происходить химическая модификация азотистых оснований нуклеотидов (например, превращение аденозина в инозин), что приводит к изменению информационного значения кодонов, кодирующих данную аминокислоту. Кроме того, внутрь последовательности мРНК могут вставляться уридилы (U) нуклеотиды. Формально этот процесс противоположен сплайсингу,

когда удаляются нуклеотидные последовательности интронов. В результате подобных химических модификаций предшественника РНК будут образовываться белки, в которых положения отдельных аминокислот будет определяться нуклеотидным триплетом РНК, отсутствующим в нуклеотидной последовательности ДНК-матрицы (гена). Указанные способы модификации РНК-предшественника получили название редактирования по аналогии с работой редактора, меняющего в тексте отдельные слова, а зачастую и смысл сказанного.

Роль интронов в регуляции экспрессии генов не ограничивается процессами созревания РНК. Интроны, разделяющие экзоны гена, могут вести себя как регуляторные участки ДНК, присоединяющие белки, активирующие или репрессирующие транскрипцию. Дальность расположения интрона и, например, усилителя транскрипции от старта транскрипции не является препятствием — ДНК может быть достаточно гибкой, чтобы белковый фактор, связанный с интроном, был способен контактировать с районом старта транскрипции (см. [1]).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Процесс “созревания” клеточных РНК сопровождается химическими модификациями РНК-предшественника и укорочением его размеров. Созревание представляет собой регулируемый многостадийный путь, по ходу которого осуществляется взаимодействие новообразованного предшественника РНК с белками и другими РНК, обеспечивающими в конце концов образование функционально активной молекулы РНК. Регуляция процесса созревания РНК — это способ регуляции активности гена, кодирующего данную молекулу РНК.

2. При созревании информационной РНК имеет место каталитический процесс удаления из РНК интронов и объединения экзонов, кодирующих отдельные участки белка. Совокупность этих химических реакций носит название сплайсинга. Сплайсинг проходит в специальной внутриядерной многокомпонентной структуре — сплайсосоме, включающей десятки белков и набор так называемых малых ядерных РНК, обеспечивающих сплайсинг.

3. Молекулярный механизм сплайсинга осуществляется благодаря комплексным взаимодействиям нуклеотидов РНК-предшественника и малых ядерных РНК. Эти взаимодействия играют первостепенную роль в катализе сплайсинга. Образующиеся сложные структуры определяют точность сплайсинга. Кроме того, велика роль белков, способных специфично “узнавать” не только участки РНК, но и друг друга. Сплайсинг определяется последовательными упорядоченными взаимодействиями компонентов машины сплайсинга с предшественниками РНК. Исследование молекулярных механизмов сплайсинга показывает, что каталитическая

активность, определяющая удаление интронов и объединение экзонов, может иметь место и при отсутствии белков, то есть определяться взаимодействиями участков РНК, приводящих как к разрыву, так и к воссоединению межнуклеотидных связей. Нарушение точности сплайсинга при образовании информационных РНК, вызванное мутацией, может препятствовать трансляции и образованию белка.

4. Многокомпонентность машины сплайсинга позволяет регулировать образование мРНК за счет изменения концентраций отдельных компонентов или химической модификации, меняющей биологическую активность молекул, определяющих сплайсинг.

5. Изменение характера сплайсинга экзонов в разных тканях одного и того же РНК-предшественника может приводить к образованию разных РНК, содержащих разные наборы экзонов (альтернативный сплайсинг). В результате РНК, транскрибируемые с одного гена, будут кодировать белки с разными свойствами. Выбор путей сплайсинга РНК-предшественника — это способ регуляции активности генов в разных клетках и тканях организма.

Благодарю С.А. Лаврова, Е.Г. Пасюкову и Т.В. Почечуеву за помощь при подготовке статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гвоздев В.А.* Механизмы регуляции активности генов в процессе транскрипции // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 2. С. 22–31.
2. *Кнорре Д.Г.* Биохимия нуклеиновых кислот // Там же. № 3. С. 11–16.
3. *Фаворова О.О.* Сохранение ДНК в ряду поколений: репликация ДНК // Там же. № 4. С. 11–17.
4. *Корочкин Л.И.* Как гены контролируют развитие клеток // Там же. № 1. С. 17–22.

* * *

Владимир Алексеевич Гвоздев, доктор биологических наук, профессор, зав. отделом молекулярной генетики животных Института молекулярной генетики РАН. Соавтор учебника по молекулярной биологии, автор более 120 работ; читает курс молекулярной биологии в МГУ. Лауреат Государственной премии СССР. Область научных интересов: структура и функция генов.