**“Гендер экспрессиясының актуальды мәселелері”** пәнінің қысқаша декциялары

**Дәріс 1: Гендер экспрессиясына қысқаша сипаттама ДНҚ, РНҚ және белок молекулалары туралы жалпы түсінік.**

Гендер экспрессиясы – генетикалық ақпараттың полипептидтер мен ақуыздарға ДНҚ-нан РНҚ арқылы тасымалдануы.

 Гендер экспрессиясы (gene expression): клеткада бар немесе әрекет етуші генде кодталған ақпарат құрылымға айналатын процесс. Экспрессияланатын гендерге МРНҚ арқылы транскрибцияланатын, ары қарай ақуызға трансляцияланатын және де РНҚ транскрипцияланатын бірақ ақуыз тасымалданбайтын гендер жатады. Гендер экспрессиясының көрінісі сапалық және сандық жағынан клетканың өзіне тән ерекшеліктері мен оның организмдегі рөлін анықтайды. Гендер экспрессиясы паттернінің өзгеруі клеткалық дифференцировканы іске қосады.

Нуклеин қышқылдарының екі түрі белгілі: ДНҚ, РНҚ.

Нуклеин қышқылдары—полимерлер, олардың мономерлері болып нуклеотидтер саналады. Нуклеотидтер өз кезегінде 3 бөліктен құралған.

Нуклеотидтер молекуласында азоттық негіздердің пуриндік -Аденин (А) не Гуанин (Г); немесе примидиндік - цитозин (Ц), Тимин (Т) не Урацил (У) деген түрлері, қант ретінде - дезоксирибоза не рибоза, 1 фосфор қышқылының қалдығы (монофосфат) кездеседі.

Дезоксирибонуклеин қышқылының (ДНҚ) кұрылысы.

ДНҚ (дезоксирибонуклеин қышқылы) нуклеотидттері-дезоксирибозадан, азоттық негіздерден, 1 фосфаттан (монофосфат) кұралған, олардың АМФ, д ГМФ, д ЦМФ, д ТМФ деп атайды.

ДНҚ молекуласы қосширатпалы болып келеді (Ф. Крик, Д.ж. Уотсон). Оның алғашқы, екінші реттік, үшінші реттік құрылыстары белгілі.

ДНҚмолекуласының алғашқы құрылысы-бір жіпшеде нуклеотидгердің (А, Г, Ц, Т) бірізділікпен тізбектеліп орналасуы болып табылады. ДНҚ алғашқы құрылысы фосфодиэфирлік байланыс арқылы тұрақтанады, яғни бір жіпшедегі нуклеотидтер бір-бірімен фосфаттық топ және қанттың гидроксил тобы арқылы байланысқан.

ДНҚ молекуласының екінші реттік кұрылысы оның екі жіпшесіндегі азоттық негіздердің бір-бірімен сутектік байланыс арқылы комплиментарлы байланысуы (А-Т; Г-Ц) болып табылады. ДНҚ жіпшелері полярлы болады, яғни оның 5' және З1 ұштары белгілі. ДНҚ молекуласының қосширатпасы (тізбектері) бір-біріне антипараллель орналасқан;

(51) ...    АТТГАЦГГЦ ......(З1)

(З1) ...    ТААЦТГЦЦГ.......(51)

Қос ширатпаның бір оралымында 10 жұп нуклеотидтер кездеседі, ал оралымның ұзындығы 3,4 нм тең.

Сонымен қатар, А-Т арасында 2 сутектік байланыс болса, Г-Ц арасында 3 сутектік байланыс болады, сондықтан-да Г-Ц байланысы, А-Т байланысына қарағанда әлде қайда мықтылау болып келеді.

ДНҚ молекуласының 3 реттік құрылысы ретінде оның ақуыздармен (гистондық ақуыздармен) байланысын айтуға болады. Хромосома ақуыздарының 60-80 пайызын негіздік және гидрофобтық аминқышқылдар (аргинин, лизин, валин, т.б.) көптеп кездесетін гистондық ақуыздар құрайды. Гистондық ақуыздар ДНҚ-мен негіздік радикалдар көмегі-мен, ал өзара гидрофобтық радикалдар арқылы әрекеттеседі. Хромосомаларда ДНҚ молекуласы гистондық ақуыздармен байланысып нуклеогистон құрайды, ол хроматин жіпшесі ретінде белгілі. Хроматин жіпшесінің тірегін нуклеосома денешіктері құрайды. Ол 4 түрлі гистондық ақуыздардың-гистон Н2А, гистон Н2в, гистон 3, гистон 4-(Н2а, Н,в, Н,, Н4) қос молекуласынан құрылған.

Осындай әр бір денешікті ДНҚ молекуласы екі рет ширатылып оралады және оның ұзындығы 140 н.ж. тең. Нуклеосома денешіктері бір-бірімен тығыз жабысып орналаспай біршама алшақтау орналасқан.

Нуклеосома денешіктерінің араларындағы ДНҚ учаскелерін линкерлік (жалғаушы) учаске деп атайды, ал әрбір линкерлік учаскемен гистондық ақуыздың 5-ші түрі - HI байланысқан. Хроматин жіпшесінде ДНҚ өте көп, 600.000-ға жуық, нуклеосома денешіктерін түзеді. Үзындығы 190 см жететін ДНҚ молекуласының өлшемі жағынан микроскопиялық, бірнеше микрометрге -180 мкм. тең, 46 хромосомаларда тығыздалып, ширатылып орналасуына нуклеосома денешіктері мүмкіндік береді.

Жасуша ядросынын барлық хромосомаларында орналасқан ДНҚ, ұзындығы 190 см. тең, ал нуклеосома жіпшенің ұзындығы ДНҚ ұзындығынан 6,2 есе кем.

Нуклеосома жіпшелері әрі қарай ширатылып хроматин жіпшелеріне айналады. Хроматин жіпшелерінін ұзындығы нуклеосома жіпшелерінің

ұзындығынан 18 есе кем, ал ДНҚ молекуласының ұзындығынан 6,2x18=100 есеге кем.

Хроматин жіпшелері митоз кезінде әрі карай ширатылып, қатпарланып, тығыздалып митоздық хромосомаларды туғызады. Митоздық хромосомаларда хроматин жіпшелері хромосоманын ұзына бойына көптеген рет қатпарлар пайда етеді (кейбір деректер бойынша 100 ретке дейін), осының нәтижесінде барлык хромосомалардың ұзындығы (180 мкм) ДНҚ молекуласының үзындығынан 100.000 есеге кем болады.

Сонымен қатар нуклеосомалар күрылымдық (хроматин тірегі), реттеуші қызметтерді де атқарады.

ДНҚ молекуласының бойында тұкым қуалаушылық ақпарат жазылған, ол негізінен (95%) ядрода, ал 5% цитоплазмада-митохондрияларда, хлоропласттарда шоғырланған.

**Ақуыз** — молекулалары өте күрделі болатын [аминқышқылдарынан](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D2%9B%D1%8B%D1%88%D2%9B%D1%8B%D0%BB%D0%B4%D0%B0%D1%80) құралған [органикалық зат](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%BA%D0%B0%D0%BB%D1%8B%D2%9B_%D0%B7%D0%B0%D1%82); тірі организмдерге тән азотты күрделі органикалық қосылыс. Аминқышқылдары қалдықтарынан құралған жоғары молекуларлық органикалық түзілістер. Ақуыз организмдер тіршілігінде олардың құрылысы дамуы мен зат алмасуына қатысуы арқылы әртүрлі және өте маңызды қызмет атқарады. Ақуызды зат - құрамында міндетті түрде [азоты](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B7%D0%BE%D1%82) бар күрделі органикалық қосылыс.

Ақуыздардың жіктелуі

Ақуыздардың мынадай белгілеріне қарап жіктейді:

* күрделілік дәрежесіне (қарапайым және күрделі), қарапайым протеиндер тек қана аминқышқылдары қалдықтарынан тұрады, күрделі протеидтер құрамына ақуызды заттардан басқа қосылыстардың қалдықтары кіреді;
* молекула пішініне (шар тәрізді және жіп тәрізді);
* кейбір еріткіштерде еру қабілетіне қарай (суда еритіндер, әлсіз түз ерітінділерінде еритіндер - альбуминдер, спиртте еритіндер — проламиндер, сұйытылған қышқыл және сілті ерітінділерінде еритіндер глутелиндер);
* атқаратын қызметтеріне қарай (мысалы, корға жиналатын ақуыздар, тірек қызметін атқаратын ақуыздар).
* Ақуыздың түзілуі - бұл өте күрделі жасушадағы ұсақ бөлшектер-рибосомаларда жүретін процесс. Қашан, қанша және қандай ақуыз түзілуі керектігі жайлы мәлімет жасуша ядросындағы [ДНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D2%9A%22%20%5Co%20%22%D0%94%D0%9D%D2%9A), [РНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%9D%D2%9A) арқылы жеткізіледі.
* Ақыздардың қасиеттерін олардың құрамы мен құрылымы анықтайды. Ақуыз молекуласындағы а-аминқышқылдары қалдықтарының саны әртүрлі болады, кейде бірнеше мыңға дейін жетеді. Әр ақуызда а-аминқышқылдары тек осы ақуызға ғана тән ретімен орналасады. Олардың молекулалық массалары бірнеше мыңнан миллионға дейін жетеді. Мысалы, жұмыртқа ақуызының молекулалық массасы 36000, бұлшық ет ақуызының молекулалық массасы — 150000, адам гемоглобині 67000, ал көптеген ақуыздардікі > 300000 шамасында. Олар, негізінен, [көміртек](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D3%A9%D0%BC%D1%96%D1%80%D1%82%D0%B5%D0%BA%22%20%5Co%20%22%D0%9A%D3%A9%D0%BC%D1%96%D1%80%D1%82%D0%B5%D0%BA) (50—55%), оттек (20—24%), азот (15—19%), сутектен (6—7%) тұрады. Кейбір ақуыздардың құрамына бұлардан басқа күкірт, фосфор, темір кіреді. Ақуыздар гидролизденгенде а-аминқышқылдарының қоспасы түзіледі. Әрбір организмнің өзіне тән ақуыздары бар. Барлық ақуыздар 20-дан астам әртүрлі а-аминқышқылынан құралады.

**Дәріс 2: Ген және геном**

* **Ген**(грек. *genos* — тұқым, тек) — тұқым қуалаудың қандай да бір элементар белгісін қалыптастыруға жауапты материалдық бірлік. Генде [жасушаның](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D0%B0%D1%81%D1%83%D1%88%D0%B0) құрылымы мен қызметін анықтайтын генетикалық ақпарат болады. Бір организмнің Гендер жиынтығы оның генотипін құрайды.Ген терминін алғаш рет 1909 жылы Дания ғалымы В.Йогансен енгізді. Барлық Гендер [ДНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D2%9A)-дан тұрады және әрбір жеке жасушадағы мыңдаған осындай Гендер жеке ДНҚ [молекуларының](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D0%B0) үзіндісі түрінде емес, хромосома деп аталатын, ірі құрылымдық бірлік құрамында болады. Жасушаның бөлінуі кезінде бұл хромосомалар екі еселенеді және жаңа түзілген жас жасушаалар осындай ата-аналық Гендер жиынтығының көшірмесін алады. Соның нәтижесінде жасушааның барлық белгілері (қасиеттері) [ұрпақтан](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D2%B0%D1%80%D0%BF%D0%B0%D2%9B) ұрпаққа беріледі, яғни тұқым қуалайды. Әртүрлі органимздердегі Геннің орташа ұзындығы 1000 нуклеотид негіздерінің жұбынан құралады деп есептеуге болады. Мыс., жануарларда кездесетін SV-40 [вирусындағы](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81) ДНҚ-ның ұзындығы 5000 нуклеотид, яғни ол 5 геннен; Т4 бактериофагы — 200, ішек бактериясы — 4600, ал адамның гаплоидты жасушасы 100000 — 500000 Гендерден тұрады. 1865 жылы чех ғалымы Г. Мендел [организм](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%BC) белгілерінің жеке тұқым қуалайтынын және шағылысу (будандастыру) кезінде ұрпақтарында жоғалмай сақталатынын анықтады.
* 
* Будандардың бірінші ұрпағында ата-ананың біреуінің ғана белгісінің басым болуы доминанттық деп аталады. Генетикада Гендерді латын әліпбиінің әріптерімен белгілеу қалыптасқан, мыс., доминантты Генді бас әріппен (А), ал рецессивті (басылыңқы) Генді кіші (а) әріппен белгілейді. Микроорганизмдерде белгілі бір қосылыстар синтезіне жауапты Гендерді сол қосылыстар атауының алғашқы әріптерімен және “+” (қосу) белгісімен белгілейді, мыс., hіs+ — гистидин Гені, leu+ — лейцин Гені, тағыда басқа Гаметалардың түзілуі мен ұрықтану процестеріндегі әртүрлі Гендер бойынша белгілердің тәуелсіз ажырауы мен гомологтық емес хромосомалар әрекетінің арасындағы қатарластық (параллелизм), тұқым қуалаушылықтың хромосомалық теориясының негізін қалады. Бұл [теория](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B5%D0%BE%D1%80%D0%B8%D1%8F) бойынша Гендер хромосомаларда тізбектеле орналасады да, олар тұқым қуалаушылықтың материалдық негізін қалайды (қ. Мейоз). Жасушадағы ақуыздың синтезделуі және олардың қарым-қатынасы туралы ақпарат тек Гендерде болады, яғни әрбір Ген белгілі бір [ақуыз](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D2%9B%D1%83%D1%8B%D0%B7) (полипептидті тізбек) синтезіне жауапты. Ақуыз синтезін бақылай отырып, Ген организмдегі барлық химиялық реакцияларды басқарады, яғни оның белгілерін (мысалы, [шаштың](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A8%D0%B0%D1%88) түсін, [қанның](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D2%9A%D0%B0%D0%BD) тобын, өсуді және т.с.с.) анықтайды. Гендер өзінде болатын ферменттер құрылымы және басқа жасушалық ақуыздар туралы ақпарат есебінен жасушалық метаболизмге бақылау жасайды. Ал ферменттер тірі организмдерде жүретін барлық химиялық реакцияларды басқаратын биокатализатор рөлін атқарады.Геннің құрылымы мен қызметін, Ген мен ферменттер арасындағы өзара байланысты әрі қарай тереңдете зерттеудің нәтижесінде “бір ген — бір полипептид” деген ұғым тұжырымдалды.Геннің қызметі туралы қазіргі көзқарастың қалыптасуына [Америка](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BC%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BA%D0%B0) ғалымдары Д. Бидл, Э. Тейтем (Татум) және С. Бензер жүргізген зерттеулердің әсері көп болды (1940 — 60).
* [ДНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D2%9A)-да “жазылған” (кодталған) тұқым қуалау туралы генетикалық ақпарат [РНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%9D%D2%9A) молекуласына беріледі де, ақуыз биосинтезі (трансляция) нәтижесінде ақуыз молекулалары құрылымынан көрініс табады. Генетикалық ақпараттың [ДНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D2%9A)-дан [РНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%9D%D2%9A) арқылы полипептидтер мен ақуыздарға тасымалдануы экспрессия немесе Гендердің көрінуі деп аталады. ДНҚ-ның басқа Гендердің белсенділігін реттейтін бөліктерін реттеуші Гендер деп атайды. Реттеуші Гендер басқа молекулалармен әрекеттесе отырып, сол жасушадағы ақуыз синтезіне әсер етеді. Геннің маңызды қасиеттерінің бірі — олардың жоғары тұрақтылығының (ұрпақтар бойында өзгермеушілігі) тұқым қуалағыш өзгерістерге — мутацияға ұшырау қабілеттілігімен үйлесімділігі. Бұл [қасиет](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D2%9A%D0%B0%D1%81%D0%B8%D0%B5%D1%82) табиғи сұрыпталудың, оның нәтижесінде организмдер өзгергіштігінің негізі болып табылады.

**Геном**([ағылшынша](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%90%D2%93%D1%8B%D0%BB%D1%88%D1%8B%D0%BD%D1%88%D0%B0&action=edit&redlink=1" \o "Ағылшынша (мұндай бет жоқ)) [genome](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=Genome&action=edit&redlink=1" \o "Genome (мұндай бет жоқ)), [грекше](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%93%D1%80%D0%B5%D0%BA%D1%88%D0%B5&action=edit&redlink=1" \o "Грекше (мұндай бет жоқ)) [genos](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=Genos&action=edit&redlink=1" \o "Genos (мұндай бет жоқ)) — шығу, тек) — [хромосомалардың](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0&action=edit&redlink=1) [гаплоидты](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%93%D0%B0%D0%BF%D0%BB%D0%BE%D0%B8%D0%B4%D1%82%D1%8B&action=edit&redlink=1) (сыңар) жиынтығында шоғырланған гендердің бірлестігі. Геном терминін 1920 жылы неміс биологы [Г. Винклер](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%93._%D0%92%D0%B8%D0%BD%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%80&action=edit&redlink=1) енгізді. Гаплоидты жиынтық көбінесе [жыныс](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D1%8B%D0%BD%D1%8B%D1%81) жасушаларына тән, ал сомалық (дене) жасушаларында хромосомалардың диплоидты (екі еселенген) жиынтығы болады. Кейде хромосомалардың саны қалыпты диплоидты жағдайдан артып кетеді. Егер гаплоидты жиынтықтан Геном үш не төрт есе артық болса, триплоидты және тетраплоидты, ал бір Геном ағзада бірнеше рет қайталанса, автополиплоидты, ал әр түрлі біріккен ағза аллополиплоидты деп аталады.[Хромосомалардың](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC&action=edit&redlink=1) жиынтығы еселеніп, артқан сайын Геном саны да өсіп отырады. Әдетте [диплоидты клеткада](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%94%D0%B8%D0%BF%D0%BB%D0%BE%D0%B8%D0%B4%D1%82%D1%8B_%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B0&action=edit&redlink=1) хромосомалар жұп болып келеді. Себебі, ұрықтану кезінде оның бір сыңары аналық [гаметадан](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%B0), екіншісі — аталық гаметадан беріледі, яғни бұл Геномдар сәйкес (гомологты) болады. Сөйтіп екі гаплоидты жасушадан бір диплоидты жасуша түзіліп, жаңа ағза қалыптасады. Әр хромосомада тізбектеліп орналасқан гендердің өзара дәл келуін екі Геномның сәйкестігі деп атайды. Туыстығы қашық буындарда барлық немесе бірнеше Геномдар арасында сәйкестік болмайды. Бұл тұрақтылық бұзылып, белгілі бір факторлардың әсерінен хромосома санының өзгеруін (мысалы, артып, не кеміп кетсе) геномдық мутация деп атайды.

* Тірі ағзаларда хромосомалардың саны тұрақты болады. Мысалы адамда — 46, маймылда — 48, қиярда — 14, жүгеріде — 20, қатты бидайда — 28, [жұмсақ](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%96%D2%B1%D0%BC%D1%81%D0%B0%D2%9B&action=edit&redlink=1) бидайда — 42, дрозофила шыбындарында — 8, т.б. Организм эволюциялық дамуында неғұрлым жоғары сатыда тұрса, соғұрлым олардың Г-ында ДНҚ көбірек болады.

**Дәріс 3: Транскрипция. Транскрипцияға қатысатын ферменттер. Транскрипция бірліктері (транскриптондар)**

**ТРАНСКРИПЦИЯ** (лат. *transcrіptіo* – қайта көшіріп жазу) – тірі жасушалардағы [рибонуклеин қышқылының](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D0%BD%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%B8%D0%BD_%D2%9B%D1%8B%D1%88%D2%9B%D1%8B%D0%BB%D1%8B) [биосинтез](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D0%B7) процесі. Ол [дезоксирибонуклеин қышқылы](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%B5%D0%B7%D0%BE%D0%BA%D1%81%D0%B8%D1%80%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D0%BD%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%B8%D0%BD_%D2%9B%D1%8B%D1%88%D2%9B%D1%8B%D0%BB%D1%8B) (ДНҚ) матрицасында жүреді. Транскрипция [аденин](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%B4%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%BD), [гуанин](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D1%83%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%BD), [тимин](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D0%BD) және [цитозиннің](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A6%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B7%D0%B8%D0%BD) қайталанбалы тізбегінен тұратын ДНҚ молекуласындағы генетикалық ақпараттың іске асуының бірінші кезеңі. Транскрипция арнайы [ДНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D2%9A) және [РНҚ](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%9D%D2%9A) полимераза ферменті арқылы жүреді. Транскрипция нәтижесінде РНҚ молекуласының полимерлі тізбегі түзіледі. Бұл тізбек ДНҚ молекуласының көшірілген бөлігіне комплементарлы болады.

Типі

Транскрипция процесінің өнімі әр түрлі қызметтер атқаратын РНҚ молекуласының төрт типінен тұрады:

1. [рибосомадағы](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0) [ақуыз синтезінде](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%90%D2%9B%D1%83%D1%8B%D0%B7_%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D0%B7%D1%96&action=edit&redlink=1) қалыптың ([матрицаның](https://kk.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B0%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%86%D0%B0%22%20%5Co%20%22%D0%9C%D0%B0%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%86%D0%B0)) рөлін атқаратын ақпараттық немесе матрицалық РНҚ;
2. рибосоманың құрылымдық бөлігін құрайтын рибосомалы РНҚ;
3. ақуыз синтезі кезінде генетикалық ақпараттың РНҚ-дағы нуклеотидтік “тілді” аминқышқылдық “тілге” ауыстыруға қатысатын тасымалдаушы РНҚ;
4. ДНҚ молекуласының репликациясы (генетикалық ақпаратты дәл көшіруді және оның ұрпақтан ұрпаққа берілуін қамтамасыз ететін [нуклеин қышқылдары](https://kk.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%B8%D0%BD_%D2%9B%D1%8B%D1%88%D2%9B%D1%8B%D0%BB%D1%8B&action=edit&redlink=1) макромолекуласының өздігінен жаңғыру процесі) кезінде бастама қызметін атқаратын РНҚ.

Транскрипция бірлігін атқаратын қызметі бір-біріне байланысты ферменттер синтезін анықтайтын гендер тобын ``оперон`` деп атайды. Прокариоттарда ол функционалды байланысқан бірнеше геннен, ал эукариоттарда тек бір ғана геннен тұрады. РНҚ-полимераза ферменті оперонның бастапқы бөлігін (промотор) “таниды”, онымен байланысып, ДНҚ молекуласының қос тізбегін ширатады. Осы жерден бастап мономерлі нуклеотидтер комплементарлы шартқа (принципке) сай РНҚ молекуласын түзеді. РНҚ-полимераза ферментінің ДНҚ-матрицасымен жылжуына байланысты синтезделген РНҚ молекуласы алшақтай береді де, ДНҚ-ның қос тізбегі қайта қалпына келеді. РНҚ-полимераза көшірілетін бөліктің соңына жеткенде (терминатор) РНҚ молекуласы матрицадан ажырайды. ДНҚ молекуласының әр түрлі бөліктеріндегі көшірмелер саны жасушаның қандайда болмасын ақуызды қажетсінуіне және қоршаған орта жағдайларына байланысты болады. Транскрипция процесінің реттелуін зерттеу молекулалық биологияның маңызды міндеттерінің бірі болып саналады. Ақпараттың көшірілуі ДНҚ молекуласынан РНҚ-ға ғана емес, сондай-ақ, кері бағытта, РНҚ-дан ДНҚ-ға да көшірілуі мүмкін. Мұндай кері Транскрипция құрамында РНҚ молекуласы бар ісік тудыратын вирустарда болады. Олардың құрамында жасуша зақымданғаннан кейін вирустың РНҚ-сын ДНҚ тізбегін синтездеуге матрица ретінде қолданатын фермент болады. Соның нәтижесінде ДНҚ молекуласының бір тізбегі, яғни ДНҚ – РНҚ гибриді түзіледі. Алғашқы РНҚ молекуласының барлық ақпаратын алып жүретін вируспен зақымданған қос спиральды ДНҚ молекуласы жасушаның хромосомасына еніп, қатерлі ісік тудырады. Кері Транскрипцияның ашылуы Ресей ғалымы Л.А. Зильбер (1894 – 1966) ұсынған қатерлі ісік вирусты-генетикалық теорияның дұрыс екенін дәлелдеді. Кері Транскрипция қалыпты жасушаларда ақпараттың жинақталуында және оның іске асуында (мысалы, эмбрионды даму кезеңінде) маңызды рөл атқаруы мүмкін.

Транскрипция происходит в три стадии:
1)инициация,
2)элонгация.
3) терминация.

Основным ферментом, осуществляющим транскрипцию, является РНК-полимераза. Так же, как и рибосомы, РНК-полимеразы бывают двух типов - прокариотические и эукариотические. РНК-полимераза прокариотического типа состоит из 5 субъединиц четырех видов (a, b, b' и s) и имеет состав a2bb's. Лучше всего изучена РНК-полимераза из Escherichia coli: мол. масса ее субъединиц составляет 40 кДа (a), 155 кДа (b), 160 кДа (b') и 85 кДа (s), фермент имеет несколько вытянутую форму и его максимальные размеры достигают 15 нм. a-, b- и b'-субъединицы разных видов бактерий имеют довольно близкую мол. массу, тогда как мол. масса s-субъединицы варьирует в значительных пределах - от 44 до 92 кДа. Полный фермент (голофермент) состава a2bb's нужен только для инициации транскрипции, а затем s-субъединица (s-фактор) освобождается из комплекса и элонгация осуществляется минимальным ферментом состава a2bb'. У многих бактерий один и тот же минимальный фермент может взаимодействовать с разными s-факторами, одновременно присутствующими в клетке, и тогда происходит инициация транскрипции только определенной группы генов, "обслуживаемых" данным s-фактором.

В некоторых случаях, например, при переходе бактерии к споруляции, блокируется синтез "обычного" и активируется синтез нового s-фактора. Это приводит к прекращению транскрипции одной группы генов и инициации транскрипции новой группы генов, т.е. к смене генетических программ в клетке. Общее количество РНК-полимераз, присутствующих в клетке Escherichia coli, оценивается как 7 тыс., в зависимости от русловий роста в синтезе РНК может быть занято одновременно от 2 до 5 тыс. молекул фермента. РНК-полимеразы, кодируемые геномом размножающихся в бактериальных клетках бактериофагов, устроены гораздо проще прокариотических РНК- полимераз и состоят всего лишь из одной полипептидной цепи, но могут инициировать транскрипцию только определенных генов. Следовательно, сложность прокариотической РНК-полимеразы, по крайней мере частично, отражает наличие множества сигналов контроля, на которые она должна отвечать.

В ядре эукариот одновременно присутствуют три разные РНК-полимеразы эукариотического типа. РНК-полимераза I локализована в ядрышках и ответственна за транскрипцію генов рРНК, на ее долю приходится 50 - 70% клеточного синтеза РНК. В остальной части ядра локализованы РНК-полимераза II, обеспечивающая синтез гетерогенной ядерной РНК (предшественников мРНК), и РНК-полимераза III, обеспе- чивающая синтез многих малых РНК и тРНК. На их долю приходится 20 - 40% и 10% общего клеточного синтеза РНК соответственно. Каждая из эукариотических РНК- полимераз представляет собой крупный белковый агрегат, состоящий из двух больших субъединиц (примерно 200 и 140 кДа) и из порядка 10 маленьких субъединиц, варьирующих по мол. массе от 10 до 90 кДа. Ядра высших эукариот содержат около 40000 молекул РНК-полимеразы II, примерно такое же число молекул РНК- полимеразы I и вдвое меньше молекул РНК-полимеразы III, причем точное количество этих ферментов варьирует в зависимости от скорости роста клетки. Кроме ядерных РНК-полимераз в эукариотической клетке есть свои собственные РНК-полимеразы в митохондриях и хлоропластах, от- носящиеся к прокариотическому типу. Хлоропласты имеют две разные РНК-полимеразы, одна из которых кодируется ядерным геномом, а другая - пластидным геномом: для транскрипции гена внутрипластидной РНК-полимеразы необходимо поступление в хлоропласт синтезированной в цитоплазме пластидной РНК-полимеразы ядерного кодирования.

**Дәріс 4: Транскрипция этаптары. Транскрипция кезіндегі хроматин**

Процесс транскрипции разделяют на 4 основные этапы: 1) [связывание молекул РНК-полимеразы с ДНК и распознавание промотора](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00109a3d.htm) ; 2) [инициация](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/000204a1.htm) ; 3) [элонгация](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00190f94.htm) ; 4) [терминация](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/001200c5.htm) .

## Связывание молекул РНК-полимеразы с ДНК и поиск промоторов

Механизм поиска промоторов на ДНК молекулами РНК-полимеразы до конца не выяснен. Считают, что после первоначального непрочного связывания с ДНК в случайных местах молекулы РНК- полимеразы перемещаются вдоль двойной спирали ДНК до тех пор, пока не обнаруживают последовательности нуклеотидов промоторов, на которых взаимодействие фермента с ДНК становится более прочным. Во время движения молекулы РНК-полимеразы могут периодически отделяться от ДНК и связываться с ней на новом месте, что ускоряет процесс поиска промоторов.

В связывании с ДНК участвует [бета-субъединица РНК-полимеразы E.coli](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/x00fe9b3.htm) , а альфа- и особенно сигма-субъединицы необходимы для специфического распознавания промоторов. Установлено, что[холофермент РНК-полимеразы E.coli](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/000fe9e9.htm) (минимальный фермент, содержащий сигма-субъединицу) закрывает в области промотора участок ДНК длиной около 50 п.о. При этом альфа-субъединицы контактируют с ДНК в области -35-го нуклеотида промотора.

Наиболее сложной и жестко регулируемой стадией транскрипции является стадия инициации. Инициация транскрипции происходит в специфических участках ДНК - [промоторах](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/tr_sv2/00020378.htm) , - и сама состоит из нескольких стадий. В отличие от [ДНК-полимераз](http://medbiol.ru/medbiol/kulb/0000a73d.htm) , РНКП способна самостоятельно осуществлять инициацию и начинать синтез РНК в отсутствие затравки.

Инициация требует наличия субстратов [РНК-полимеразы](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/000038e1.htm) - нуклеозидтрифосфатов - и заключается в образовании первых нескольких звеньев цепи РНК. Первый нуклеотид входит в состав цепи, сохраняя свою трифосфатную группу, а последующие присоединяются к 3'-OH-группе предыдущего с освобождением пирофосфата. На стадии инициации РНК-продукт связан с матрицей и РНК-полимеразой непрочно и с высокой вероятностью может освобождаться из комплекса. В этом случае РНК-полимераза, не покидая промотора, снова инициирует РНК. Такой синтез ди-, три- и более длинных олигонуклеотидов называют [абортивной инициацией](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00004ac0.htm) - в противоположность продуктивной (т.е. завершающейся образованием полноценного [РНК-продукта](http://medbiol.ru/medbiol/slov_sverd/000282b4.htm) ) инициации. Когда РНК-продукт достигает критической длины (от 3 до 9 нуклеотидов на разных промоторах), абортивная инициация полностью прекращается, транскрибирующий комплекс стабилизируется и уже не распадается до тех пор, пока синтез молекулы РНК не будет доведен до конца. Примерно в этот же момент , который считается концом инициации и началом [элонгации](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/001593f1.htm) , от бактериальнойРНК-полимеразы отделяется сигма-[субъединица](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/0001562f.htm) .

Эффективность инициации на разных [промоторах](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/00018d9b.htm) , их "сила", существенно различается: если с некоторых промоторов инициируется всего одна-две молекулы РНК за период деления клетки, то с других (например, с промоторов генов [рибосомных РНК](http://medbiol.ru/medbiol/cytology/0026d118.htm) ) инициация происходит раз в одну-две секунды. Частота, с которой инициируется транскрипция при насыщающей концентрации субстратов, зависит главным образом от равновесной константы образования закрытых промоторных комплексов и константы скорости превращения закрытого комплекса в открытый. Для самых сильных промоторов обычно характерны высокие значения обеих констант (высокое сродство РНК полимеразы к промотору и быстрый переход промоторного комплекса в активное открытое состояние). Для слабых промоторов характерны низкие значения этих величин. Слабость промоторов с низким сродством к РНК-полимеразе особенно заметна при низких концентрациях РНК-полимеразы и может быть скомпенсирована при ее высоких концентрациях. Промотор с низким сродством к РНК-полимеразе может быть достаточно сильным, если ему присуща высокая скорость перехода в открытое состояние. Сила большинства промоторов увеличивается с увеличением степени отрицательной [сверхспирализации](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/x000a9f7.htm) ДНК. Это объясняется тем, что отрицательная сверхспирализация облегчает [расплетание ДНК](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/00014778.htm) и тем самым переход в открытый промоторный комплекс. Существуют, однако, промоторы, сила которых не зависит или даже уменьшается с увеличением степени сверхспирализации. Этому эффекту объяснения пока не найдено.

Инициация транскрипции начинается со сборки на промоторе прединициационного комплекса, в состав которого входят молекулы РНК-полимеразы и матричной ДНК. Если в случае РНК-полимеразы E. coli и других прокариот для осуществления этого процесса нет необходимости в присутствии других белковых факторов, то механизм сборки [инициационного комплекса](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/x0029ccb.htm) с участием [РНК-полимеразы II](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/000fff22.htm) носит более сложный характер.

Существуют две модели инициации транскрипции РНК-полимеразой II. В соответствии с одной из них на промоторе происходит постепенная (ступенчатая) сборка инициационного комплекса из отдельных компонентов. Другая модель акцентирует внимание на то, что Pol II может входить в состав инициационного комплекса в виде холофермента, состоящего из многих субъединиц. [Сборка такого комплекса](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/tr_sv2/0001ee8d.htm) начинается с последовательного связывания с промотором [основных факторов транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/tr_sv2/00031404.htm).

Момент перехода РНК-полимеразы от [инициации транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/000204a1.htm) к элонгации точно не определен. Три основных биохимических события характеризуют этот переход в случае [РНК-полимеразы E.coli](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/000fe9e9.htm) : отделение сигма-фактора, первая транслокация молекулы фермента вдоль матрицы и сильная стабилизация транскрипционного комплекса, который кроме РНК- полимеразы включает растущую цепь РНК и транскрибируемую ДНК. Эти же явления характерны и для РНК-полимераз эукариот. Переход от инициации к элонгации сопровождается разрывом связей между ферментом, [промотором](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/tr_sv2/00020378.htm) , [факторами инициации транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/translation/0000f999.htm) , а в ряде случаев - переходом РНК-полимеразы в состояние компетентности в отношении элонгации (например, фосфорилирование [CTD-домена у РНК-полимеразы II](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/tr_sv2/000261b6.htm) ). Фаза элонгации заканчивается после освобождения растущего транскрипта и диссоциации фермента от матрицы ([терминация](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/001200c5.htm) ).

На стадии элонгации в ДНК расплетено примерно 18 н.п. Примерно 12 нуклеотидов матричной нити ДНК образует гибридную спираль с растущим концом цепи РНК. По мере движения РНК-полимеразы по матрице впереди нее происходит расплетание, а позади - восстановление двойной спирали ДНК. Одновременно освобождается очередное звено растущей цепи РНК из комплекса с матрицей и [РНК-полимеразой](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/000038e1.htm) . Эти перемещения должны сопровождаться относительным вращением РНК-полимеразы и ДНК. Трудно себе представить, как это может происходить в клетке, особенно при транскрипции хроматина. Поэтому не исключено, что для предотвращения такого вращения двигающуюся по ДНК РНК-полимеразу сопровождают топоизомеразы.

Элонгация осуществляется с помощью основных [элонгирующих факторов](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00147dc8.htm) , необходимых, чтобы процесс не останавливался преждевременно [[Nikolov ea 1997](http://medbiol.ru/medbiol/01122001/tr_sv2/0000b031.htm) ]. В последнее время появились данные, показывающие, что регуляторные факторы также могут регулировать элонгацию. РНК-полимераза в процессе элонгации делает [паузы](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00185a77.htm) на определенных позициях гена. Особенно четко это видно при низких концентрациях субстратов. В некоторых участках матрицы длительные задержки в продвижении РНК-полимеразы, т.н. паузы, наблюдаются даже при оптимальных концентрациях субстратов. Продолжительность этих пауз может контролироваться факторами элонгации.

Прекращение синтеза РНК под действием РНК-полимеразы и освобождение РНК из [транскрипционного комплекса](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/00189dd3.htm) происходят в конце транскрипционных единиц на особых участках ДНК - [терминаторах транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/001200c5.htm) .

Терминаторы транскрипции, функционирующие с разной эффективностью, могут находиться и внутри[транскриптонов](http://medbiol.ru/medbiol/transcription/00001c0e.htm) . Такие терминаторы являются факторами, регулирующими уровень транскрипции (и других этапов экспрессии) соответствующих генов. Для осуществления терминации транскрипции на некоторых терминаторах РНК-полимеразам не требуется дополнительных белковых факторов, тогда как другие терминаторы в их отсутствие не функционируют.

Функционирование аттенюаторов - регулируемых [терминаторов транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/001200c5.htm) бактерий, - сопряжено с синтезом [лидерного пептида](http://medbiol.ru/medbiol/cytology/x009cb05.htm) [рибосомами](http://medbiol.ru/medbiol/ribosoma/00011fdb.htm).

После связывания с ДНК молекулы РНК-полимеразы осуществляют поиск промоторов, на которых происходит формирование инициационных комплексов. Начальная стадия инициации транскрипции завершается образованием нескольких первых фосфодиэфирных связей в молекуле синтезируемой РНК, после чего наступает стадия элонгации - последовательного удлинения синтезируемых молекул РНК, которая заканчивается по достижении молекулами РНК-полимераз специальных регуляторных последовательностей ДНК, называемых [терминаторами транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/001200c5.htm) , после чего происходит освобождение синтезированных молекул РНК и РНК-полимераз из транскрипционных комплексов. Освободившиеся молекулы РНК-полимераз приобретают способность вступать в новый цикл транскрипции.

Разделение процесса транскрипции на стадии является упрощенной моделью, оно используется для удобства описания механизмов биосинтеза РНК. Основные этапы транскрипции и дальнейшие пути реализации генетической информации представлены на [рис. I.6](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/000fbecf.htm) .

В обычных условиях [холофермент РНК-полимераз эубактерий](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/x0050399.htm) для инициации транскрипции не требует дополнительных факторов. В отличие от этого для точной инициации транскрипции [РНК- полимеразой II](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/000fff22.htm) требуется наличие, кроме ее субъединиц, еще и основных [факторов транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/0014455f.htm) . Синтез РНК, который не зависит от присутствия регуляторных молекул, получил название [базальной транскрипции](http://medbiol.ru/medbiol/mozg/00004ef2.htm) . Транскрипция является регулируемым процессом, который требует участия белков-активаторов или репрессоров. Белок-активатор (тканеспецифический фактор транскрипции) взаимодействует с регуляторными последовательностями ДНК и активирует синтез РНК. Такая транскрипция получила название [индуцированной, или активированной](http://medbiol.ru/medbiol/genexp/x0128617.htm) . Базальная транскрипция не может происходить in vivo, и этот термин используется только при описании результатов исследований синтеза РНК in vitro, в бесклеточных системах транскрипции.

**Дәріс 5:**

## Трансляция (от [лат.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BD%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *translatio* — перевод) — процесс [синтеза](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D0%B7) [белка](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B5%D0%BB%D0%BE%D0%BA) из [аминокислот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82%D0%B0) на матрице [информационной (матричной) РНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%A0%D0%9D%D0%9A) (иРНК, мРНК), осуществляемый[рибосомой](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0). Механизм[[править](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)&veaction=edit&vesection=1) | [править вики-текст](https://ru.wikipedia.org/w/index.php?title=%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)&action=edit&section=1)]



Общая схема трансляции.

*Инициация.*
1. Узнавание стартового кодона (AUG), сопровождается присоединением тРНК аминоацилированной метионином (М) и сборкой рибосомы из большой и малой субъединиц.
*Элонгация.*
2. Узнавание текущего кодона соответствующей ему аминоацил-тРНК (комплементарное взаимодействие кодона мРНК и антикодона тРНК увеличено).
3. Присоединение аминокислоты, принесённой тРНК, к концу растущей полипептидной цепи.
4. Продвижение рибосомы вдоль матрицы, сопровождающееся высвобождением молекулы тРНК.
5. Аминоацилирование высвободившейся молекулы тРНК соответствующей ей аминоацил-тРНК-синтетазой.
6. Присоединение следующей молекулы аминоацил-тРНК, аналогично стадии (2).
7. Движение рибосомы по молекуле мРНК до стоп-кодона (в данном случае UAG).
*Терминация.*
Узнавание рибосомой стоп-кодона сопровождается (8) отсоединением новосинтезированного белка и в некоторых случаях (9) диссоциацией рибосомы.

Синтез белка является основой жизнедеятельности [клетки](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B0). Для осуществления этого процесса в клетках всех без исключения организмов имеются специальные органеллы — [рибосомы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0). Рибосомы представляют собой [рибонуклеопротеидные комплексы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%BE%D0%BF%D1%80%D0%BE%D1%82%D0%B5%D0%B8%D0%B4%D1%8B#.D0.A0.D0.B8.D0.B1.D0.BE.D0.BD.D1.83.D0.BA.D0.BB.D0.B5.D0.BE.D0.BF.D1.80.D0.BE.D1.82.D0.B5.D0.B8.D0.B4.D1.8B), построенные из 2 субъединиц: большой и малой. Функция рибосом заключается в узнавании трёхбуквенных ([трехнуклеотидных](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%BE%D1%82%D0%B8%D0%B4%22%20%5Co%20%22%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%BE%D1%82%D0%B8%D0%B4)) [кодонов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD) мРНК,[сопоставлении им соответствующих](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%BA%D0%BE%D0%B4) [антикодонов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD) тРНК, несущих аминокислоты, и присоединении этих аминокислот к растущей белковой цепи. Двигаясь вдоль молекулы мРНК, рибосома синтезирует белок в соответствии с информацией, заложенной в молекуле мРНК.[[1]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-1)

Для узнавания аминокислот в клетке имеются специальные «адаптеры», молекулы транспортной РНК ([тРНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%A0%D0%9D%D0%9A%22%20%5Co%20%22%D0%A2%D0%A0%D0%9D%D0%9A)). Эти молекулы, имеющие форму клеверного листа, имеют участок (антикодон), комплементарный кодону мРНК, а также другой участок, к которому присоединяется аминокислота, соответствующая этому кодону. Присоединение аминокислот к тРНК осуществляется в энерго-зависимой реакции ферментами [аминоацил-тРНК-синтетазами](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB-%D1%82%D0%A0%D0%9D%D0%9A-%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D1%82%D0%B0%D0%B7%D0%B0%22%20%5Co%20%22%D0%90%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB-%D1%82%D0%A0%D0%9D%D0%9A-%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D1%82%D0%B0%D0%B7%D0%B0), а получившаяся молекула называется*аминоацил-тРНК*. Таким образом, специфичность трансляции определяется взаимодействием между кодоном мРНК и антикодоном тРНК, а также специфичностью аминоацил-тРНК-синтетаз, присоединяющих аминокислоты строго к соответствующим им тРНК (например, кодону GGU будет соответствовать тРНК, содержащая антикодон CCA, а к этой тРНК будет присоединяться только аминокислота [глицин](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%BB%D0%B8%D1%86%D0%B8%D0%BD)).

[Механизмы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%85%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B7%D0%BC) трансляции [прокариот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%82%D1%8B) и [эукариот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D1%83%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%82%D1%8B) существенно отличаются, поэтому многие вещества, подавляющие прокариотическую трансляцию, в значительно меньшей степени действуют на трансляцию высших организмов, что позволяет использовать их в медицинской практике как антибактериальные средства безопасные для организма млекопитающих.

Процесс трансляции разделяют на

* *инициацию* — узнавание рибосомой стартового [кодона](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD) и начало синтеза.
* *элонгацию* — собственно синтез белка.
* *терминацию* — узнавание терминирующего кодона (стоп-кодона) и отделение продукта.

### Рамка считывания

### [*Открытая рамка считывания*](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%82%D0%BA%D1%80%D1%8B%D1%82%D0%B0%D1%8F_%D1%80%D0%B0%D0%BC%D0%BA%D0%B0_%D1%81%D1%87%D0%B8%D1%82%D1%8B%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F)

Поскольку каждый кодон содержит три [нуклеотида](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%BE%D1%82%D0%B8%D0%B4), один и тот же генетический текст можно прочитать тремя разными способами (начиная с первого, второго и третьего нуклеотидов), то есть в трех разных рамках считывания. За некоторыми интересными исключениями, значимой является информация, закодированная только в одной рамке считывания. По этой причине крайне важным для синтеза белка рибосомой является её правильное позиционирование на стартовом AUG-кодоне — инициация трансляции.

## Инициация

Синтез белка в большинстве случаев начинается с AUG-[кодона](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD), кодирующего [метионин](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D0%BD). Этот кодон обычно называют стартовым или инициаторным. Инициация трансляции предусматривает узнавание [рибосомой](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B8%D0%B1%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0) этого кодона и привлечение инициаторной аминоацил-тРНК. Для инициации трансляции необходимо также наличие определённых нуклеотидных последовательностей в районе стартового кодона ([последовательность Шайна — Дальгарно](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C_%D0%A8%D0%B0%D0%B9%D0%BD%D0%B0_%E2%80%94_%D0%94%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%B3%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%BE) у прокариот и [последовательность Козак](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C_%D0%9A%D0%BE%D0%B7%D0%B0%D0%BA) у эукариот). Немаловажная роль в защите 5'-конца [мРНК](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%A0%D0%9D%D0%9A%22%20%5Co%20%22%D0%9C%D0%A0%D0%9D%D0%9A) принадлежит 5'-[кэпу](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D1%8D%D0%BF). Существование последовательности, отличающей стартовый AUG от внутренних совершенно необходимо, так как в противном случае инициация синтеза белка происходила бы хаотично на всех AUG-кодонах.

Процесс инициации обеспечивается специальными белками — [факторами инициации](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%8B_%D0%B8%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B8%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%B8_%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D0%B8) ([англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *initiation factors, IF*; инициаторные факторы эукариот обозначают eIF, от[англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *eukaryotes*).

Механизмы инициации трансляции у [про-](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%82%D1%8B) и [эукариот](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D1%83%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B8%D0%BE%D1%82%D1%8B) существенно отличаются: прокариотические рибосомы потенциально способны находить стартовый AUG и инициировать синтез на любых участках мРНК, в то время как эукариотические рибосомы обычно присоединяются к мРНК в области кэпа и сканируют её в поисках стартового кодона.

### У прокариот



Схема инициации трансляции у прокариот.

Начальная стадия предусматривает связывание малой рибосомной субъединицы (30S) с мРНК. Это может происходить двумя способами: либо сначала к мРНК присоединяется комплекс, содержащий рибосомную субчастицу (1), а затем к нему привлекается тРНК в комплексе с IF2 и ГТФ (2), либо 30S субъединица изначально связывается с тРНК, а уже потом садится на мРНК (3). К образовавшемуся комплексу приходит большая (50S) рибосомная субъединица (4), инициаторные факторы отсоединяются от 30S субчастицы, что сопровождается гидролизом ГТФ белком IF2 (5), и собранная рибосома начинает элонгировать цепь (6). В правом нижнем углу дана схема инициаторного участка прокариотической мРНК. Отмечены 5' и 3' концы молекулы. RBS — сайт связывания рибосомы, SD — последовательность Шайна — Дальгарно, AUG — инициаторный кодон

Малая рибосомная субъединица (30S) прокариот, если она не вовлечена в данный момент в трансляцию, существует в комплексе с инициаторными факторами IF1, IF3, и, в некоторых случаях, IF2. Рассмотрим основные функции этих белков:

* IF3, связанный с 30S-субъединицей, предотвращает ассоциацию с большой (50S) субъединицей рибосомы, тем самым сохраняя её свободное состояние до связывания с матричной РНК. Этот белок также принимает участие в связывании мРНК и тРНК, а также IF2.
* IF2 взаимодействует с тРНК, а также обладает способностью расщеплять [ГТФ](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%A2%D0%A4).
* IF1 является, по-видимому, не обязательным фактором (у некоторых видов он отсутствует) повышающим сродство малой субчастицы к IF2 и IF3.

Комплекс 30S субчастицы с инициаторными факторами способен узнавать специальные последовательности мРНК, так называемые *участки связывания рибосомы* ([англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *RBS, ribosome-binding site*). Эти участки содержат, во-первых, инициаторный AUG, и, во-вторых, специальную[последовательность Шайна — Дальгарно](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C_%D0%A8%D0%B0%D0%B9%D0%BD%D0%B0_%E2%80%94_%D0%94%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%B3%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%BE) с которой [комплементарно](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29%22%20%5Co%20%22%D0%9A%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C%20%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29) связывается рибосомная 16S РНК. Последовательность Шайна — Дальгарно служит для того, чтобы отличать инициаторный AUG от внутренних кодонов, кодирующих метионин. После того, как 30S-субъединица связалась с мРНК к ней привлекается инициаторная аминоацил-тРНК и IF2, если они ещё не были включены в комплекс. Затем присоединяется 50S-субчастица, происходит гидролиз ГТФ и диссоциация инициаторных факторов. Собранная рибосома начинает синтезировать полипептидную цепь.

У эукариот существуют два основных механизма нахождения рибосомой стартового AUG: кэп-зависимый (сканирующий) и кэп-независимый (внутренняя инициация).

* При *сканирующем механизме* рибосома (точнее, её малая субъединица) садится на 5'-конец мРНК в области кэпа и двигается вдоль молекулы мРНК, «сканируя» один кодон за другим, пока не наткнётся на инициаторный AUG. Для привлечения рибосомы к 5'-концу мРНК требуется специальная структура, *кэп* — 7-метилгуанин, прикреплённый к 5'-концевому нуклеотиду мРНК.
* При *механизме внутренней инициации*, называемом у эукариот также *IRES-зависимым механизмом*, рибосома садится на внутренний участок мРНК, называемый[IRES](https://ru.wikipedia.org/wiki/IRES) ([англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *Internal Ribosomal Entry Site*, участок внутренней посадки рибосомы) — участок мРНК, обладающий выраженной вторичной структурой, позволяющей ему направлять рибосомы на стартовый AUG. По IRES-зависимому механизму инициируется синтез лишь на небольшой части клеточных мРНК, а также на РНК некоторых [вирусов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%B8%D1%80%D1%83%D1%81%D1%8B).[[2]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-2)

В дополнение к основным механизмам инициации, при наличии перед стартовым кодоном поли(А)-лидера (например, в мРНК вирусов семейства оспы) реализуется нестандартный механизм инициации. В этом случае инициаторный комплекс не содержит факторов IF3 и eIF4F, и после сборки на 5'-нетранслируемой области осуществляет не последовательное сканирование мРНК, а т.н. АТФ-независимое "бесфазное блуждание". При этом инициация протекает значительно быстрее, чем в случае работы по классическому *сканирующему механизму*.[[3]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-3)

Также у эукариот возможна *реинициация трансляции*, когда после окончания трансляции рибосома с белковыми факторами не диссоциирует от мРНК, а перескакивает с 3' на 5' конец мРНК и начинает инициацию ещё раз. Это возможно благодаря т.н. циклизации мРНК в цитоплазме, то есть физическому сближению старт- и стоп-кодонов с помощью специальных белков.

#### Кэп-зависимый механизм

В отличие от прокариот, инициация трансляции у которых обеспечивается лишь тремя белковыми факторами, трансляция подавляющего большинства мРНК эукариот, содержащих 5'-[кэп](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D1%8D%D0%BF) [m7G(5')ppp(5')N] и 3' поли(А)-хвост, требует участия, по крайней мере, 13 общих эукариотических факторов инициации (eIF), представленных 31 полипептидом. Инициация трансляции включает события между диссоциацией рибосомы во время терминации в предыдущем цикле трансляции и сборкой рибосомы, готовой к элонгации, на [старт-кодоне](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D1%82-%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD%22%20%5Co%20%22%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D1%82-%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD) мРНК. Во время инициации аппарат трансляции решает следующие задачи:

1. диссоциация и антиассоциация рибосомных субъединиц;
2. выбор инициаторной метионил-тРНК (Met-tRNAiMet);
3. связывание 5'-кэпа, связывание поли(А), сканирование;
4. выбор правильного [старт-кодона](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D1%82-%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD%22%20%5Co%20%22%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D1%82-%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD);
5. объединение рибосомных субъединиц на [старт-кодоне](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D1%82-%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD%22%20%5Co%20%22%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%80%D1%82-%D0%BA%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D0%BD)[[4]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-Gallie-747-774-4)[[5]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-Hinnebusch-2007-225-268-5)[[Л 1]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-Kapp.2C_Lorsch.E2.80.942004.E2.80.94.E2.80.94-6)[[Л 2]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-Marintchev.2C_Wagner.E2.80.942004.E2.80.94.E2.80.94-7)[[6]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-Pestova_T.V._2007_pp.87-128-8)

##### Диссоциация и антиассоциация субъединиц рибосом

Диссоциация рибосомных субъединиц в конце терминации — активный процесс, в котором участвуют eIF, а также факторы элонгации и терминации. Антиассоциация уже диссоциированных субъединиц обеспечивается eIF и служит для предотвращения преждевременного объединения рибосомных субъединиц. Главная роль в выполнении этой задачи принадлежит eIF3, мультисубъединичному фактору, состоящему из 13 различных субъединиц (общей молекулярной массой 800 кДа) у млекопитающих, 11 субъединиц у растений и шести субъединиц у дрожжей *[Saccharomyces cerevisiae](https://ru.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae%22%20%5Co%20%22Saccharomyces%20cerevisiae)*. eIF3 связывается с 40S субъединицей рибосомы (40S) посредством своей j-субъединицы, которая, в свою очередь, взаимодействует с «каркасной» (scaffolding) b-субъединицей и предотвращает ассоциацию 40S с 60S рибосомной субъединицей (60S). Эти активности eIF3 зависят от его взаимодействия с eIF1 и тройственным комплексом eIF2/GTP/Met-tRNAiMet.[[11]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-13) Связывание eIF1 с 40S является кооперативным с eIF3, так же как и связывание eIF1 с eIF1А (гомологом бактериального IF1). Таким образом, eIF1А, вероятно, также участвует в антиассоциации, по крайней мере, непрямым образом.

##### Селекция инициаторной метионил-тРНК (Met-tRNAiMet

Этот этап включает в себя следующие процессы:

1. узнавание и метионилирование tRNAiMet специфичной метионил-тРНК-синтетазой;
2. дискриминацию против Met-tRNAiMet эукариотическими факторами элонгации;
3. дискриминацию против неметионилированной или неправильно аминоацилированной tRNAiMet eIF;
4. дискриминацию против элонгаторных тРНК eIF.

В ходе процесса (а), метионил-тРНК-синтетаза взаимодействует как с акцепторным концом тРНК, так и с антикодоном.

Процесс (б) у растений и дрожжей осуществляется с помощью посттранскрипционной модификации tRNAiMet, которая делает её отличной от элонгаторной метионин-специфичной тРНК с помощью присоединения 2'-*О*-фосфорибозила к рибозе нуклеотида А64. У позвоночных процесс (б) осуществляется путём дискриминации между специфическими особенностями нуклеотидных последовательностей tRNAiMet и элонгаторной метиониновой тРНК.

## Элонгация



Схема РНК-связывающих участков рибосомы. Буквами обозначены участки связывания тРНК. А — аминоацил-тРНК-связывающий участок, Р — пептидил-тРНК-связывающий участок, Е — участок отсоединения тРНК от рибосомы ([англ.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D0%BB%D0%B8%D0%B9%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *exit*)

В процессе наращивания полипептидной цепи принимают участие два белковых фактора элонгации. Первый (EF1a у эукариот, EF-Tu — у прокариот) переносит аминоацилированную («заряженную» аминокислотой) тРНК в А (аминоацил)-сайт рибосомы. Рибосома катализирует перенос пептида, связанного с тРНК в Р-сайте, в А-сайт и образование пептидной связи с находящимся там аминокислотным остатком. Таким образом растущий пептид удлиняется на один аминокислотный остаток. Затем второй белок (EF2 у эукариот, EF-G — у прокариот) катализирует так называемую транслокацию. Транслокация — перемещение рибосомы по мРНК на один триплет (примерно 20 [ангстрем](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D0%B3%D1%81%D1%82%D1%80%D0%B5%D0%BC)), в результате которого пептидил-тРНК оказывается вновь в Р-сайте, а «пустая» тРНК из P-сайта переходит в Е-сайт (от слова exit). тРНК из E-сайта диссоциирует спонтанно, после чего рибосома готова к новому циклу элонгации.

## Терминация

Терминация — окончание синтеза белка, осуществляется, когда в А-сайте рибосомы оказывается один из стоп- кодонов — UAG, UAA, UGA. Из-за отсутствия тРНК , соответствующих этим кодонам, пептидил-тРНК остаётся связанной с Р-сайтом рибосомы. Здесь в действие вступают специфические белки RF1 или RF2, которые катализируют отсоединение полипептидной цепи от мРНК, а также RF3, который вызывает диссоциацию мРНК из рибосомы. RF1 узнаёт в А-участке UAA или UAG; RF-2 — UAA или UGA. С UAA терминация эффективнее, чем с другими стоп-кодонами.

## Компартментализация у эукариот

В отличие от прокариот, у которых биосинтез белка происходит непосредственно во время [транскрипции](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BA%D1%80%D0%B8%D0%BF%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29) соответствующих мРНК, для эукариот характерна строгая компартментализация всех процессов, происходящих во время биосинтеза белка, в том числе и компартментализация трансляции.

Трансляция мРНК секреторных и мембранных белков (обычно они составляют 3—15 % от всех синтезируемых клеткой белков) происходит на рибосомах, связанных с гранулярной эндоплазматической сеткой. По классическим представлениям, ещё 35—45 % рибосом связаны с цитоскелетом, а оставшиеся 20—40 % рибосом находятся в несвязанном состоянии в цитозоле. Однако высказываются предположения, что свободные рибосомы являются артефактом, и в клетке они связаны с так называемой микротрабекулярной решеткой, образованной особым типом филаментов. Впрочем, по другим данным, само существование микротрабекулярной решетки ставится под сомнение,[[19]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-21) так что вопрос о существовании активных несвязанных рибосом остаётся открытым.

В настоящее время высказывается гипотеза, что трансляция у эукариот происходит не во всей цитоплазме клетки, а в отдельных областях цитоплазмы, условно называемых «трансляционными компартментами». Предположительно, в состав трансляционного компартмента входят следующие структуры:

* рибосомы с присоединенными к ней белковыми факторами, матричной и транспортными РНК;
* так называемые кодосомы — сложные белковые комплексы, в которые входят 7-9 аминоацил-тРНК синтетаз, пирофосфатаза, циклические нуклеотиды, ионы магния и липиды;[[21]](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BB%D1%8F%D1%86%D0%B8%D1%8F_%28%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F%29#cite_note-23)
* eEF1H — тяжёлая (англ. heavy), или полная, форма фактора элонгации 1. Он содержит 4 фактора элонгации (eEF1A, eEF1Bα, eEF1Bβ, eEF1Bγ).

Компартментализация трансляции обеспечивает высокую скорость биосинтеза белка и широкие возможности регуляции этого процесса.

**Дәріс 6.**

**Ауыр металдардың генгом экспрессиясыны әсері**

Ауыр металдар – тығыздығы темірдің тығыздығынан (7,874 г/см3) артық болатын түсті металдар тобы. Олар Менделеев периодтық кестесінің қырықтан астам химиялық элеменнер тобы, салыстырмалы атомдық массасы елуден жоғары. Оларға мырыш, қорғасын, қалайы, марганец, висмут, мыс, сынап, сүрме, никель, кадмийжатады. Ауыр металдардың көптеген қосылыстары, әсіресе, тұздары организм үшін зиянды. Олар тағам, су, ауа арқылы организмге түскенде ыдырамайды, кейбір органдарды (бүйрек, бауыр, буын, т.б.) жиналып, денсаулыққа қауіп төндіреді. Сондықтан ауыр металдардың қоршаған ортадағы мөлшері белгіленген шамадан аспауы керек [1].
 Ауыр металдар көптеген ферменттер құрамына кіріп биологиялық процестерге белсенді қатысады. «Ауыр металдар» тобы көбіне «микроэлементтер» түсінігімен сәйкес келеді. элементтердің экзогендік, жоғары концентрациясына «микроэлементтер» термині жарамайды. Ең алдымен өндірісте кең ауқымда және көп мөлшерде қолданылатын металдар зиянды [2]. Олар биологиялық белсенді және токсинді.
Ауыр металдардың табиғи ортаға түсуі табиғи (тау жыныстары мен минералдардың үгілуі, эрозиялық процестер,жанартау атқылауы) және техногенді (пайдалы қазбаларды өндіру, өңдеу, жанармай жағу, көлік, ауылшаруашылығының әсері) болып екіге бөлінеді. Өндіру мен өңдеу табиғи ортаның металдармен ластанудың күшті көзіне жатпайды. Бұл өндірістердегі ластанушы заттардың қалдығы жылуэнергетика қалдықтарынана әлдеқайда аз. Металлургиялық емес өндіріс, нақты айтқанда көмірдің жануы биосфераға ауыр металадардың түсуінің басты көзі. Жанармай жануынан атмосфераға тасталатын қалдықтар ерекше маңыды. Мыс: сынап, кадмий, кобальт, мышьяктың мөлшері өдірілетін металдардан 3-8 есе көп. ЖЭС-ның бір қазаношағы көмірмен жұмыс істеп, атмосфераға жылына 1-1,5 т сынап буын шығарады [3,4].

Атмосфера ауасында ауыр металдар органикалық және бейорганикалық қосылыс,шаң-тозаң және газ тәріздес түрінде болады. Осы орайда қорғасын, кадмий,мыс,мырыш аэрозольдері субмикронды диаметрі 0,5-1 мкм б-лшектерден6никель және кобальт аэрозольі ірі дисперсті бөлшектерден тұрады (1 мкм аса). Металлургия өндірісінде Ауыр металдар қалдықтарыкөбіне ерімеген күйде болады [5-9].

Ауыр металдар – қоршаған ортаға көп мөлшерде түскенде организмдерді уландыратын металдар. Бұл терминмен соңғы жылдары тек қана мынадай элементтер: қорғасын, мырыш, кадмий, сынап, никель, молибден, марганец, қалайы, кобальт, титан, мыс, ванадий аталады. Бұл элементтер қоршаған ортаға түскенде экожүйелердің өздігінен тазалану процесімен ыдырамайды. Олар топырақта жинақталып, өсімдіктерге өтіп, әрі қарай биологиялық айналымға түсіп отырады. Ауыр металдардың жартылай ыдырау мерзімі ұзақ, мыс., қорғасындыкі 740 жылдан 5900 жылға дейін, кадмийдікі - 13- 110 жыл, мырыштыкі – 70- 510 жыл, мыстікі – 310- 1500 жылдар аралығына дейін созылады. Биологиялық тізбек: топырақ - өсімдік – адам, топырақ - өсімдік – жануар – адам, топырақ – су – адам және топырақ – атмосфералық ауа – адам арқылы адам организміне өтіп, олар әртүрлі ауруларға ұшыратады [6,7,14].

Ауыр металдарға деген қызығушылық олардың улылығы мен канцерогендік әсерімен қоса мутагендік әсерінің болуында. Бұл ауыр металдардың қоршаған ортада болуына аса көңіл бөлуді түсіндіреді. Өсімдік организмдерінде ауыр металдардың – кадмий, қорғасын, никель, алюминий, мыс және мырыштың фитотоксинділігімен қоса айқын білінетін цитогенетикалық әсер де байқалды. Шетел авторлары кадмийдің оның әсерін дұшар болған 40 жұмысшыға (негізгі топ), және бақылаудың 40 адамына әсерін хромосомалық аберрация мен сестринские хроматидтік алмасуларды тіркеу арқылы және кадмийдің қан мен зәрдегі мөлшерін анықтау арқылы зерттеді. Негізгі топтағыхромосомалық аберрациялар темекі шегуге, оның қан мен зәрдегі мөлшеріне байланыссыз кездесті. Хромосомалық аберрациялар кадмийдің мутагендік әсерінің ерте көрсеткіші екені көрсетілді. Кейбір металлургиялық зауыттарда ауыр металдармен көп әсерлесетін жұмысшылардың лимфоциттерінде хромосомалық аберрациялар деңгейі жоғары екендігі көрсетілді. Кадмий тұздарымен ұзақ уақыт бойы байланыста болу ісік ауруларына, соның ішінде өкпе ісігіне әкелетіні белгілі. Мысалы, темекі шеккен кезде өкпе ісігінің пайда болуы белгілі мөлшерде кадмий тұздарының болуымен байланысты кадмийдің классикалық мутагендердің әсерін жоғарылататындығы белгілі, яғни комутагендік әсері бар. Комутагендер мутациялақ процестің түрлі кезеңд­ерінде әсер етеді. Металл иондарының комутагендік әсері тікелей мутаген туғызған ДНҚ-ның бұзылуының репарациясын тежеуімен байланысты. Комутагендік факторлардың көпшілігі клетканың репарациялық жүйе­сіне әсер ете отырып өзінің әсерін жүргізеді.

**Дәріс 7.** Выявление мутагенов.

Являясь неотъемлемым свойством всех живых организмов, мутационный процесс, в том числе и у человека, может оказывать на жизнеспособность носителей вновь возникающих мутаций влияние как едва заметное, так и катастрофическое. Опасное влияние некоторых физических факторов и химических соединений на частоту мутаций у человека, стало восприниматься в полной мере лишь по прошествии весьма продолжительного периода времени с момента открытия радиационного и химического мутагенеза. Причем для радиационного мутагенеза этот «лаг-период» продлился с момента открытия мутагенного действия рентгеновских лучей до 50-х г. XX века, когда уже нельзя было не замечать и не оценивать последствия испытаний ядерного оружия в атмосфере. Последствиям действия химических мутагенов на клетки человека также долгое время (до 60-х гт.) не уделялось должного внимания. И только после открытия химических супермутагенов эта проблема приобрела актуальность. С середины 70-х гт. XX века число работ, посвященных мутагенному действию химических веществ в среде обитания человека, стало нарастать лавинообразно. Все это привело к появлению нового направления — генетической токсикологии, исследующей мутагенные эффекты факторов окружающей среды. В повседневной жизни человек постоянно сталкивается с химическими мутагенами. Их источниками служат производственные вредности, сельскохозяйственные ядохимикаты, соединения бытовой химии, отдельные лекарства, но, прежде всего -продукты питания. Согласно опубликованному в 1990 г. заключению Международного агентства по исследованию канцерогенного риска при Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), пиша является источником сложной смеси мутагенов и канцерогенов различной природы. Это - нитрозосоединения, растительные алкалоиды, гетероциклические амины, флавоноиды, отдельные ароматические углеводороды и еще целый ряд химических соединений. Кроме того, пищевое сырье может быть загрязнено мутагенами при хранении (они могут образоваться из немугагенных предшественников). К настоящему времени накоплены сведения о генотоксических эффектах (мутагенной и/или ДНК-повреждающей активности) ртути и свинца, а также марганца, меди, мышьяка, кадмия, кобальта, олова, никеля, хрома и цинка в концентрациях, превышающих их физиологическое количество в живых тканях. Эти неорганические соединения поступают в организм человека с растительной и животной пищей. Реальную мутагенную опасность для человека могут представлять остаточные количества препаратов, используемых для стимуляции роста и при лечении сельскохозяйственных животных и птицы. Образование мутагенов (полициклических ароматических углеводородов, нитрозаминов, гетероциклических аминов) неизбежно происходит в результате кулинарной обработки говядины, свинины, рыбы и птицы при температуре, превышающей 150 °С. Результаты, свидетельствующие о таких последствиях термической обработки пищевого сырья, были получены не только в модельных экспериментах, но и при непосредственном тестировании готовых блюд. В частности, положительный результат теста на мутагенность (как на микробиологических объектах, так и у животных) был получен для разных образцов так называемой «быстрой» пищи, которую готовят обычно при температуре 230 °С. Ряд исследователей считает преувеличенными существующие представления о потенциальной опасности пищевых мутагенов, прежде всего, гетероциклических ароматических аминов, потребление которых на 5-6 порядков ниже доз, оказывающих повреждающее воздействие в экспериментальных тест-системах. Однако безоговорочно поддержать их здоровый скепсис мешают, в частности, корреляции, установленные между частотой употребления в пишу жареного мяса.уровнем гетероциклических ароматических аминов, выделяющихся с мочой, и вероятностью возникновения рака поджелудочной железы/ободочной кишки, а также другие, подобные указанным, факты. Генотоксическое воздействие производственных загрязнителей на организм человека было продемонстрировано результатами множества независимых исследований, обобщенных в 1992 г. Н.П. Бочковым и ЛЛ. Катосовой. Значительное количество промышленных производств являются источниками мутагенов, активно воздействующих на людей, непосредственно в них занятых. Это — переработка каменного угля и нефтепродуктов, добыча и газификация бурого угля, используемая во многих отраслях электросварка, производство резины, древесно-стружечных плит, стирола, винилхлорида, цитостатиков, биостимуляторов, а также поставленное на промышленную основу производство свинины и кормов для крупного рогатого скота. Кроме того, перечисленные отрасли могут быть потенциальными источниками генотоксических веществ, влияющих не только на персонал, непосредственно занятый в производстве, но и на не причастных к нему людей. Так, например, установлен повышенный уровень хромосомных перестроек у жителей окрестностей металлургических предприятий и алюминиевых производств. В течение последних 25 лет проводится обязательная проверка на генотоксичность лекарственных препаратов с целью выявления среди них соединений, повреждающих структуру ДНК. Результаты этих исследований, были обобщены в монографии А.Д.Дурнева и С. Б, Середенина, опубликованной в 1998 г. Таким образом, существует множество соединений, с которыми неизбежно приходится контактировать человеку, и которые потенциально опасны для его здоровья и наследственности. Однако заключение о реальной мутагенной активности каждого из них и, как следствие, предупреждение нежелательного контакта может быть сделано только на основании результатов специальных комплексных исследований.

**Дәріс 8.** Антимутагендердің гендер регуляциясына әсері.

 Еще в 50-х гг. XX века А. Новик и Л. Сцилард показали, что пуриновые рибонуклеозиды вызывают снижение уровня спонтанного и индуцированного мутационного процесса у Е. coli. Так был открыт новый класс соединений - антимутагены. Классификация их представляет не менее сложную задачу, чем классификация мутаций. Тем не менее, С. Де Флора и С. Рэмел, разделили их на две основные группы в зависимости от места действия: внеклеточные (дисмутагены) и внутриклеточные. Еще одна классификация атимутагенов базировалась на предполагаемых механизмах их действия. Так, группа внеклеточных антимугагенов состоит из трех подгрупп: 1) ингибиторы поглощения мутагенов и их предшественников (препятствуют проникновению в организм или ускоряют выведение из организма мутагенов), например, жирные кислоты, ароматические аминокислоты и др.; 2) ингибиторы эндогенного формирования мутагенов (предотвращают/тормозят реакции нитрозирования или изменяют внутрикишечную флору), например, токоферолы, фенолы, аскорбиновая кислота, ферментированные молочные продукты; 3) дезактиваторы мутагенов (в результате физических и/или химических реакций), например, вещества, поддерживающие определенный уровень рН в жидкостях тела, а также тиолы, антиоксиданты. Внутриклеточные ингибиторы мутагенеза также представлены тремя подгруппами: 1) модуляторы метаболизма (ускоряют переход мутагенов в клетки, не являющиеся мишенями, индуцируют механизмы детоксикации), например, тиолы и фенолы; 2) инактиваторы реакционно-способных молекул (взаимодействуют с электрофилами, улавливают кислородные радикалы, защищают нуклеофильные участки ДНК); 3) модуляторы репликации и репарации ДНК (увеличивают точность репликации, повышают эффективность репарации, ингибируют ошибки репарации), например, хлорид кобальта, арсенит натрия, кумарин, ванилин, тиолы, ингибиторы протеаз. Строгость данной классификации нарушается тем, что одно и то же соединение может быть отнесено к нескольким подгруппам антимутагенов. Что касается антимугагенных свойств пищевых компонентов, то в 1992 г. Б. Ставрик выделил из разных типов пищевых продуктов более 25 видов содержащихся в них, так называемых, хкмиопревентеров, среди которых - витамины, селен, кальций, флавоноиды, каротиноиды, кумарины, хлорофилл, растительные кислоты, пищевые волокна, жирные кислоты. К антимутагенам растительного происхождения принято относить капусту, зеленый перец, яблоки, лук, листья мяты, семена растений. Многие из перечисленных соединений в экспериментах снижают повреждающее действие средовых мутагенов. Следует отметить специфичность действия антимутагенов, проявляющуюся, прежде всего, в высокой избирательности, что особенно характерно для пищевых антимутагенов вообще и витаминов, в частности. Антимутагены ингибируют эффекты одних мутагенов, а в отношении других их действие может быть прямо противоположным (так называемое комутагенное действие) или отсутствовать вовсе. Достоверно установлено, что бесспорный компонент полноценного питания - витамин С — проявляет и антимутагенные, и мутагенные, и комутагенные свойства. Комутагенное действие (усиление повреждающего влияния генотоксических соединений) способны оказывать in vitro и другие витамины, втом числе В2 и Е. Результат зависит от дозы антимутагена, применяемой тест-системы и метода учета наблюдаемого эффекта. И, наконец, вследствие высоко специфичного действия антимутагенов по отношению к органам-мишеням, не исключена возможность защиты генетических структур в клетках одних тканей с одновременным потенцированием мутагенного эффекта в других, чему есть косвенные подтверждения. Вопрос создания фармакологических корректоров мутагенеза остается открытым как вследствие множественности мутагенных загрязнений одного и того же объекта, так и по причине смешанных механизмов генотоксического действия химиопревентеров.

**Дәріс 9. Мутагендердің гендер экспрессиясына бірлескен ісері.**

В генетике основополагающее биологическое понятие гомеостаза верифицируется как приспособительное свойство организма динамически изменять реакцию генотипа на повторные нарушения условий среды при том, что функции организма существенно не меняются. Поскольку все жизнеобеспечивающие системы организма (иммунная, гормональная, нервная и др.) взаимосвязаны, нарушение гомеостатического равновесия, индуцированное факторами окружающей среды, может быть причиной модификации мутагенных эффектов, что более вероятно при комплексном воздействии генотоксикантов. Например, в соответствии с теорией физиологического мутагенеза, разработанной М.Е.Лобашевым (1947), в экспериментах на млекопитающих была однозначно доказана мутагенность психоэмоционального стресса. Принимая во внимание колоссальные стрессорные нагрузки нашего времени, крайне важно учитывать возможное модифицирующее влияние этого фактора на другие мутационные воздействия. В серии исследований по изучению комбинированных воздействий эмоционального стресса и химических факторов выявлен мутагенный эффект, отличный от аддитивного. Четкие представления о механизме совместного действия ионизирующей радиации и химических соединений отсутствуют, что не дает возможности предсказывать результаты их комбинированного воздействия. Н.П.Бочков и А.Н.Чеботарев при анализе данных о цитогенетических эффектах комбинированного действия химических веществ и облучения на организм человека отметили увеличение общего количества хромосомных аберраций, причем в основном за счет аберраций хромосомного типа. По-видимому, в ближайшее время следует ожидать расширения работ по изучению совместного действия радиации (в первую очередь радионуклидов) и химических загрязнителей среды, что связано с повышенным интересом к этой проблеме после аварии на Чернобыльской АЭС и ряде других. Из сказанного выше следует, что взаимодействие мутагенных факторов окружающей среды отличается многоуровневыми (среда, организм, ткань, клетка) и разнонаправленными характеристиками. Поскольку экспериментальная проработка всех возможных вариантов оценки потенциальной мутагенности сложных смесей и комбинированных мутагенных воздействий не представляется реальной, необходимо оценивать суммарную мутагенность в среде обитания человека. В настоящее время прослеживаются два подхода к решению комплексной проблемы организации и проведения генетического мониторинга загрязнений окружающей среды и генетического здоровья населения: - анализ суммарной мутагенности образцов различных компонентов среды (атмосферного воздуха и воздуха рабочей зоны на предприятиях, питьевой воды и воды водоисточников, почвы и пищевых продуктов, лекарственных средств и пр.) на лабораторных тест-объектах в классических генетических экспериментах; - эпидемиологический подход — проведение натурных исследований на растительных и животных объектах в условиях производства и в экологически опасных регионах, а также оценка генетических повреждений у человека. Остановимся подробнее на основных задачах и сложностях каждого из этих подходов. Отбор и подготовка проб для введения их в генетический эксперимент — один из наиболее важных вопросов при оценке суммарной мутагенности загрязнений различных объектов окружающей среды. Как правило, в связи с низкими (для выявления мутагенов на генетических тест-объектах) концентрациями генотоксикантов прибегают к концентрированию проб воздуха, воды и пр., осуществляемому с помощью экстракции компонентов пробы органическими растворителями и(или) водой. Изучены свойства многих растворителей, пригодных для этих целей, но большинство исследователей пользуются ацетоном, бензолом, диметилсульфоксидом. При сравнении получаемых мутагенных эффектов проб воздуха, отобранных на специальные фильтры различных составов, значительных различий не выявлено. Неоднозначна проблема фракционирования проб (суммарные экстракты). Так, разделение сложных смесей на фракции не позволяет определить возможные антагонистические и синергидные процессы, которые могут происходить в нативных смесях. Например, в тесте Эймса был оценен эффект смешения некоторых полициклических ароматических углеводородов и показано, что мутагенность бенз(а)пирена возрастала при добавлении не мутагенного антрацена. С другой стороны, антрацен снижал мутагенность 7,12-диметилбенз(а)ант-рацена и бенз(а)антрацена. При фракционировании проб нельзя точно предсказать суммарную мутагенность и требуется осторожно интерпретировать такие данные. Интересны результаты международного межлабораторного исследования в зависимости от способов экстракции при изучении мутагенности сложных смесей воздушных загрязнений (выбросы дизельного топлива, угольного дегтя, бенз(а)пирена и 1-нитропирена). Авторы определяли повторяемость (внутрилабораторная вариабельность) и воспроизводимость (межлабораторная вариабельность) оценки мутагенности в тесте Эймса. Оба показателя варьировали очень широко. По общему мнению, именно межлабораторные различия в процедуре экстракции стали главной причиной несовпадения результатов (57 % всей вариабельности). Разработка стандартного протокола экстракции проб воздушных загрязнений крайне необходима для получения сравнимых результатов.

**Дәріс 10. Мутагендердің экспрессияға эсерін тестілеу заманауи әдістері .**

Для тестирования всех веществ, с которыми на протяжении жизни человек может контактировать, потребовался бы непомерно большой объем работы, поэтому была признана необходимость первоочередной проверки на мутагенность лекарств, пищевых добавок, пестицидов, гербицидов, инсектицидов, косметических средств, наиболее широко распространенных загрязнителей воды и воздуха, а также производственных вредностей. Второй методологический принцип заключается в выборочности тестирования. Это означает, что вещество анализируется на мутагенность при наличии двух обязательных условий: распространенности в среде обитания человека и наличии структурного сходства с известными мутагенами или канцерогенами. Отсутствие универсального теста, позволяющего одномоментно регистрировать индукцию изучаемым веществом (и его возможными метаболитами) различных категорий мутаций в половых и соматических клетках, служит основанием третьего принципа - комплексного использования специализированных тест-систем. Наконец, четвертый методологический принцип подразумевает ступенчатость тестирования веществ на мутагенную активность. Этот принцип берет начало от одной из первых и наиболее известных схем, предложенной в 1973 г. Б, Бриджесом и предусматривавшей три последовательных этапа исследования. 1. На первом этапе мутагенные свойства вещества изучали простыми и быстро выполнимыми методами (с использованием микроорганизмов и дрозофилы в качестве тест-объектов) для определения его способности индуцировать генные мутации. Выявление такой способности предполагало запрет на применение данного вещества. 2. В случае особой медицинской или экономической значимости мутагена его тестировали на млекопитающих in vivo. Аналогичное исследование проводилось также для веществ, не продемонстрировавших мутагенных свойств в тестах первого этапа. Если исследуемый агент не проявлял мутагенных свойств, постулировалась безопасность применения его человеком. Вещества, проявившие мутагенность, либо запрещали для использования, либо, если они относились к категории особо значимых, или незаменимых, исследовали дополнительно. 3. На заключительном этапе проводили тестирование для установления количественных закономерностей мутагенного действия таких специфических веществ и оценку риска применения их человеком. Данная схема послужила прототипом целого ряда методик комплексного тестирования на мутагенность. Принципиально новым шагом на пути развития этого направления следует считать программу, предложенную в 1996 г. Дж. Эшби с соавторами, Исключительно важной особенностью этой программы является ее направленность не только на оценку мутагенности тестируемого вещества, но и на прогноз канцерогенности данного химического соединения и возможного механизма канцерогенеза. Современная система доказательств взаимосвязи между процессами мутагенеза и канцерогенеза включает целый ряд экспериментальных подтверждений обсуждаемой проблемы. Среди них: 1) наличие хорошо изученных наследственных заболеваний, при которых одновременно с повышенной чувствительностью к действию мутагенов наблюдается многократное превышение средней частоты возникновения злокачественных новообразований; 2) четко установленная сопряженность мутагенного и канцерогенного действия противоопухолевых цитостатиков, индуцирующих мутации в соматических клетках и за счет этого оказывающих терапевтическое воздействие, но способных вызывать у леченных онкологических больных развитие вторичных опухолей; 3) накопленные сведения о возможной активации протоонкогенов за счет индукции генных и хромосомных мутаций; 4) описание случаев спорадических моногенных доминантных мутаций, обусловливающих развитие опухолей различных органов. В программе Дж. Эшби постулируется, что вещество не является канцерогеном, если оно не проявляет мутагенного и генотоксического действия in vivo. Те же вещества, которым названные эффекты свойственны, являются потенциальными генотоксическими канцерогенами.

**Дәріс 11. Гендер экспрессиясын зертеудегі заманауи эдістер.**

Публиковавшиеся в периодических научных изданиях результаты тестирования на мутагенность свидетельствовали об отсутствии единого стандарта в этой процедуре. В экспериментах in vitro различия чаше всего касались условий метаболической активации, in vivo — уровня доз, путей введения, сроков экспозиции и некоторых других экспериментальных параметров. Значительным итогом многолетнего обобщения результатов разработки и стандартизации испытаний на генотоксичность явилось выпушенное в 1989 г. ВОЗ «Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ», а также материалы 2-го Международного рабочего совещания в Мельбурне 1994 года. Фармакологический комитет МЗ и МП Российской федерации в 1994 г. опубликовал нормативный документ — методические рекомендации «Опенка мутагенности новых лекарственных средств». В рамках курируемой ВОЗ Международной программы по химической безопасности (International Programme on Chemical Safety, IPCS) были разработаны методические рекомендации для мониторинга генотоксических влияний на организм человека мутагенов и канцерогенов. В последней версии рекомендаций от 2000 г. предлагается следующий набор тестов: 1) цитогенетические методы — классический анализ хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови, флуоресцентная гибридизация in situ (FISH), определение микроядер (МЯ) влимфоцитах и эпителиальных клетках; 2) анализ повреждений ДНК - определение аддуктов, одно- и двухцепочечных разрывов, перекрестных сшивок, шелочелабильных сайтов с помощью биохимических и электрофоретических (кометный тест) методик, определение сестринских хроматидных обменов (СХО); 3) учет образования аддуктов мутагена с белками и мутаций в локусе гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы (ГГФРТ). Один из рекомендованных тестов — кометный (гель-электрофорез отдельной клетки) позволяет определить одно- и двущепочечные разрывы, щелочелабильные сайты, перекрестные сшивки молекул ДНК, а также участки с неполной эксцизионной репарацией в индивидуальной клетке. Материалом для кометного теста могут служить лейкоциты и лимфоциты периферической крови, сперматозоиды, буккальные клетки, клетки желудочного и назального эпителия, суспензию которых заключают в агарозный слой на предметном стекле. Затем клетки лизируют детергентами или растворами солей, и высвобожденную ДНК подвергают электрофорезу в нейтральных или щелочных условиях. ДНК отдельной клетки в процессе миграции к аноду образует так называемую «комету» с характерными «головой» и «хвостом», которую визуализируют с помощью флуоресцентной или световой микроскопии после окрашивания соответствующими красителями. При повреждении ДНК процесс ее миграции к аноду нарушен. Подсчитывают длину кометы, длину хвоста и момент хвоста (отношение длины хвоста к длине всей кометы). Нейтральный вариант кометного теста позволяет определить двухцепочечные разрывы ДНК, щелочной вариант (в зависимости от значения рН) - одно- и двухцепочечные разрывы, шелочелабильные сайты, участки с неполной эксцизионной репарацией, перекрестные сшивки ДНК-ДНК и ДНК-белок. Чрезвычайно важно, что с помощью этого метода удается выявить фракцию клеток с поврежденной ДНК внутри большой популяции непораженных клеток. Разные модификации метода (применение специфических антител против поврежденных участков или специфических ферментов репарации ДНК) позволяют определить специфические классы аддуктов ДНК (например, тимидиновые димеры, участки окислительного повреждения). Согласно другому документу IPCS (2001 Г.) «Биомаркеры при оценке риска. Валидность и верификация», после окончательной расшифровки генома человека наибольшую роль при определении генотоксических воздействий будут играть методики выявления полиморфизма одиночных нуклеотидов и технологии создания микроматриц и микрочипов ДНК и белков. Тем не менее, пока в большинстве случаев оценка генетического риска основана на экстраполяции экспериментальных данных от одного тест-объекта на другой, от высоких доз на низкие и т.д., и, в конечном итоге, от модельных систем in vitro/in vivo — на человека. Практически все исследователи считают проблему количественной экстраполяции чрезвычайно затрудненной, если вообще возможной. Причиной тому являются видовые, возрастные и индивидуальные особенности метаболизма, а также детоксицирующих и сепарирующих систем и многих других параметров. Метаболические особенности человека могут существенно повышать или понижать мутагенный эффект химических соединений. Следовательно, для правильной экстраполяции необходимо знать метаболизм конкретного мутагена и у животных, и у человека. Кроме того, количественные закономерности мутационного процесса неодинаковы у разных животных, в том числе, и при сравнении их с человеком. В зависимости от состава сравниваемых пар индуцированный мутагенез у человека может быть выражен сильнее или слабее. Например, показано, что человек более устойчив к мутагенному действию радиации, чем мышь. Не исключено, что таково же соотношение и в случае действия химических мутагенов. Существование количественных различий в результатах индуцированного радиационного мутагенеза связано с видовыми особенностями функционирования репарационных систем, которые способны восстанавливать первичные повреждении, имеющие потенциальный характер и не обязательно реализующиеся в мутации. Немаловажно и то, что диапазон тех доз, которые используют в эксперименте, как правило, на 2 порядка и более отличается от тех, с которыми реально сталкивается человек. И это только малая часть трудностей, описанию которых можно было бы посвятить отдельную главу. Тем не менее, в 1980 г. Ф. Собелсом сформулировал принцип экстраполяции, получивший название «правило параллелограмма». Его используют в тех случаях, когда необходимые данные невозможно получить путем прямых измерений. Например, в экспериментах на мышах можно сравнить частоту мутаций в соматических (А) и зародышевых (А') клетках. Установив частоту индуцированных мутаций в соматических клетках человека (В) и предположив, что отношение частот мутаций в зародышевых клетках к частотам в соматических одинаковое у мыши и человека (А/А' = В/В'), можно составить представление о возможной частоте мутаций в зародышевых клетках человека (В'), Правило параллелограмма допустимо применять строго при условии линейной зависимости эффекта от дозы. Несмотря на такое ограничение, правило параллелограмма может оказывать реальную помощь для оценки генетического риска влияния мутагенов. Это было подтверждено, в частности, на примере четырех мутагенов: акриламида, этиленоксида, циклофосфана и 1,3-бутадиена. Н.П, Бочков и А.Н. Чеботареве 1989 г., предложили схему, отражающую принцип прогнозирования мутагенного эффекта в зародышевых клетках по имеющимся данным одействии тестируемого соединения надругие объекты и закономерностям сопоставления эффектов в различных системах. Те же авторы в качестве одного из основных условий, повышающих точность экстраполяции, выдвигают максимально возможное сокращение числа ее ступеней и подчеркивают важность расширения знаний о мутационном процессе для объективного выбора моделей и выяснения границ экстраполяционных возможностей.

**Дәріс 12**

 **Гендер экспрессиясын тез мерзімде анықтауға мүмкіндік беретін тест жуйелер** Для оценки мутагенных свойств химических соединений (ХС) предложено около 200 различных тест-систем, многие из которых хорошо разработаны и  нашли широкое применение. Однако до настоящего времени нет универсальной тест-системы, которая могла бы выявить все основные типы генетических повреждений. Это обстоятельство ведет к необходимости использования в работе по выявлению и оценке мутагенности исследуемых ХС целого набора методов. При этом в качестве тест-объектов служат самые различные виды организмов от микроорганизмов до трансгенных животных и клеток человека  в условиях in vitro   и in vivo.Большинство широко используемых в настоящее время тест-систем  разработаны были  еще в 70-х годах и, соответственно, подробно описаны в различных методических руководствах и обзорах (1,2,4).

     Основные тестирования на мутагенность большого числа ХС, которые в той или иной форме введены в окружающую среду или будут введены в результате возрастающего  химического синтеза, были сформулированы  тоже еше в начале 70-х годов Бриджесом (7) и Фламмом (14).Эти принципы основаны на идее поэтапного тестирования, когда  каждый  из этапов является просеивающим по отношению к  последующему этапу, то есть тестирование ХС на следующем этапе проводится только в случае, если оно  проявило мутагенную активность на  предыдущем этапе. Такое тестирование предполагает  создание набора или батареи тестов, в котором первый этап состоит из простых и высокочувствительных методов, а последующие этапы  состоят из методов  по возрастающей сложности проведения и филогенетической близости к человеку. Следует отметить, что  батарея тестов должна содержат максимально информативный набор методов, позволяющих регистрировать различные типы генетических изменений,  в то же время достаточно экономичных, чтобы обеспечить реальность выполнения программы испытаний. С другой стороны, набор методов, схема испытаний, анализ и оценка результатов должны быть одобрены и утверждены государственными органами, чтобы  все  системы оценки в рамках поставленной задачи имели официальный характер и обеспечивали унификацию проверки на мутагенность во всех лабораториях.

      Анализ  принятых в различных странах, включая США и страны Европы, схем тестирования как для отдельных программ (например, для оценки генетической безопасности фармакологических средств или пестицидов), так и для оценки мутагенного и канцерогенного потенциала ХС - загрязнителей окружающей среды, показывают, что на первом этапе обычно используется бактериальный тест Эймса салмонелла/микросомы, а на втором - тест на микроядра или хромосомные аберрации в клетках костного мозга мышей (5,8). Причем как первый этап, так и второй этап может быть дополнен методами учета точковых мутаций в клеточных культурах (обычно используют клеточные линии  V79, СНО,  L5178 ТК +/- ).   Третий этап состоит  исключительно из тестов учета мутаций в половых клетках, причем основным тестом является метод учета доминантных летальных мутаций у мышей. Таким образом, основной костяк любой батареи тестов  составляют методы учета мутационных событий. Однако  в ряде случаев используются и такие косвенные методы, как тесты на СХО, на репаративный синтез  и разрывы ДНК, а также  на аддукты ХС с ДНК как  в соматических, так и  в половых клетках (тесты на генотоксичность).

       Принятые в различных странах схемы тестирования, и, соответственно, набор методов,   последовательность тестирования и правила принятия решения о прекращении или продолжении испытаний, несколько различаются. Эти различия сложились исторически в 70-80 – годах прошлого  двадцатого века, в период бурного развития работ  по апробации  и валидизации  тест-систем и их батерей. В настоящее время  эти различия являются препятствием на пути к унификации схем тестирования в период необходимости формирования общих требований к химической безопасности, в том числе и к генетической безопасности.

      Создание в начале 70-х годов тест-систем, способных учитывать метаболическую  трансформацию ХС    in vitro (например, тест  Эймса Salmonella/микросомы), показало, что многие канцерогены являются также и мутагенами (18 ). Это привело к тому, что тестирование  ХС на генетическую активность стали проводить  в двух целях. Во-первых, для регистрации собственно мутагенов, то есть ХС, потенциально способных  индуцировать мутации в половых клетках человека, и, во-вторых, для выявления потенциальных канцерогенов, то есть ХС, способных индуцировать мутации в соматических клетках человека. Теоретическое обоснование использования тестов на генотоксичность  для выявления потенциальных канцерогенов связано с представлением  о том, что в основе развития большинства опухолей, индуцированных  канцерогенами (по крайней мере, на стадии инициации), лежит  генотоксический эффект. Сами же тест-системы, используемые  для предсказания канцерогенной активности, получили статус "краткосрочных" тест-систем (КСТ),   под которым  следует понимать ускоренные методы (по отношению к стандартным методам определения канцерогенной активности на животных), позволяющие предсказывать канцерогенный риск для человека тех или иных ХС и основанных на определении биологической активности, прямо или косвенно связанной с канцерогенным потенциалом этих соединений (  2 ). Разработка КСТ  для предсказания канцерогенной  активности  основывается  на представлениях о механизмах действия канцерогенов, то есть, если конечным критерием тестирования на канцерогенность в опытах на животных является опухоль, то в КСТ- это те генетические или иные эффекты, которые ведут к ее возникновению.

        Таким образом, тесты на генотоксичность и их батарей могут быть использованы для определения как мутагенного,  так и канцерогенного потенциала ХС. Все зависит от схемы тестирования. Если для предсказания канцерогенного потенциала достаточно одного или двух этапов тестирования (на  1-м этапе  тестирование проводится в тесте  Эймса  и/или  на клеточных культурах, на 2-м этапе для тестирования используются животные и  регистрируется индукция  микроядер или хромосомных  аберраций в клетках костного мозга мышей), то для предсказания мутагенного потенциала для  половых клеток человека необходима оценка мутагенной активности в половых клетках   животных.

       Следует подчеркнуть, что  широко используемые КСТ и подходы  к оценке мутагенного и канцерогенного потенциала, основаны на достижениях науки  70-х годов. Однако хорошая проработанность протокола проведения тестирования и валидизированность  самих  КСТ, а также наличие   достаточно солидной базы данных по результатам исследования генотоксичности с помощью этих тестов тысячи ХС делает их  вполне применимыми и сегодня.

      Благодаря достижениям  в технологии рекомбинантной ДНК в течение последних  2-х десятилетий произошли существенные изменения в области молекулярного генетического  анализа  и  цитогенетики. Новые методические приемы позволили вводить чужеродные гены в клетки млекопитающих и конструировать сигнальные системы для мутационного анализа.  Так, методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования ДНК  по сути дела сделали революцию в этой области и в настоящее время широко используются для определения типа мутаций в сайтах или кодонах их локализации. Одновременно были достигнуты существенные успехи в изучении механизмов развития опухолей. Если  в течение многих десятилетий развитие опухолей рассматривали как следствие изменений стадий прогрессии и развития опухолей, то в настоящее время больше внимания привлекает точка зрения о том, что рак является следствием ошибки в нормальном жизненном цикле клетки  ( 9  ). Так, изменения в контроле роста клеток может быть результатом функциональных изменений в белках, влияющих на «контрольные точки» или  альтернативные пути клеточного деления. Эти функциональные изменения являются часто следствием мутации  в критических сайтах генов, которые изначально  были идентифицированы как онкогены или антионкогены, то есть опухоль-супрессорные гены (16). Генетические изменения именно в  критических сайтах таких генов, по-видимому, имеют непосредственное  отношение к развитию опухолей, тогда как генетические изменения в других частях генома не имеет или имеет мало последствий. Например, мутации в критических сайтах  опухоль-супрессорного гена р53 предрасполагают к развитию широкого спектра опухолей у человека и, особенно, лимфолейкозов и опухолей молочной железы (16,21). Многочисленные исследования функции онкогенов и антионкогенов показало, что они, как правило, кодируют белки, участвующие в сложной системе  позитивной и негативной регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки.

   Технология рекомбинантной ДНК позволяет конструировать клетки и организмы, содержащие чужеродные гены и  создавать   новые тест-системы для обнаружения мутагенного  или канцерогенного  потенциала ХС. Созданы рекомбинантные клеточные системы, в которых  репортерный ген находится под контролем промоторов, которые активируются под действием генотоксичных ХС. Экспрессию репортерного гена отслеживают биохимическими методами.  Наиболее  ярким примером является  бактериальный  SOS-хромотест, разработанный в 70- и 80-е годы, в котором  экспрессия  галактозидазного гена свидетельствует об активации генов    SOS-ответа (22).

     Ряд трансгенных мышиных моделей  были  созданы  позже на таком же принципе. Трансгенные мыши  Big Blue  и  Mutamouse  содержат в своем  геноме множественные тандемные дупликации  бактериального  lac-гена (19). Наиболее распространенная модель Big Blue  имеет в своем геноме шаттл вектор фага    (  LIZ), который в качестве мишеня содержит ген lacI,  а в качестве репертора - ген lacZ. После обработки мышей изучаемым агентом, выделяется геномная ДНК из  клеток интересующих  исследователей тканей и затем, используя  упаковочный экстракт фага,  из этой ДНК выделяют  вектор LIZ.  Инфекция клеток E.coli SCS-8  этим фагом позволяет обнаруживать фаги, несущие мутантный ген lacI. Если нормальная функция гена –репрессора  lacI  нарушена, то экспрессируется  ген lacZ, продукт которого,  -галактозидаза, легко обнаруживается по голубому цвету фаговых бляшек в присутствии хромогенного субстрата Х-gal. Подсчет отношения мутантных голубых бляшек к бесцветным немутантным бляшкам позволяет определить частоту мутации  в интересующей ткани (25). В настоящее время с помощью этой модели исследована  мутагенная активность  в различных органах мышей ряда  известных канцерогенов, как афлатоксин В1, 7,12-диметилбензантрацен  и другие (11,15,27). Ценность  данной модели заключается в возможности оценивать мутагенную активность ХС в органах-мишенях и сравнивать ее  с активностью в других органах и тканях. Например, показано, что  уровень мутагенной активности афлатоксина В1    в различных органах мышей  коррелирует с  данными исследования органной специфичности   его канцерогенного действия (11 ).

     Созданы трансгенные модели и для  тестирования канцерогенной

и опухоль-промотирующей активности ХС. Гетерозиготные по мутациям в опухоль- супрессорном гене р53 мыши имеют нормальный уровень спонтанных опухолей, однако отличаются  более укороченным латентным периодом развития опухолей. Такие животные успешно используются для тестирования  генотоксичных канцерогенов (10 ). Мыши TG.AC несут  в своем геноме v-HA-ras

онкоген слитый с промотором фетального глобинового гена (17). Трансген v-Ha-ras  активирован и содержит мутации в кодонах 12 и 59. Показано, что  этот онкоген не экспрессируется конститутивно в кожной ткани мышей  TG.AC  и  поэтому кожа необработанных мышей не отличается от кожи исходной линии мышей  FVB/N. Однако у гетерозиготных или гомозиготных мышей TG.AC , получавших повторяющиеся дозы 12-о-тетрадеканоилфорбол-13-ацетат, или другие описанные в литературе промоторы опухолей  быстро  в течение 4-5 недель,  образуются плоскоклеточные папилломы, переходящие в злокачественные  опухоли (17). Эти  данные позволили сделать заключение о том, что  мыши TG.AC несут  в своем геноме активированный  онкоген, который  «преиницирует» мышей, то есть заменяет этап инициации (мутагенеза) канцерогенеза и тем самым  повышает эффект  действия промоторов.

      Число трансгенных моделей растет с каждым годом. И это является  результатом  не только развития новых методических приемов, но и  результатом расширения наших знаний о механизмах  развития опухолей и путей их  генетического контроля.

     В настоящее время  разработан ряд цитогенетических методов, основанных также на  новых технологиях  молекулярной биологии. Известно, что  гибридизацию ДНК можно проводить не только на геле, на фильтрах или в растворе, но и на гистологических или  хромосомных  препаратах  (гибридизация in situ). Метод, при котором в качестве зондов для гибридизации используют меченые флуорохромом препараты ДНК, получил название FISH-метод (fluorescein in situ hybridization). Анализируемые с помощью этого метода генетические мишени определяются составом зондов или последовательностей, представляющих собой  уникальные фрагменты ДНК. При наличии зондов метод позволяет  исследовать распределение по геному повторяющихя последовательностей, клонированных фрагментов ДНК, внутрихромосомную локализацию уникальных генов, а также обнаруживать  крупные хромосомные изменения, включая делеции, дупликации и транслокации (26).  FISH-метод чаще всего используется для обнаружения анеуплодии в соматических или половых клетках человека и грызунов (28 ).Для этого используются ДНК-зонды к хромосомам, анеуплоидия по которым приводит к тяжелым последствиям у человека ( например, по хромосомам  21 , Х и У). Разработан  вариант метода, позволяющий оценивать наличие  анеуплоидии одновременно по трем хромосомам (  26). Важным аспектом использования FISH-метода является возможность сравнения генетических эффектов исследуемых ХС  одновременно в соматических и половых клетках.

       Метод анализа единичных клеток (Comet assay) позволяет идентифицировать генетические повреждения и нитевые разрывы ДНК в небольшом числе клеток из любого источника (человек или грызуны). Суть метода заключается в том, что образцы клеток лизируют в щелочных условиях и подвергают электрофорезу. Клетки, содержащие  разрывы ДНК проявляются в виде "кометы"  с хвостом из фрагментов ДНК, отходящих от основного ядра (12). Технология метода Comet assay, в отличие от метода  щелочной элюции  ДНК ( 1  ), достаточно проста и может быть использована для  широкого круга ситуаций, когда необходимо определить наличие разрывов  и щелочелабильных  сайтов в ДНК клеток  из различных тканей  человека и животных. При этом анализируется только небольшое число клеток, что делает метод очень удобным при его использовании для тестирования  ХС на  генотоксичность  в клетках  млекопитающих.

       Современные методы анализа  ДНК-аддуктов  отличаются высокой чувствительностью и позволяют обнаруживать аддукты ДНК с генотоксикантом в пределах доз, которым подвергается человек (23). Метод особенно полезен когда природа аддукта известна и связь между аддуктом и конечным биологическим эффектом установлена.  Он успешно был использован для определения воздействия   на человека сигаретного дыма, профессиональных факторов, микотоксинов и химиотерапевтических агентов (20,24). Анализ аддуктов ДНК может быть одним из методов прямого сравнения экспериментальных данных на животных и данных на человеке  и представляет собой значительную ценность в разрешении вопросов дозовой  экстраполяции и оценки риска для человека.

     Для мутационного анализа в эндогенных генах человека наиболее   подходящим  является ген  hprt. Метод селекции   мутантных клеток  по этому гену хорошо разработан (6 ). Например, можно проводить  анализ этих мутаций в лимфоцитах человека, то есть в клетках легко доступной ткани человека, накапливающей мутации в течение многих лет.  Суицидная селективная система позволяет выживать клеткам с мутантным или неактивным геном  hprt, тогда как нормальные клетки в этих условиях погибают. Метод  позволяет отслеживать мутацию   в Х-хромосоме и, соответственно,  только у мужчин.  Данная система является пионером в мониторинге человеческих популяций и может быть полезной для проведения сравнения человек -экспериментальная модель.

      Проводится большая работа  по оценке возможностей новых методов и по их валидизации. Вышеописанные методы могут быть включены  или уже включены  в схему дополнительного тестирования. Следует отметить, что результаты, полученные с помощью дополнительных методов, могут играть в принятии решений такую же роль,  как и результаты, полученные с помощью стандартных методов. В этом отношении  большие перспективы  имеют тесты с использованием трансгенных животных, которые позволяют, по оценкам ряда исследователей, в течение  6 месяцев   получить информацию сравнимую с информацией, получаемой в результате биотестирования   на грызунах течение 2-х лет.

       Для успешной интеграции в схему  генотоксической оценки новые методы  должны быть усовершенствованы с  целью  упрощения технологии их выполнения, валидизированы  и приняты для общего использования, что требует   согласия  на  уровне научных, промышленных и правительственных кругов.

**Дәріс 14**

ОЦЕНКА МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Исследование мутагенности новых фармакологических средств и вспомогательных компонентов лекарственных форм проводится на этапе доклинического изучения безопасности их применения. Эта работа предусматривает оценку способности лекарственных средств к индукции разных типов мутаций в зародышевых и соматических клетках и делает необходимым использование для оценки мутагенных свойств лекарств комплекса методов, выполняемых на разных тест-объектах. Опыт работы по тестированию лекарств, накопленный различными группами исследователей с момента выхода первой редакции "Методических рекомендаций по оценке мутагенности новых лекарственных средств" (1981), показывает, что целесообразным представляется использование этапного подхода, сводящегося к следующему: на уровне доклинических испытаний следует использовать минимальный набор методов для оценки лекарств на мутагенность, а именно - 1) учет хромосомных аберраций или микроядер в клетках костного мозга млекопитающих и 2) учет генных мутаций с использованием в качестве тест-объекта микроорганизмов или дрозофилы. При условии получения отрицательных результатов препарат может быть допущен к первой фазе клинических испытаний. Перед второй фазой клинических испытаний необходимо провести изучение способности лекарственного препарата индуцировать мутации в зародышевых клетках мышей (доминантный летальный тест). В случае отсутствия мутагенной активности можно продолжить клинические испытания. Если в отдельных тестах получены неоднозначные, но воспроизводимые результаты, то на заключительных этапах клинических испытаний следует провести исследование уровня хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови леченных больных. Дополнения и уточнения регламента выполнения рекомендованных методов и трактовка экспериментальных результатов описаны в соответствующих разделах.

Изучение генетической активности лекарственных средств требует профессиональной подготовки.

Данные методические рекомендации описывают комплексную систему проверки генетической активности новых лекарственных средств, но не являются пособием для освоения методов. Последние в должном объеме можно освоить только в результате стажировки в лабораториях соответствующего профиля.

Принципы отбора фармакологических средств для испытания на мутагенную активность

Тестированию на мутагенную активность подвергаются новые оригинальные фармакологические средства, созданные химическими, биотехнологическими, генноинженерными и иными способами, включая полученные из сырья природного происхождения. Новые фиксированные комбинации фармакологических средств, планируемые для широкого клинического применения, при структурном сходстве компонентов комбинации с известными канцерогенами, мутагенами или их метаболитами также подвергаются испытанию. Для анализа структурного сходства используется, во-первых, представительная база данных о мутагенных свойствах широкого круга химических соединений, и, во-вторых, специальные компьютерные программы [1,2].

2.2. Пути введения фармакологического средства, выбор доз, объекты исследования

Пути введения исследуемого фармакологического средства должны соответствовать планируемому способу приема лекарства человеком.

Если предполагается возможность энтерального и парентерального введения, можно использовать внутрибрюшинный, подкожный или внутримышечный способы введения. Фарма- кологические средства перорального применения изучают при внутрижелудочном пути введения. Изучение мутагенной активности ингаляционных анестетиков, мазей и т.п. проводят в условиях предполагаемого применения (ингаляционное, накожное) и при парэнтеральном введении.

Исследуемые фармакологические средства растворяют в дистиллированной воде или физиологическом растворе. Водонерастворимые препараты вводят с Твином-80 или используют растворители (этиловый спирт, диметилсульфоксид в конечной концентрации до 5 %); для перорального введения порошкообразных лекарств можно использовать растительное масло или 1% водный раствор крахмала.

Оптимальный объем вводимых растворов фармакологических средств и соответствующих растворителей (для контрольных групп животных) должен составлять при пероральном и внутрибрюшинном способах введения не более 0,5 мл и при внутримышечном - не более 0,2 мл.

Выбор доз для исследований определяется на основе результатов оценки острой токсичности и терапевтической эффективностью,фармакологического средства. Используются две дозы: одна соответствует предполагаемой суточной те- рапевтической дозе для человека, пересчитанной на поверхность тела экспериментального животного [3], а вторая выбирается на основе данных по острой токсичности и составляет 1/10 - 1/5 LDJO для используемого вида млекопитающих.

Проведение экспериментов in vivo диктует необходимость применения генетически однородных животных. При этом использование мышей предпочтительнее, однако не исключено применение других видов животных (половозрелых самцов и самок).