

Г Е Н

Первые гипотезы о структуре и функции генетического материала были сформулированы в работах *Грегора Менделя* (1865). Для объяснения образования некоторых наследственных фенотипических признаков и закономерностей их передачи потомкам, он предположил существование "наследственных факторов". Эти факторы, которые вначале были лишь гипотетическими, стали реальными материальными структурами. После открытия и описания хромосом (Валдейер, 1888) Бовери и в частности Саттон (1902) предложили гипотезу, согласно которой наследственные факторы или *гены* (термин ген был введен в 1911 году *Вильгельмом Иогансоном*) являются частями хромосом. Локализация генов в хромосомах была продемонстрирована *Томасом Морганом* и его сотрудниками (1910-1925). Таким образом, ген перестал быть логическим и абстрактным предположением менделевского гения и получил конкретное и материальное содержание.

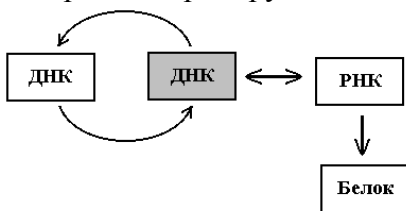
Последующие исследования раскрыли химическую природу гена. В 1944 году *Освальд Эйвери* с сотрудниками доказал, что именно молекула ДНК является генетическим веществом. В 1953 году *Ф. Крик и Д. Уотсон* определили молекулярную организацию ДНК и выяснили, что последовательность азотистых оснований в молекуле ДНК представляет собой генетический код. Генетическая информация наследуется благодаря удвоению (редупликации) молекул

ДНК и реализуется через транскрипцию РНК и синтез белка.

Согласно современной концепции *ген* является фрагментом молекулы ДНК, который содержит генетическую информацию о синтезе специфического белка или молекулы РНК. Отдельная группа генов, локализованная в одной хромосоме, образует *группу сцепления*. В группе сцепления ген занимает определенную позицию, он не имеет структурной (морфологической) границы, не ограничен особыми химическими группами. У гена есть функциональная граница, определяемая смыслом генетической информации.

Функции гена

Ген представлен последовательностью нуклеотидов, которая контролирует синтез разных молекул РНК (мРНК, тРНК, рРНК, мяРНК) и разных молекул белка. Каждый ген имеет специфическую последовательность азотистых оснований, на которой, как правило, синтезируется один тип РНК.



Сложность строения и функций живых организмов определяется спектром (разнообразием) белков, из которых они состоят. Поэтому простые организмы имеют несколько сот генов, а сложные - десятки тысяч. В диплоидном наборе хромосом человека согласно имеющимся данным могут содержаться от 35000 до 125000 разных генов.

Гены, кодирующие мРНК, информация которых реализуются в белок, называются *структурными*. Часто их называют *цистронами*. Гены, которые транскрибируются независимо от других генов, называют *моноцистронными транскрипционными единицами* (характерны для эукариот), у прокариот чаще транскрибируется одновременно не-

сколько генов, и такая единица транскрипции называется **полицистронной**.

Посредством синтеза разных белков гены определяют строение, функции, свойства клеток и всего организма в целом. Генные продукты, взаимодействуя с факторами среды, могут изменять деятельность организма, адаптируя его к изменяющимся условиям среды. Под действием факторов среды у генов может изменяться химическая структура, возникают мутации. Мутации обеспечивают возникновение разных аллельных вариантов одного и того же гена, которые проявляются разными особенностями фенотипа:

- нейтральные мутации - вызывают индивидуальные варианты одного признака (группы крови);
- полезные мутации – появление генов устойчивости к неблагоприятным факторам среды;
- неблагоприятные мутации - вызывают летальные или полублетальные признаки (ферментная недостаточность, блокирующая метаболическую цепь).

Совокупность генов диплоидного набора хромосом индивидуума называют **генотипом**. Совокупность признаков, свойств организма, контролируемая генотипом во взаимодействии со средой, называется **фенотипом**.

Молекулярная организация генов

Гены образованы из **транскрибируемых** и **регуляторных** частей (рис 8.1).

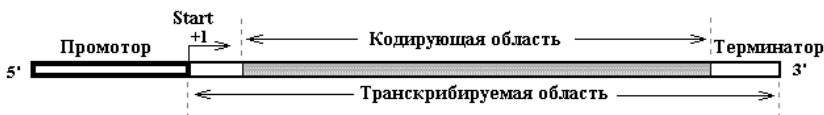


Рис. 8.1. Общее строение гена

Каждый ген содержит **промотор** - последовательность, узнаваемая РНК- полимеразой, которая обеспечивает

транскрипцию гена или группы генов. Промотор – обязательная часть гена и находится в начале транскрибируемой части (5' концы структурных генов и генов рРНК) или внутри транскрибируемой части гена (гены тРНК). Первый нуклеотид, включенный в РНК-транскрипт, обозначается +1, последующие нуклеотиды обозначаются знаком (+), а нуклеотиды предшествующие +1 нуклеотиду – знаком (-). Промотор содержит несколько смысловых последовательностей, которые отличаются у прокариот и эукариот.

Терминатор расположен в конце транскрибируемой части и представлен инвертированными повторами нуклеотидов, за которыми следует последовательность ТТТТ. Палиндромные последовательности транскрибируются в молекулы РНК и способствуют образованию шпильки, которая останавливает продвижение РНК-полимеразы и определяет завершение транскрипции. Терминатор устроен сходным образом у прокариот и у эукариот (рис. 8.2).

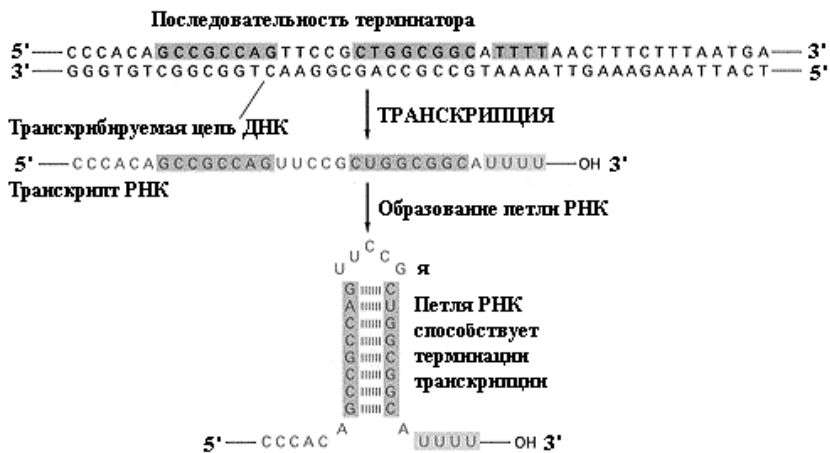


Рис. 8.2. Строение терминатора гена

Особенности организации структурных генов у эукариот

Промотор состоит из нескольких сот нуклеотидов, расположенных на 5' конце гена. Эта часть состоит из большого набора *смысловых последовательностей*, наиболее часто встречающиеся образуют сайты узнавания для факторов транскрипции (таб. 8.1). Промотор структурных генов, узнаваемый РНК-полимеразой II, содержит в положении -20 – -30 от сайта инициации транскрипции (+1) блок Гольдберга-Хогнесса или **TATA-box**, представленный последовательностью 5'-ТАТААТААА-3', который определяет направление продвижения РНК-полимеразы II к сайту инициации транскрипции.

В положении -75 находится **СААТ-box**, характеризующийся последовательностью 5'-GGCCAATCT-3'. СААТ-box контролирует присоединение белков инициации транскрипции и эффективность процесса.

В положении -90 локализуется другая консервативная последовательность GC-box с последовательностью 5'-GGGCGG-3'. GC-box может повторяться несколько раз в промоторе и участвует в направлении процесса транскрипции.

Таблица 8.1. Характеристика консервативных последовательностей промоторов структурных генов эукариот

Блок (бокс)	Последовательность	Позиция	Фрагмент ДНК, взаимодействующий с белками в парах нуклеотидов	Соответствующие факторы транскрипции
ТАТА	ТАТАААА	-30	10	TBP
СААТ	GCT/CCAATCT	-75	22	CEF/NF1
GC	GGGCGG	-90	20	SP1
Octamer	ATTTGCAT	?	20	OCT1, OCT2

Кроме этих блоков существуют и другие смысловые последовательности, которые связываются со специфическими регуляторными белками для каждого гена (Рис 8.3).

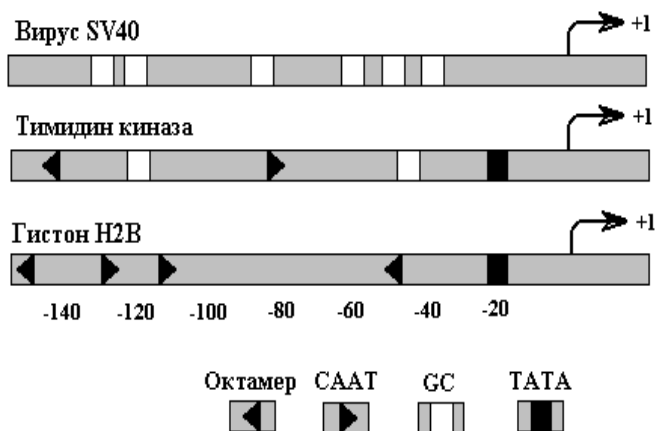


Рис. 8.3. Структура промоторов разных генов, которые функционируют в эукариотических клетках

Это необходимо для дифференцированной экспрессии генов в разных клетках, в разные периоды клеточного цикла. Например, гены глобинов транскрибируются в клетках-предшественниках эритроцитов, гены миозина очень активны в мышечных клетках, а гены инсулина – в β -клетках поджелудочной железы.

Кодирующие последовательности.

У эукариот гены имеют прерывистое строение. Парадокс величины С подтверждает, что из всей геномной ДНК лишь 10-15% участвует в синтезе белков. Неинформативными последовательностями ДНК являются: *спейсеры*, которые разделяют гены; *интроны*, которые разделяют информативные последовательности гена; теломеры, центромеры, спутники, которые выполняют структурную функцию.

Было обнаружено несоответствие между размерами мРНК, первичного транскрипта (РНК-предшественника) и размерами последовательностей ДНК, которая служила матрицей для синтеза РНК. Р.Sharp (1977) предложил гипотезу прерывистой или мозаичной структуры гена эукариот.

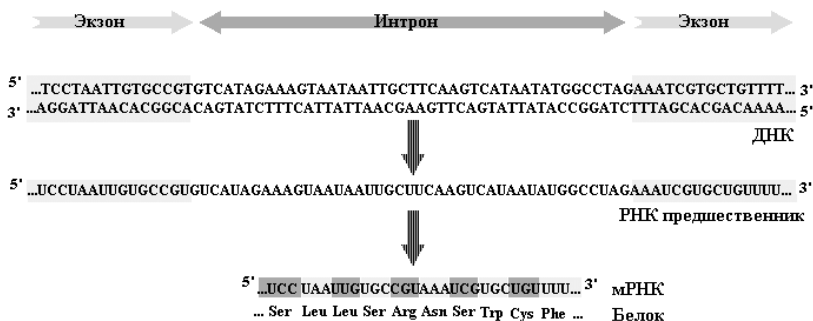


Рис. 8.4. Мозаичное строение (эксон-интрон) кодирующей последовательности гена эукариот

Транскрибируемая часть генов эукариот включает кодирующие последовательности, называемые **экзонами** и не кодирующие – **интроны** (рис. 8.4). Количество экзонов и интронов варьирует и зависит от сложности кодируемого белка.

Эксон 1	Интрон 1	Эксон 2	Интрон 2	Эксон 3
142-145 pb	116-130 pb	222 pb	573-904 pb	216-255 pb
Нетранслируемый 5'-конец + аминокислоты 1-30		Аминокислоты 31-104		Аминокислота 105 + нетранслируемый 3'-конец

Рис. 8.5. Мозаичная структура гена β-глобина и его связь с соответствующим белком

- Ген β-глобина содержит 3 экзона и 2 интрона (рис 8.5)
- Ген преколлагена содержит 51 экзон и 50 интронов
- Ген гемофилии А содержит 26 экзонов и 25 интронов, последовательность ДНК гена состоит из 180.000 пар нук-

леотидов, а молекула мРНК из 9000 нуклеотидов, что составляет 0,2% длины гена.

- Ген дистрофина содержит более 25.000.000 пар нуклеотидов, а матричная РНК - 14.000 нуклеотидов.

Экзоны

Экзоны представляют собой кодогенные последовательности гена, которые транскрибируются и присутствуют как в первичном транскрипте, так и в мРНК и им соответствует последовательность аминокислот белка (Рис 8.4). Перед 5' концом первого экзона имеется короткая *лидерная последовательность* нуклеотидов (несколько десятков), играющая роль в начале трансляции. За лидерной последовательностью расположен универсальный иницирующий транскрипцию кодон АТГ. На 3' конце последнего экзона находится один из стоп кодонов (ТАА, TAG, TGA), который завершает синтез белка. Затем следует короткая не-транслируемая последовательность.

На рис 8.6 представлена зависимость числа экзонов в разных генах от частоты встречаемости этих генов у позвоночных.

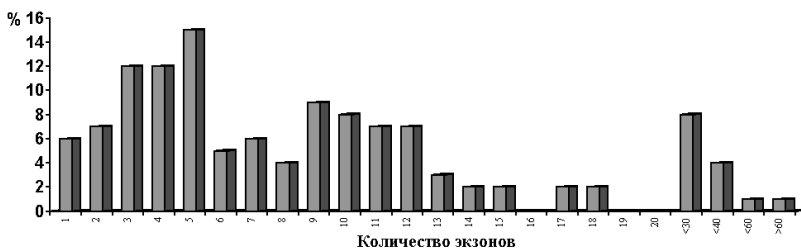


Рис. 8.6. Количество экзонов у различных генов позвоночных

Интроны

Интроны - это некодирующие последовательности гена, которые транскрибируются, присутствуют в первичном транскрипте РНК, но отсутствуют в матричной РНК (рис. 8.4). Во время созревания мРНК интроны вырезаются

из первичного транскрипта (*сплайсинг*). Интроны состоят из 100 -10.000 пар нуклеотидов и чаще всего длиннее экзонов (рис 8.7).

Большинство интронов на 5' конце содержат после-

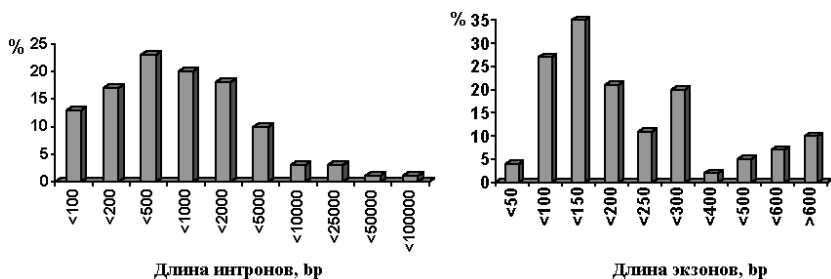


Рис. 8.7. Длина интронов и экзонов у различных видов млекопитающих довательности динуклеотидов GT, а на 3' конце- AG, таким образом они распознаются ферментами, которые удаляют интроны во время сплайсинга.

Таблица 8.2. Функции интронов

Классическая концепция	Современная концепция
Разделение экзонов Последствия эволюции ДНК	Кодируют биополимеры Осуществляют самовырезание ДНК Участвуют в реализации экспрессии генов

Особенности организации генов рРНК и тРНК эукариот

Гены рРНК (5,8S, 18S, 28S) организованы в одну транскрипционную единицу, которая повторяется одна за другой (тандемно) несколько сот раз и образует ядрышко-вый организатор (рис. 8.8). Одна единица отделяется от другой нетранскрибируемой последовательностью - спейсером. Повторяющаяся единица состоит из 12.000 пар нуклеотидов. Гены рибосомных РНК чаще не имеют интронов, за исключением генов у простейших. Промоторы этих генов

незначительно различаются и узнаются ферментом РНК-полимеразой I. Промоторы разделены на две части: одна часть находится в области $-45 - +20$ и контролирует начало транскрипции, другая часть расположена проксимально $-180 - -107$ и является элементом проксимального контроля (UCE—*upstream control element*).



Рис. 8.8. Строение эукариотических генов для рРНК 5,8S, 18S, 28S

Гены рРНК 5S расположены вне ядрышка и транскрибируются РНК-полимеразой III. Эти гены образуют транскрипционную единицу, повторяющуюся тандемно. Промотор локализован внутри гена в пределах $+55 - +80$.

Гены тРНК также организованы в транскрипционные единицы, в которых кодирующие последовательности разделены некодирующими. У дрожжей гены тРНК могут содержать интроны (10-30 пар нуклеотидов). Эти гены транскрибируются РНК-полимеразой III, а промотор этих генов имеет сходную организацию с генами рРНК 5S.

Особенности генов прокариот

Генетический аппарат прокариот представлен кольцевыми молекулами ДНК (нуклеоидом и плазмидами). Гены прокариот более просто организованы, лишены интронов. Геном прокариот также содержит незначительное количество некодирующих последовательностей. Так как обмен веществ прокариот интенсивен и требует быстрых изменений в зависимости от условий среды, большинство генов, включенных в одну метаболическую цепь, образуют транскрипционные единицы, названные *операми*.

Оперон содержит один промотор на 5' конце и несколько структурных генов (число структурных генов равно числу белков, участвующих в данной метаболической цепи), а на 3' конце находится терминатор (рис 8.9). Некоторые опероны могут содержать и регуляторные последовательности (операторы, атенуаторы и др.)

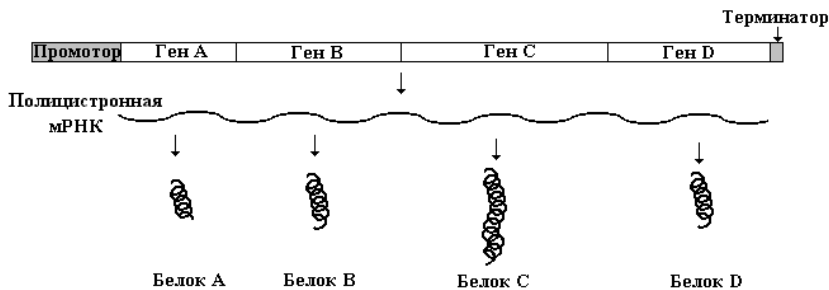


Рис. 8.9. Структура оперона с четырьмя структурными генами

Промотор прокариот содержит специфические последовательности, названные *блоком Прибнова*, в положении -10 , ответственным за инициацию локальной денатурации ДНК и *TTGACA-box* в позиции -35 , к которому первично присоединяется РНК-полимераза (рис 8.10).

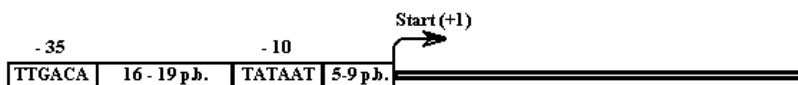


Рис. 8.10. Структура промотора у прокариот

Гены рРНК и тРНК организованы в смешанные транскрипционные единицы, разделенные спейсерами. На рис 8.11 представлена схема такого кластера.

Особенности организации генома человека

Геном человека состоит из ядерной (98%) и митохондриальной (2%) ДНК. Гены ядра и митохондрий, взаимодействуя между собой, обеспечивают активность организма человека посредством контроля синтеза структурных белков, ферментов и регуляторных белков.

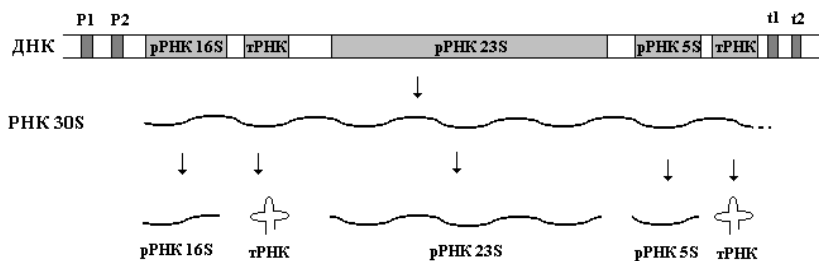


Рис. 8.11. Оперон генов для тРНК и рРНК у прокариот

Ядерный геном

Ядерный геном соматических клеток представлен 46 молекулами ДНК, образующим 46 однохроматидных хромосом диплоидного набора. Число ядерных генов точно не определено, и согласно различным методам подсчета число генов колеблется от 35000 до 125000 генов. Они расположены по длине хромосом и разделены некодирующими последовательностями - спейсерами и сателлитной ДНК. Каждая хромосома содержит в среднем 3000 генов (рис. 8.12). В зависимости от выполняемой функции ядерные гены классифицируются на конститутивные, которые функционируют во всех клетках организма, гены, участвующие в дифференцировке клеток и гены, кодирующие регуляторные белки. Поэтому в разных тканях, на разных этапах онтогенеза реализует свою информацию различное количество генов.

В ядерном геноме имеются гены, представленные несколькими копиями. Группа генов, экзоны которых сходны, кодируют белки со сходными последовательностями

аминокислот и свойствами, произошли от прародительского гена, называется *семейством генов*. Семейства генов могут состоять из повторяющихся генов, не повторяющихся или псевдогенов.

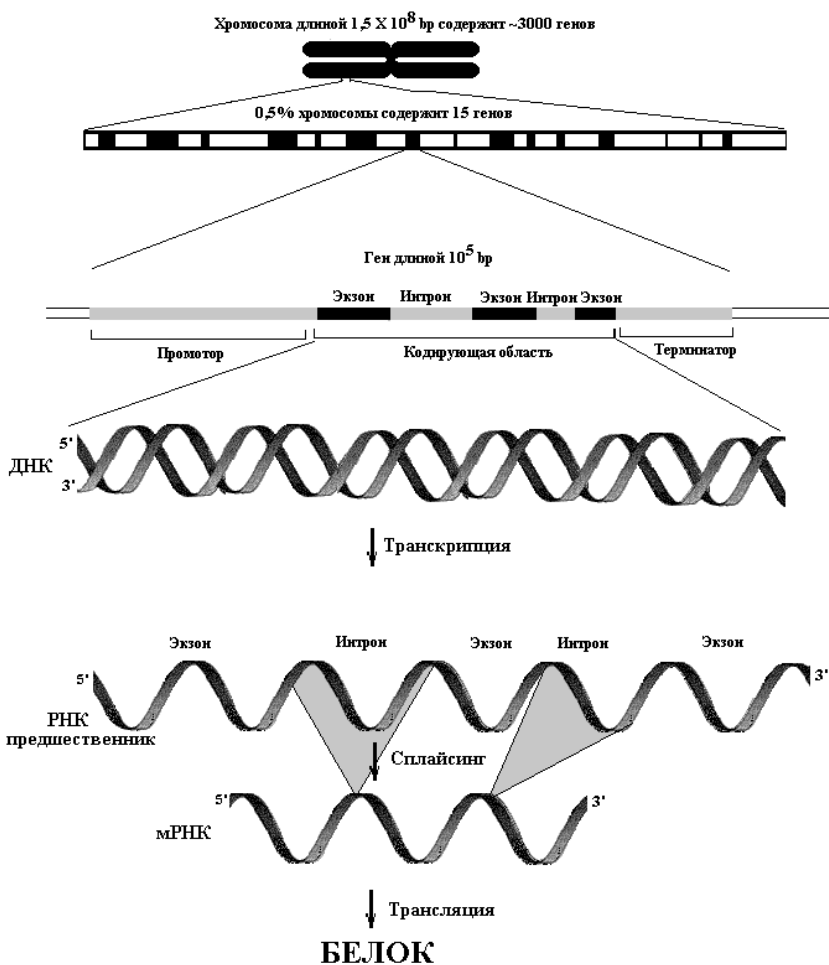


Рис. 8.12. Взаимоотношения между локализацией, структурой и функцией генов в геноме человека

Семейства из повторяющихся генов представлены генами, которые повторяются несколько раз в геноме. Они могут быть активными одновременно в нескольких тканях или в определенной ткани (гистоновые гены, гены тРНК, рРНК и др.).

Семейства из неповторяющихся генов представлены копиями генов с различной структурой и одинаковой функциональной направленностью (гены альфа и бета глобинов, гены HLA и др.).

На рис. 8.13 представлена организация кластера для генов α -глобинов. Семейство состоит из генов ζ , $\alpha 1$, $\alpha 2$, θ и 3-х псевдогенов ($\psi\zeta$, $\psi\alpha$, $\psi\alpha$). Глобин ζ входит в состав эмбрионального гемоглобина, а глобины α входят в состав эмбрионального, fetalного и взрослого гемоглобина.

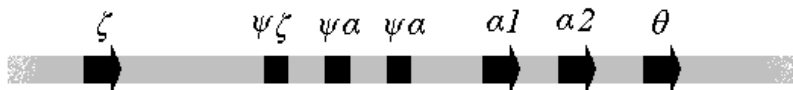


Рис. 8.13. Кластер генов для α -глобинов

Псевдогены – это последовательности, возникшие вследствие дупликации, но которые не функционируют. Это молчащие гены. Они накапливают мутации и через некоторое время могут стать новыми членами семейства с отчетливым проявлением.

Митохондриальный геном

Митохондриальный геном в клетках человека состоит из кольцевых молекул ДНК длиной в 16.600 нуклеотидов. В каждой митохондрии число молекул ДНК может быть разным в зависимости от энергетической потребности клетки. Почти все нуклеотиды относятся к кодирующим последовательностям; регулирующих участков ДНК очень мало (митохондриальный геном человека не содержит интронов). Все гены образуют 2 транскрипционные единицы:

одна на тяжелой цепи с промотором HSP, а другая на легкой цепи с промотором LSP (рис. 8.14). ДНК митохондрий содержит 13 структурных генов, 2 гена для рРНК и 22 гена для тРНК.

Структурные гены кодируют ферменты, задействованные в энергетическом обмене. Один ген для цитохрома b, 3 гена для субъединиц I-III цитохрома-с-оксидазы (COI-III), 6 генов для субъединиц 1-6 и 4L NADH- дегидрогеназы (ND 1-6 и ND4L), 2 гена для субъединиц 6 и 8 АТФ-синтетазы (A6 и A8) (рис.8.14).

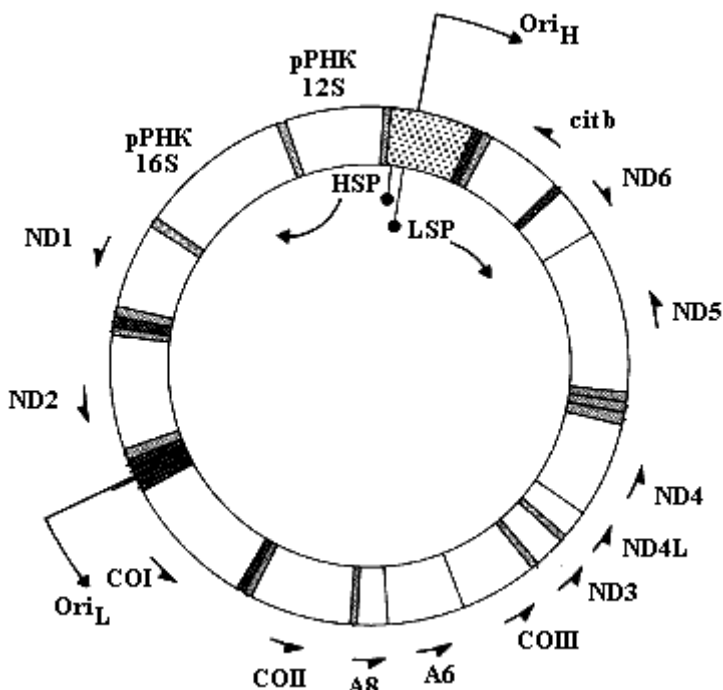


Рис. 8.14. Геном митохондрий человека. Стрелки показывают направление транскрипции и репликации. Заштрихованными участками представлены гены для тРНК

Гены рРНК кодируют 2 типа молекул: рРНК 12S и рРНК 16S, которые соединяются с белками, импортированными из цитоплазмы.

ДНК митохондрий кодирует только 22 молекулы тРНК. Как правило, тРНК митохондрий узнают первые 2 нуклеотида кодона молекулы мРНК; третий кодон может быть изменен на другое основание этого класса (пурин или пиримидин).

Репликация ДНК митохондрий не ограничена рамками синтетического периода клеточного цикла. Причем некоторые молекулы ДНК удваиваются два раза, а некоторые - ни разу. Но все-таки в каждый клеточный цикл число молекул ДНК митохондрий удваивается, обеспечивая постоянное количество митохондриальной ДНК в клетке. Гены митохондрий наследуются по материнской линии.

Взаимодействие ядерного и митохондриального геномов является важным фактором нормального функционирования клетки. Около 90 генов ядра кодируют белки, которые поддерживают генетическую систему митохондрий: рибосомальные белки, аминоацил-тРНК-синтетазы, ДНК- и РНК-полимеразы, ферменты процессинга и модификации РНК. Ряд ядерных белков регулирует число митохондрий в клетках и количество белков, синтезируемых этими органеллами. Изучение ферментативных комплексов внутренних митохондриальных мембран показало, что они содержат тканевые специфические субъединицы, которые функционируют как регуляторы транспорта электронов и которые кодируются генами ядерного генома.

Транспозоны

Последовательности ДНК, способные перемещаться самостоятельно в новое место генома, называются *мобильными генетическими элементами* или *транспозонами*. Самые простые транспозоны были обнаружены у *E. Coli*, они состоят из гена транспозазы, по краям которого расположе-

ны инвертированные повторы. Такие транспозоны образуют семейство с названием **IS** (инсерционные последовательно-сти). Чаще всего эти IS элементы встраиваются в сайты-мишени со специфическими последовательностями для каждого транспозона (рис 8.15).

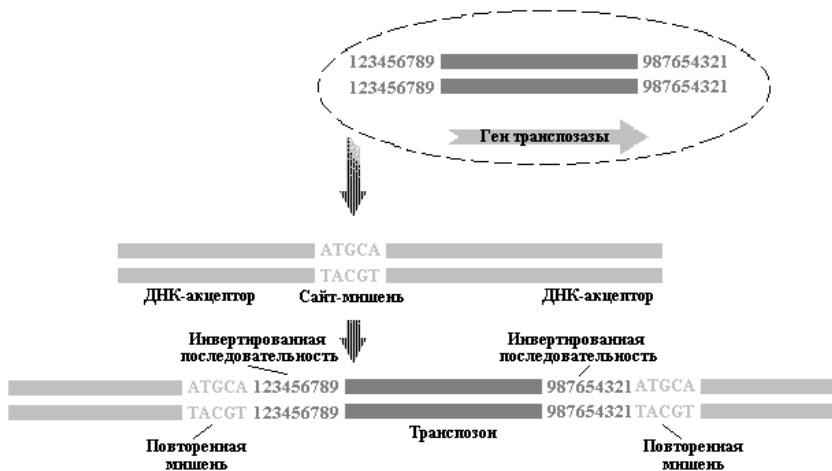


Рис. 8.15. Структура транспозона типа IS

Другие транспозоны содержат и другие гены, например, ген устойчивости к антибиотикам или другим веществам. К ним относится семейство **Tn**, которое состоит из центральной области со специфическими генами, по краям которой расположены IS элементы (рис 8.16).

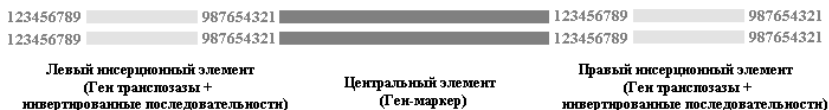


Рис. 8.16. Структура транспозона Tn

Ретротранспозоны (например, *Tu*, *coria Alu*) используют для транспозиции **ревертазу** (обратную тран-

скриптазу) и поэтому содержат ее ген, а также ген *интегразы*, которая участвует во включении молекулы комплементарной ДНК в новое место. На концах ретротранспозоны содержатся длинные повторяющиеся последовательности – *LTR* (*Long Terminal Repeat*), которые обеспечивают инсерцию транспозона.

Транспозиция может происходить в разных формах: нерепликативной, репликативной, консервативной и ретротранспозиции (рис 8.17).

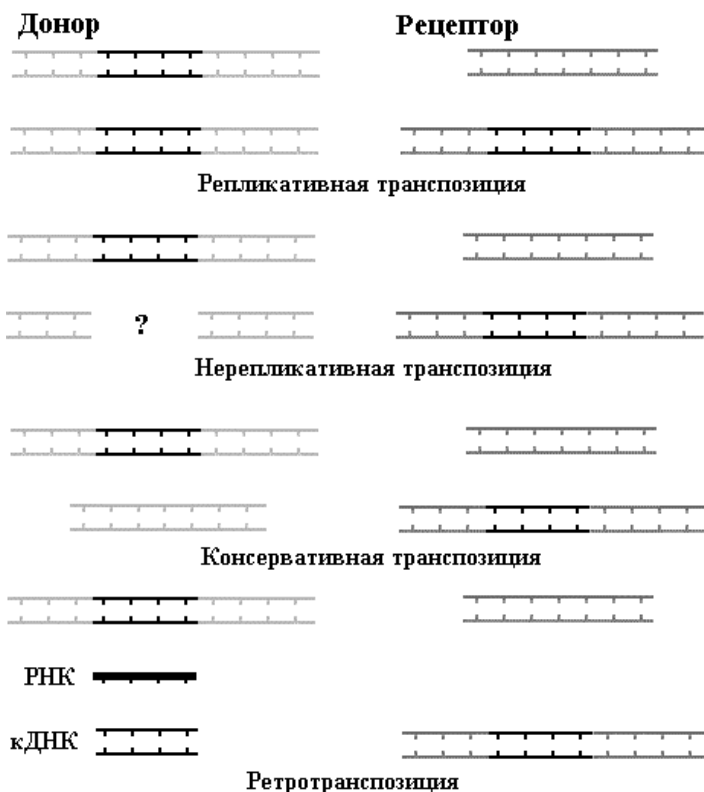


Рис. 8.17. Схема различных типов транспозиции

Нерепликативная транспозиция состоит в переносе целого фрагмента ДНК из исходного участка на новое место, при этом часто образуются двухцепочечные разрывы молекулы ДНК. Количество ДНК не меняется.

Репликативная транспозиция характеризуется копированием транспозона и переносом копии в новое место. Количество ДНК увеличивается.

Консервативная транспозиция заключается в перемещении фрагментов ДНК без образования разрывов и изменения количества ДНК.

Ретротранспозиция состоит из двух этапов. Вначале мигрирующий элемент транскрибируется, затем с участием **ревертазы** (РНК - зависимой полимеразы) синтезируется молекула комплементарной ДНК. Вновь синтезированная кДНК включается в новый локус. Этот процесс сопровождается увеличением количества ДНК.

Транспозоны вызывают многие геномные перестройки:

- ↪ транслокация может вызвать удаление части гена или его разрыв, что приводит к инактивации гена;
- ↪ мигрирующие элементы могут быть субстратом для клеточной рекомбинации. Две копии одного транспозона в разных локусах хромосом могут вызвать неточную конъюгацию хромосом в процессе кроссинговера.

Контроль знаний:

1. Дать определение: ген, структурный ген, цистрон, промотор, экзон, интрон, оперон, транспозон.
2. Какова общая структура гена?
3. Каковы блоки промотора генов эукариот?
4. В чем состоит мозаичная структура генов эукариот?
5. Что такое оперон и какова его структура?
6. В чем особенности митохондриального генома?
7. Каковы особенности организации разных типов транспозонов?