

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОБУСЛОВЛЕННОСТЬ СТАБИЛЬНОСТИ мРНК В КЛЕТКАХ ЭУКАРИОТ

Настала пора начать серьёзную исследовательскую генетическую работу по овладению химизмом растений.... Широкая амплитуда химических различий в пределах отдельных видов, отдельных групп растений пока ещё генетически не освещена и мало использована селекционерами.

Н.И. Вавилов

Драматическое противостояние в советской теоретической биологии середины XX в. некоторые авторы объясняют тем, что разница между двумя направлениями заключалась в их отношении к роли различных частей клетки: корпускулярная генетика всё своё внимание направила на ядро клетки, в то время как мичуринская биология концентрировала своё внимание на цитоплазме. Однако основателю корпускулярной генетики Г. Менделю такая ограниченность не была присуща. Г. Мендель различал три понятия: элемент, фактор и признак. «Элемент» соответствует нынешнему гену. «Признак» и сейчас остаётся признаком, и по его поводу сомнений никогда не возникало. А вот «фактор» находится в цитоплазме. Для мичуринского направления было характерно отрицание гена, поэтому для него не существовало проблемы «ген-признак», а была только проблема «фактор-признак» [2].

Последующее развитие молекулярной биологии наполнило реальным материальным содержанием некогда гипотетические понятия «ген» и «фактор». После установления генетической роли ДНК (1944-1953) самым значительным событием в исследовании процессов реализации генетической информации в морфофизиологические особенности организмов стало открытие информационной, или матричной, РНК (1956-1961) [3]. Цитоплазматическая мРНК является центральным компонентом как переноса генетической информации из ядра в цитоплазму, так и белоксинтезирующей системы, реализующей эту информацию в экспрессию гена. Исследования последних десятилетий показали, что наиболее лабильным звеном регуляции экспрессии генов является стабильность мРНК, или время её полужизни в цитоплазме. Индивидуальные мРНК значительно различаются по времени жизни, которое варьирует в клетках эукариот от нескольких минут до недель. Так, уровень мРНК-гистонов определяется тремя параметрами: нормой транскрипции, эффективностью процессинга и транспорта мРНК, временем жизни мРНК. В целом это позволяет повысить концентрацию мРНК в клетке в 30-50 раз в течение клеточного цикла. При этом транскрипция изменяется в 3-5 раз. Значительное увеличение уровня мРНК гистонов в S-фазу клеточного цикла в основном обусловлено возрастанием времени её полужизни от 10-15 до 45-60 мин. Другим наглядным примером роли стабильности мРНК может служить глобиновая мРНК, составляющая 90% суммарной мРНК ретикулоцитов. Большое содержание этой мРНК является результатом высокой стабильности (двое-трое суток) по сравнению с

другими мРНК, что и определяет её относительное накопление при отсутствии транскрипции генов в ретикулоцитах.

Стабильность мРНК зависит как от гена, которому она принадлежит, так и от условий окружающей среды. Этот вывод — результат исследований мировой науки за последние полтора десятка лет, связанных с развитием методов генной инженерии, позволяющих проследить судьбу индивидуальных мРНК при помощи клонированных генов (Норзерн-гибридизация) [4].

Рибонуклеиновые кислоты являются центральным звеном живой материи, так как обладают свойствами матрицы, подобно ДНК, и ферментативными свойствами, подобно белкам-энзимам (рибозимы). Эти особенности в значительной степени определяются наличием (до 4-6%) в составе молекул РНК катионов магния (Mg^{++}), т.е. реально РНК существует в клетке только в виде магниевой соли рибонуклеиновой кислоты [3]. Катионы магния являются структурообразующими ионами и в то же время факторами, определяющими рибозимные свойства РНК. Это удивительное вещество, поражающее разнообразием своих типов и функций, красотой и согласованностью процессов, в которых оно принимает участие. Два десятилетия тому назад было известно только три функционально различных РНК-молекул: рибосомные РНК (рРНК), транспортные (тРНК) и матричные РНК (мРНК). Однако с того времени ситуация изменилась коренным образом. В дополнение к рРНК и тРНК были обнаружены сотни других, не кодирующих белки РНК, выполняющих регуляторные функции.

Цель настоящей работы — попытка рассмотреть достижения в изучении причин стабильности мРНК, в исследовании роли и значения дифференциального распада мРНК при регуляции генной экспрессии, роста и дифференциации клеток эукариот и их адаптации к изменяющимся условиям среды, а также оценить перспективы применения знаний о закономерностях распада РНК в решении практических задач, связанных с изменением и оценкой нормы реакции сельскохозяйственных организмов на изменяющиеся условия среды.

Общие представления о структуре молекулы мРНК и факторах, определяющих её стабильность. В ядрах клеток каждый ген считывается индивидуально с соответствующего промотора, в результате чего образуется первичный транскрипт, который подвергается многоступенчатому процессингу, каждая стадия которого, как и транспорт мРНК из ядра в цитоплазму, может служить регулирующим звеном в экспрессии генов.

Распад любой молекулы мРНК *in vivo* обусловлен двумя группами факторов: 1) особенностями структуры самой молекулы, определяемой взаимодействием 5'-нетранслируемой, кодирующей и 3'-нетранслируемой частями молекулы (цис-факторы) и 2) локализацией мРНК, делающей её особенно чувствительной к РНКазам, активностью РНКаз, а также наличием в клетке прочих стабилизирующих и дестабилизирующих факторов (транс-факторы).

Одним из факторов, влияющих на скорость распада мРНК, является их собственная структура (цис-фактор). Молекулы мРНК могут различаться по размерам, но устроены они в принципе одинаково. РНК обычно приписывают некую направленность, исходя из того, в какую сторону по молекуле движутся транслирующие её рибосомы. Конец, ближайший к первому транслируемому кодону, обозначается 5', а противоположный конец — 3'. На 5'-конце мРНК имеет структуру, состоящую из метилированного гуанина (кэп), который присоединяется к нативной молекуле посттранскрипционно. Между кэпом и иницирующим АУГ триплетом расположена 5'-нетранслируемая, или лидерная, последовательность нуклеотидов, за которой следует кодирующая область; далее

у 3'-конца расположен ещё один нетранслируемый участок, за которым во многих мРНК имеется «хвост» приблизительно из 200 нуклеотидов, обозначаемый поли(А).

Кодирующая и 5'-нетранслируемая области имеют нуклеотидные последовательности, детерминирующие время жизни мРНК. Однако главные детерминанты стабильности мРНК находятся в 3'-нетранслируемой области. Это последовательности (U)nA и степень полиаденилирования мРНК, т.е. длина её терминальной гомонуклеотидной цепи поли(А)-хвоста [4].

Терминальная последовательность поли(А) и поли(А)-связывающий белок (РАВР). Поли-А-хвост молекулы мРНК является её единственной структурой, которая весьма оперативно изменяется в зависимости от внешних и внутренних условий. Внимание исследователей давно занимает вопрос о роли этой нуклеотидной последовательности в определении стабильности мРНК. На ранних этапах исследования было показано, что последовательность поли-А, связанная с определенными белками, устойчива к действию экзонуклеаз эукариотических клеток. Удаление этой последовательности из состава молекул стабильных мРНК делало их нестабильными. Деаденилирование мРНК, наблюдаемое в ряде случаев в ходе развития того или иного организма, также приводило к снижению стабильности мРНК. Предполагается, что изначальная длина поли-А-сегмента определяет время жизни мРНК, в ходе которой длина его постоянно уменьшается [4].

Полиаденилирование мРНК происходит как в ядре, так и в цитоплазме. Наиболее важной структурой, определяющей её полиаденилирование в ядре, является поли-А-сигнал, специфически сопряжённый с поли-А-сайтом, который обычно находится на расстоянии 10-30 нуклеотидов вниз по течению от сигнала и по которому происходит расщепление молекулы. В цитоплазме поли-А-последовательность мРНК подвергается деградации. Этот процесс совершенно не зависит от процесса трансляции и осуществляется с помощью фермента поли-А-нуклеазы (PARN). Известно, что скорость деаденилирования варьирует от 20 до 900 адениловых остатков в час.

Изменения в полиаденилировании мРНК могут быть вызваны действием эндогенных и экзогенных факторов. Так, под действием NaCl (0,3 M) увеличивается длина поли-А-хвоста аргинин-вазопрессина и окситоцина у крыс. В гипоталамусе крыс увеличивается размер поли-А-хвоста мРНК окситоцина в течение беременности и лактации. На 100-150 адениловых остатков увеличивается мРНК гормона роста в цитоплазме клеток крыс под воздействием тироидных гормонов. Наблюдаются циркадные ритмы в изменении поли-А-хвоста ядерных транскриптов вазопрессина крыс: на свету мРНК имеет хвост протяжённостью 240 остатков аденина, а в темноте — всего лишь 30. Сильно увеличивается полиаденилирование мРНК крыс также при обработке клеток актиномицином D высокими концентрациями и при аминокислотном голодании. Укорачивание поли-А-хвостов короткоживущих мРНК протоонкогенов c-шус и c-fos в клетках животных происходит с различной скоростью в зависимости от условий внешней среды. В целом это определяет изменение стабильности мРНК в 5-6 раз. Модификации в длине хвоста цитоплазматических мРНК весьма широко распространённое явление в развитии гамет и эмбрионов позвоночных и беспозвоночных животных [4].

У проростков пшеницы и ячменя нами показано изменение длины поли-А-хвоста под влиянием света и закалывающей температуры (4°C). При этом степень и направленность изменения зависит, по-видимому, от соотношения доминантных и рецессивных генов up, ответственных за скорость яровизации

сортов злаков, и генов *ppd*, ответственных за фотопериодичность их ростовой реакции. По нашим данным степень полиаденилирования мРНК меняется в созревающем зерне кукурузы под влиянием мутации регуляторного гена *ora-2* [5] и в зерне озимой мягкой пшеницы в ходе его созревания и под влиянием биологически активного вещества фурулан [6].

Существенным моментом является то, что степень полиаденилирования цитоплазматических мРНК коррелирует с трансляционной активностью, а деаденилирование — с инактивацией трансляции. Ещё в 80-х годах прошлого века многочисленными исследованиями было показано, что последовательность 3'-поли-А имеет значение в инициации трансляции: 1) последовательность поли-А стимулирует формирование 80S комплекса инициации трансляции; 2) влияние последовательности поли-А на трансляцию прямо пропорционально её длине; 3) функции последовательности поли-А по влиянию на трансляцию модифицируются поли-А-связывающими белками. То есть терминальный поли-А сегмент мРНК является энхансером трансляции [4].

Влияние условий окружающей среды на стабильность мРНК. Под влиянием различных стрессовых воздействий (высокая и низкая температура, изменения осмотического давления, обезвоживание, болезни, биологически активные вещества и др.) в клетках эукариот изменяется соотношение концентраций активно транслируемых мРНК. Регулируется этот процесс как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне, в частности, через изменение стабильности.

Важнейшим фактором в жизни растений является свет. Стабильность мРНК-пластид растений в значительной мере детерминирована наличием инвертированных последовательностей нуклеотидов на 3'-конце молекулы. Воздействие света различной длины волны изменяет стабильность специфических мРНК, что является важным моментом в регуляции экспрессии генов пластид в ходе их развития и адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. Наличие посттранскрипционной регуляции экспрессии генов на уровне стабильности мРНК в цитоплазме растений под влиянием света отмечено многими исследователями. Чаще всего свет увеличивает стабильность мРНК. Однако мРНК важнейшего фоторецептора фитохрома А (PHYA) дестабилизируется под влиянием света. Наиболее строгие доказательства влияния света на стабильность мРНК получены для мРНК гена *fed-1*, кодирующего ферредоксин, участвующий в переносе электронов при фотосинтезе. Экспрессия этого гена усиливается под влиянием света, однако транскрипционная активность при этом существенно не изменяется. Генно-инженерные исследования химерных молекул позволили выявить светозависимый элемент, который включает фрагмент *fed-1*, состоящий из 230 нуклеотидов в 5'-нетранслируемой области и первой трети кодирующей области специфических мРНК [4].

Таким образом, эукариотические клетки регулируют стабильность мРНК в стрессовых условиях через посредство факторов, как стабилизирующих, так и дестабилизирующих специфические мРНК.

В мировой молекулярной биологии 90-е годы XX в. были ознаменованы открытием новых молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов на уровне стабильности соответствующих мРНК

Роль распада мРНК в явлении «молчание генов» у трансгенных растений. Молчание генов, корепрессия или чувственная репрессия — так называется явление, резко ограничивающее в настоящее время успехи генной инженерии в так называемой «обратной генетике», т.е. в создании трансгенных растений с увеличенной дозой того или иного гена, что позволяет установить его

функцию. Это явление состоит в том, что ряд генов, привнесённых в растительный геном, вполне активны на уровне транскрипции, но мРНК этих генов подвергается целенаправленной деградации в цитоплазме, что и обуславливает молчание этих генов. С другой стороны, это явление определяет относительные успехи в создании трансгенных растений, устойчивых к вирусным заболеваниям, так как наличие в геноме растения одного из генов вируса (например, гена белка оболочки) запускает в действие механизм явления «молчание генов» при поражении растения соответствующим вирусом, обеспечивая эффективное уничтожение соответствующей вирусной мРНК.

Предполагается, что мРНК чувствительны к одному из многих трансдействующих факторов, которые запускают механизм их распада. К таким трансдействующим факторам относят РНК-связывающие белки, аберрантные РНК и антисенс-РНК. Это так называемая «пороговая» модель запуска явления «молчание генов». Ключевой момент в этой модели: превышение определённого количественного порога гомологичной мРНК. Вторая модель предполагает взаимодействие двух молекул ДНК, в результате чего изменяется состояние ДНК (или хроматина). Точная природа изменения неизвестна, но предполагается, что это связано с особенностями метилирования ДНК. В результате синтезируется небольшое количество аберрантных РНК среди нормальных РНК. Аберрантные РНК в цитоплазме запускают распад мРНК.

Обе модели предполагают усиление деградации гомологичной мРНК. Возможно, в этом процессе участвует характерный для растительных клеток фермент РНК-зависимая РНК-полимераза, которая может способствовать увеличению количества аберрантных или антисенс-РНК, взаимодействующих с нормальной РНК и определяющих их распад при помощи специфических РНКаз, разрушающих дуплексы РНК-РНК.

Детальное изучение явления «молчание генов» ещё предстоит. Вероятно, многое в этом явлении могут прояснить генетические исследования, позволяющие выявить локусы, ответственные за молчание конкретных генов, а также успехи в исследовании метилирования ДНК [7].

Явление «молчания генов» (сайленсинг), или косупрессия, у трансгенных организмов было описано в 1990 г. так: введение в геном *Petunia hybrida* дополнительных копий гена, ответственного за синтез красного пигмента цветков, парадоксально снижало количество пигмента по сравнению с таковым у нетрансформированных растений. Следовательно, явление косупрессии заключается в том, что общий уровень экспрессии трансгенов может резко снижаться или даже полностью подавляться при увеличении их копий в геноме. Косупрессия обнаружена у многих растений. Исследования показали, что косупрессия осуществляется в результате как расщепления молекул мРНК в цитоплазме, так и подавления транскрипции, вызванной метилированием остатков цитозина в составе промоторов трансгенов и гомологичных эндогенов [8].

В 1998 г. была обнаружена способность молекул двуцепочечных РНК (дцРНК), инъектированных в организм нематоды *Caenorhabditis elegans*, эффективно подавлять экспрессию гомологичных по нуклеотидной последовательности генов — **явление РНК-интерференции**. Впоследствии те же эффекты дцРНК были отмечены у других животных, а также у растений, грибов и простейших [7, 8, 9].

В 2006 г. Нобелевская премия в области биологии (по физиологии и медицине) присуждена американским учёным Эндрю Файру и Крейгу Меллоу за открытие явления РНК-интерференции — молекулярного механизма, контролирующего в живой клетке поток генетической информации через закономер-

ный распад специфических мРНК и предоставляющего принципиально новые возможности регуляции экспрессии генов в практических целях.

Нобелевской премии по химии в 2006 г. удостоен также американский учёный Роджер Корнберг за тонкие исследования синтеза РНК с помощью фермента ДНК-зависимой-РНК-полимеразы на матрице ДНК.

Таким образом, «химическая» и «биологическая» Нобелевские премии сошлись в 2006 г. на уровне РНК, которая играет ключевую роль в существовании всех без исключения организмов — от бактерий и растений до человека [10].

Молекулярный механизм РНК-интерференции состоит в том, что длинные молекулы дцРНК, образующиеся в результате транскрипции с обеих нитей ДНК, а также в результате синтеза на матрице однонитевой РНК с помощью РНК-зависимой РНК-полимеразы, нарезаются (процессируются) в клетке нуклеазами семейства РНКазы III Dicer (дайсер) на короткие двухнитевые РНК длиной 20-25 нуклеотидов (siРНК), которые в комплексе со специфическими белками осуществляют разрезание молекул мРНК-мишени в участках, полностью комплементарных коротким РНК. Репрессия, индуцированная siРНК, у млекопитающих и растений сопровождается также метилированием гомологичных участков ДНК и таким образом может влиять на структуру хроматина.

Регуляторной функцией подавления экспрессии гена обладают и короткие РНК другого происхождения, так называемые микроРНК. Они образуются нуклеазой Dicer из кодируемых в геномах животных и растений РНК-предшественников, имеющих структуру шпильки. В отличие от длинной молекулы дцРНК, которую Dicer нарезает на статистический набор различных по нуклеотидной последовательности siРНК, микроРНК всегда представляет собой олигонуклеотид, вырезаемый из предшественника-шпильки по строго определённым позициям. МикроРНК участвует в регуляции экспрессии различных мРНК, связываясь, как правило, с комплементарными сайтами в 3'-нетранслируемых областях. Так же как и siРНК, микроРНК могут разрезать мРНК-мишень, если их нуклеотидные последовательности полностью комплементарны, или останавливать трансляцию, если комплементарность частичная.

Различные примеры подавления экспрессии генов с участием коротких РНК позволяют предположить, что этот механизм возник на ранних этапах эволюции эукариот как способ защиты генома от экспансии мобильных генетических элементов и вирусов. С эволюционной (селекционной) точки зрения особый интерес представляет возможность «приручения/доместикации» мобильных элементов и использования механизма их транскрипционного сайленсинга для обеспечения клеточных функций самого организма-хозяина (получение и закрепление генома хозяйственно ценного генотипа). Существующие экспериментальные данные позволяют с уверенностью говорить об РНК-интерференции как о процессе, имеющем большое значение для защиты клетки от чужеродной генетической информации, а также являющемся важным механизмом контроля биосинтеза белка и регуляции развития [7].

Большое значение в практическом плане придаётся в настоящее время получению нокаутных клеток, тканей и организмов при помощи РНК-интерференции. В частности, предлагается при помощи генно-инженерной конструкции, уничтожающей мРНК запасных белков (зеинов), решить проблему получения высоколизиновой кукурузы [11]. В отличие от известной мутации регуляторного гена oраpсe-2 в зерне такой кукурузы не будет нарушен синтез крахмала, а следовательно, физические свойства зерна сохранятся на уровне

обычной кукурузы. Таким образом, явление РНК-интерференции предоставляет возможность решить проблемы питательных и технологических качеств зерна злаков. Важно отметить, что подобное генно-инженерное вмешательство в метаболизм растения отличается от традиционного, когда переносится чужеродный ген и продуцируется в клетке чужеродный белок, гораздо меньшим риском экологических проблем.

В 90-е годы XX в. было показано тождество закономерностей Mg-зависимого распада мРНК в живой клетке (*in vivo*) и в водных растворах (*in vitro*) [12, 13]. На протяжении последних сорока лет многие исследователи отмечали способность выделенной из клетки РНК разрушаться в присутствии катионов металлов. Но от внимания исследователей ускользал тот факт, что разрушение происходит по тем же законам, что и в живой клетке, отражая генетические особенности и физиологическое состояние организма. В фундаментальных науках всегда имел значение объект исследования. Удачность выбора объекта (или случай) определяет скорость и эффективность исследований, обширность и глубину полученной информации. Закономерности Mg-зависимого распада мРНК стали очевидными, когда объектами наших исследований оказались проростки двух сортов озимой мягкой пшеницы, контрастных по морозостойкости (высокоморозостойкий сорт Краснодарская 39 и среднеморозостойкий — Безостая 1).

В ходе наших исследований выяснилось, что мРНК с относительно длинными поли-(А)-хвостами в водном растворе стабильнее, чем мРНК с относительно короткими поли-(А)-сегментами. Инкубация водных растворов приводила к укорочению поли-(А)-хвостов и соответственному снижению степени стабильности мРНК, т.е. в растворе (*in vitro*) происходили такие же превращения мРНК, как и в живой клетке (*in vivo*).

На созревающем зерне кукурузы, проростках пшеницы и ячменя нами были проведены эксперименты, в которых сравнивали относительную стабильность мРНК *in vivo* (когда синтез мРНК в растениях был остановлен при помощи ингибитора транскрипции актиномицина Д и можно было наблюдать распад мРНК) и *in vitro* при инкубации водного препарата высокоочищенной высокополимерной РНК, выделенной из клеток в условиях, способствующих частичному сохранению в составе молекул ионов магния. Было установлено, что в обоих случаях ряды относительной стабильности специфических мРНК одинаковы.

Изложенные выше результаты привели нас к разработке простейшей системы для изучения дифференциальной стабильности мРНК, которая получила название *omtp* от латинского выражения “*omnia tua tecum porto*” — «все свое ношу с собой» (по А.С. Спирину [14]), так как есть основания предполагать наличие у самих молекул мРНК всех необходимых для дифференциального распада факторов, устойчивых к действию депротенизирующих агентов, традиционно используемых для очистки РНК (фенол, хлороформ, додецилсульфат натрия, протеиназа К, диэтилпиокарбонат и др.). Система не зависит полностью от основного клеточного метаболизма, хорошо воспроизводима и позволяет проводить исследования относительной стабильности мРНК на широком биологическом материале в сравнительно простых экспериментах [13].

Многолетние наблюдения селекционеров и физиологов за биологическими особенностями злаков (стрессоустойчивость, фотопериодизм и др.) удивительным образом совпадают с обнаруженными нами закономерностями изменений стабильности мРНК под влиянием условий среды. Но поскольку ста-

бильность мРНК является детерминантой наблюдаемых биологических особенностей растений, система *оттр* открывает новые возможности интегрального молекулярно-биологического подхода для оценки генетико-физиологического потенциала растений на основе исследования саморегуляции биологических систем.

Молекулярные маркеры (ДНК-овые, белковые) являются чрезвычайно эффективным инструментом генетических исследований растений. Однако их статичность не позволяет количественно оценить важнейшие свойства культурных злаков (например, стрессоустойчивость и фотопериодизм). Как познание электричества и развитие электротехники стало возможным только с появлением электродинамики на основе электростатики, так и статичные молекулярные маркеры должны быть существенно дополнены молекулярно-кинетическими маркерами, способными количественно оценить экспрессию основных регуляторных генов или дать интегральную характеристику всех экспрессирующихся генов определенного генотипа в конкретных условиях роста.

Вся активная жизнь построена на обмене веществ — метаболизме, и все биохимические реакции метаболизма происходят с надлежащими для обеспечения жизни скоростями только благодаря высокоэффективным катализаторам, созданным эволюцией. На протяжении многих десятилетий биохимики были уверены, что биологический катализ всегда и всюду осуществляется белками (ферменты или энзимы). Но в 1982-1983 годах было показано, что в природе имеются виды РНК, которые, подобно белкам, обладают высокоспецифической каталитической активностью [15]. Такие РНК-катализаторы были названы *рибозимами*. Представлению об исключительности белков в катализе биохимических реакций пришёл конец. В настоящее время рибосому тоже принято рассматривать как рибозим. Все имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют, что синтез полипептидной цепи белка в рибосоме катализируется рибосомной РНК, а не рибосомными белками. Идентифицирован каталитический участок большой рибосомной РНК, ответственной за катализ реакции транспептизации, посредством которой наращивается полипептидная цепь белка в процессе трансляции [3]. Для проявления рибозимных свойств РНК необходимы катионы магния.

Весьма существенным шагом в познании природы самораспада мРНК стало установление нами факта вариабельности содержания катионов магния (Mg^{++}) в РНК (рибосомной и матричной) в зависимости от генотипа (сорта) и условий окружающей среды. С практической точки зрения очень важным представляется использование этого показателя (количество катионов магния) для долгоживущей высокополимерной РНК зрелого зерна пшеницы в целях оценки степени морозостойкости сорта: чем больше катионов магния, тем слабее морозостойкость сорта. Есть основания полагать, что катионы магния стабилизируют рРНК за счёт укрепления структуры её молекул, но дестабилизируют мРНК вследствие увеличения скорости её деаденилирования в результате укрепления структур, определяющих посадку белков, деаденилирующих мРНК [16, 17]. Такой структурой является шпилька в 3'-нетранслируемой области мРНК [18]. Исследования продолжаются, так как многие молекулярные механизмы, определяющие закономерный распад РНК, еще не поняты.

Формирование структуры популяции мРНК обеспечивается сочетанием разных механизмов: транскрипции, ядерно-цитоплазматического транспорта, дифференциальной стабильности мРНК. В отличие от клеток прокариот, где экспрессия генов регулируется в основном на уровне транскрипции, в клетках эукариот, по-видимому, только небольшое количество генов регулируется

исключительно на транскрипционном уровне. Об этом свидетельствуют результаты исследований количественных соотношений цитоплазматических и ядерных молекул мРНК в дифференцированных клетках различных типов: спектры концентраций ядерных и цитоплазматических мРНК существенно различаются между собой [4].

Время жизни мРНК является самым лабильным компонентом системы регуляции экспрессии генов у эукариот. Однако исследования в этом направлении сдерживались отсутствием простого метода оценки относительной стабильности мРНК, который был бы достаточно адекватен, точен, воспроизводим и не зависел бы от основного клеточного метаболизма. С разработкой системы *оттр* появилась возможность подойти к формированию РНК-маркеров, использующих для диагностики не только трёхмерную структуру молекулы, но и четвертое измерение — время. Анализ судьбы РНК, основанный на методологии и последних достижениях геной инженерии и интегральной молекулярной биологии, превосходит анализ белка по точности и предпочтительнее анализа ДНК, когда параметры экспрессии генов важнее параметров их структуры.

РНК-маркеры открывают новую главу в молекулярной физиологии растений и позволяют в лабораторных условиях, в относительно простых экспериментах диагностировать потенциальную величину амплитуды молекулярно-физиологических реакций генотипов (норму реакции) и прогнозировать свойства злаков на основе знания закономерностей биологии растений, которые скрыты от глаз селекционеров. Это предоставит принципиально новые возможности создания сортов и гибридов методами традиционной селекции, так как основной целью и результатом селекции является изменения нормы реакции организма на условия окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вавилов Н.И.* Генетика на службе социалистического земледелия//Избранные сочинения. М.: Колос, 1966. — 2. *Фейгинсон Н.И.* Корпускулярная генетика. М., 1963. — 3. *Спирин А.С.* Мир РНК и его эволюция // Молекулярная биология/ 2005/ N. 39, №4, с. 550-556. — 4. *Плотников В.К.* Стабильность мРНК как фактор регуляции экспрессии генов в клетках эукариот//Успехи современной биологии. 1992. Т. 112, вып. 2, с. 186-199. — 5. *Плотников В.К., Рядчиков В.Г., Букреева Г.И., Лебедев А.В.* Некоторые особенности популяции мРНК созревающего эндосперма кукурузы opak-2 // Физиология растений. 1983. Т.30, вып.1, с. 63-72. — 6. *Ненько Н.И., Плотников В.К., Кузембаева Н.А., Гаража, В.Н. Суркова Е.В, Насонов А.И., Поспелова Ю.С., Малюга Н.Г.* Влияние препарата фуrolан на физиолого-биохимические характеристики созревающего зерна озимой пшеницы //Прикладная биохимия и микробиология. 2007. №6, с. 715—821. — 7. *Хаитов М.Р., Акимов В.С.* Интерференция РНК //Успехи современной биологии. 2006. Т.126, №3, с. 242-249. — 8. *Henderson I.R.* Dissecting Arabidopsis thaliana DICER function in small RNA processing, gene silencing and DNA methylation patterning //Nature genetics, 2006, v. 38, p. 721-725. — 9. *Zhang X.* The role of RNA Polymerase IV in Plant Small RNA //Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, v. 104, p. 4536-4546. — 10. Рибонуклеиновый год (в 2006 году сразу две Нобелевские премии присуждены за работы, объектом которых была рибонуклеиновая кислота — РНК), <http://www.stengazeta.net/article.html?article=2705> — 11. *Segal G. et al.* A New Opaque Variant of Maize by a Single Dominant RNA-Interference-Inducing Transgene //Genetics, 2003, v. 165, p.387-397. — 12. *Plotnikov V.K., Bakaldina N.B.* Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel //Plant Molecular Biology, 1996, v.31, p.507-515. — 13. *Плот-*

ников В.К. Генетико-физиологическая детерминация распада мРНК злаков *in vitro* // Успехи современной биологии, 2003. Т. 123, вып. 1, с.98-109. — 14. Spirin A.S. Eukaryotic messenger RNA and informosomes. *Omnia mea tecum porto* / A.S Spirin. // FEBS Lett. 1978, v. 88, P. 15-17. — 15. Cech T.R. Ribozymes, the first 20 years // Biochem. Soc. Trans. 2001, v.30, p.1162-1166. — 16. Плотников В.К., Насонов А.И., Ладатко А.Г. Вариабельность содержания катионов магния (Mg^{++}) в РНК проростков озимой мягкой пшеницы // В сб.: «Аминокислотное питание животных и проблема белковых ресурсов». Краснодар. 2005, с.349-352. — 17. Плотников В.К., Насонов А.И., Кузембаева Н.А., Букреева Г.И., Каленич В.И., Беспалова Л.А. Особенности молекулярной физиологии озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1 // В сб.: «Безостая 1 — 50 лет триумфа». Краснодар. 2005, с.212-220. — 18. Fialcowitz E.J. et. al. A Hairpin-like Structure within an AU-rich mRNA-destabilizing Element Regulates trans-Factor Binding Selectivity and mRNA Decay Kinetics // The Journal of Biological Chemistry. 2005. v. 280. P. 22406-22417.

*В.К. Плотников, доктор биологии, наук, профессор,
Краснодарский научно-исследовательский институт
сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко*