

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

© МАЙБОРОДА А.А. – 2017
УДК: 616.056.7

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОТЕОМА В ОНТОГЕНЕЗЕ (СООБЩЕНИЕ 1)

Аскольд Александрович Майборода

(Иркутский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. И.В. Малов)

Резюме. В последние годы наблюдается настойчивая попытка выделить эпигенетику как «раздел науки» или даже как «новую науку нашего века». Приведен детальный анализ участия генома и протеома в процессах, связанных с размножением клеток и их транскрипционной активностью. Не удалось обнаружить в системе клеточной структуры ничего, что могло быть функционально «над» геномом и управлять, а не **взаимодействовать** с геномом. Весь протеом (эпигеном) продукт деятельности ДНК, «эпигенетические сигналы» – продукт деятельности ДНК. Проанализирована двусмысленность термина «эпигенетика», статус «эпигенетических моделей» и «эпигенетических сигналов». Во втором сообщении предполагается обсудить роль дифференциальной активности генов и разного состояния хроматина в клеточном многообразии; взаимодействие генома и протеома в инактивации X-хромосомы и в процессах геномного импринтинга.

Ключевые слова: геном; протеом; ковалентные модификации; эпигеном; эпигенетика.

GENETIC REGULATION OF THE PROTEOME IN ONTOGENESIS (MESSAGE 1)

A.A. Mayboroda

(Irkutsk State Medical University, Russia)

Summary. In recent years there has been a persistent attempt to distinguish epigenetics as a “division of science” or even as “a new science of our century”. A detailed analysis of the involvement of the genome and the proteome in the processes of proliferation-related cells and their transcription activity is given. It was not possible to detect anything in the cell structure system that could be functionally “over” the genome and control, rather than interact with the genome. The entire proteome (epigenome) is the product of DNA activity, “epigenetic signals” are the product of DNA activity. The ambiguity of the term “epigenetics”; the status of “epigenetic models” and “epigenetic signals” have been analyzed. In the second report it is supposed to discuss the role of the differential activity of genes and different states of chromatin in the cellular variety, interaction of the genome and proteome in the inactivation of the X chromosome and in the processes of genomic imprinting.

Key words: genome; proteome; covalent modifications; epigenome; Epigenetics.

Разнообразие фенотипов кодируется без изменения последовательности ДНК. Сторонники крайне правого эпигенетического толка сами признают, что испытывали и испытывают большие затруднения в попытках дать определение понятию «эпигенетика». В частности, определение, предлагаемое автором первой главы трудов 69-го симпозиума по эпигенетике [19], звучит так: «изменение в фенотипе, которое является наследуемым, но не связано с мутацией в ДНК». Автор второй главы 69-го симпозиума по эпигенетике [18] дает современное рабочее определение эпигенетики как «изучение митотически и (или) мейотически наследуемых изменений в генной функции, которые нельзя объяснить изменениями в нуклеотидной последовательности ДНК». Постоянный намек на главенствующую роль мутаций в фенотипическом разнообразии выглядит, по меньшей мере, странно, ведь весь эмбриональный и постэмбриональный онтогенез совершается под генетическим контролем неизменной нуклеотидной последовательности ДНК [1,2,3,8,9,10]. Более того, сохранение структуры ДНК является главной заботой репаративной системы клетки. Фенотипическое разнообразие вариантов признака (цвет глаз, группы крови и т.п.) кодируется не изменением ДНК, а разной комбинацией аллелей и разными формами взаимодействия, которые определяют экспрессивное или репрессивное состояние генов.

Если признак кодируется **одной аллельной парой**, то возможные варианты его проявления представлены на рис. 1.

Если признак кодируется двумя генами, то примером разного проявления фенотипа у особей с одинаковым генотипом может служить «бомбейский феномен». «Бомбейский феномен» относится к варианту репрессивного эпистаза, при котором женщины (индусы) с генотипом $J^A J^B$ фенотипически имеют первую группу

крови, т.е. у женщин с генотипом $J^A J^B$ отсутствуют антигены в эритроцитах. Установлено, что фенотипическое не проявление доминантных аллелей J^A и J^B связано с гомозиготностью организма по рецессивной аллели гена

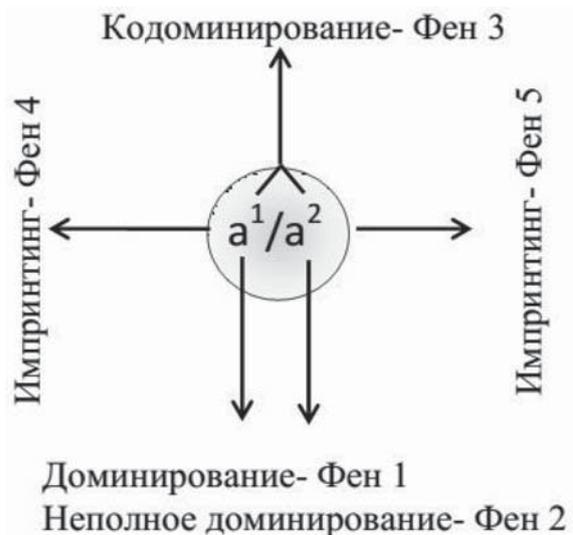


Рис. 1. Типы взаимодействия аллелей (a^1 , a^2 – аллели одного гена, Фен – фенотип).

Цитировано по С.Г. Инге-Вечтовому, 1989г.)

супрессора (hh). Ген hh препятствует формированию антигена на поверхности эритроцитов, поэтому у организмов носителей доминантного гена $J^A J^B$ в присутствии рецессивного гена в гомозиготном состоянии формируется первая группа крови.

В браке гетерозигот по генам *H* и *J* четверть потомства будет иметь фенотип первой группы крови (рис. 2).

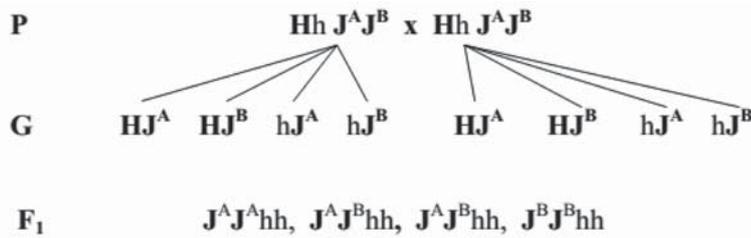


Рис. 2. Наследование групп крови.

Еще одним примером разного проявления фенотипа у лиц с одинаковым генотипом может служить вариант аномалий андрогенных рецепторов у мужчин с кариотипом 46,XY, хорошо известный как синдром нечувствительности к андрогенам или синдром тестикулярной феминизации. При этом у мужчин с мужским кариотипом (46,XY) фенотипически проявляются нормальные наружные половые органы, но со слепым влагалищем и отсутствием фаллопиевых труб и матки. Семенники располагаются в пределах живота и паховых каналов. При синдроме нечувствительности к андрогенам клетки Лейдига нормально выделяют тестостерон, но в клетках-мишенях отсутствуют андрогенные рецепторы. В норме белок-рецептор кодируется аллелями в локусе X-сцепленного рецептора андрогенов. Белок-рецептор образует комплекс с тестостероном. Комплекс «рецептор-тестостерон» стимулирует транскрипцию генов, необходимых для дифференцировки в мужском направлении.

Эти школьные примеры одноаллельного, эпистатического и комплементарного взаимодействия генов иллюстрируют возможные варианты фенотипов без изменения последовательности ДНК в генах, кодирующих эти фенотипы. Классическая генетика за годы своего существования и активной работы продемонстрировала, что все многообразие нормальных: биохимических, клеточных и других известных фенотипов возникает и существует без изменения последовательности нуклеотидов в ДНК [1,2,3,9,10]. Таким образом, определение понятия эпигенетика, при помощи одного из главных постулатов классической генетики выглядит как необоснованная претензия.

Среди различных поводов, послуживших основой для модной эпигенетики, следует назвать – ковалентные модификации нуклеотидов и аминокислот гистонов (метилирование, ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинилирование), инактивацию X-хромосомы, геномный импринтинг и целый ряд других описанных классической генетикой феноменов, которые вдруг стали «эпигенетическими моделями». Вал работ, в которых представлены упрощенные схемы роли ковалентных модификаций без их связи с другими участниками процессов клеточной регуляции, сделали эпигенетику модным направлением, внушающим пионерский восторг.

Потребность восполнить пробел отсутствия точной формулировки понятия эпигенетика видна в сравнительном определении [14] – «ГЕНЕТИКА: мутации в матрице ДНК наследуются соматически и через зародышей путь. ЭПИГЕНЕТИКА: изменения в структуре хроматина модулируют использование генома с помощью (1) модификации гистонов, (2) ремоделинга хроматина, (3) вариантного состава гистонов, (4) метилирования ДНК и (5) некодирующих РНК». А среди эпигенетических моделей, эпигенетики приоритетно обозначили PEV (position effect variegation – эффект положения). Парадокс такого выбора состоит в том, что всё разнообразие форм эффекта положения известно еще со времён открытия «стабильного эффекта положения» в 1925 г. А. Стёртевантом и иллюстрирует правило изменения активности гена в результате его трансло-

кационного перемещения в геноме [6]. Транслокация – это форма мутации. Многочисленные исследования [4,5,6,7] большого числа хромосомных транслокаций показали, что любой ген, перенесенный в гетерохроматин, испытывает эффект положения, при этом ген не изменяется [6]. Модель действительно великолепная, но это генетическая модель и связана с мутацией ДНК. Следовательно, эпигенетика использует генетические модели, а вопрос о том, что изучает эпигенетика, остается открытым.

Попытка обозначить приоритетное состояние эпигенетики приводит её сторонников к еще одной крайности: «центральная догма биологии не признает наличие обратной связи от белка к ДНК» [19].

На наш взгляд, чтобы совместить эпигенетические претензии и классические генетические постулаты, требуются необходимые подробности, характеризующие роль, долю участия и место элементов протеома в главных клеточных событиях, которые осуществляют онтогенез.

Геном, протеом, модифицированные основания и модифицированные белки

Геном – это вся ДНК в хромосомах соматических клеток данного вида. Геном представлен линейным полимером ДНК, который распределен у человека в 46 хромосомах, каждая хромосома занимает отдельную территорию и каждая хромосома является молекулой ДНК. ДНК структурно и функционально неоднородна. Кодирующая часть ДНК содержит около 25 тыс. генов, разнообразие которых определяется простым, но эффективным способом – разным сочетанием нуклеотидов. Главная функциональная характеристика генов остается неизменной: «один ген – один белок». ДНК обладает уникальной способностью воспроизводить саму себя (репликация) и синтезировать необходимое количество белков и нужных при этом РНК, то есть транскрипционной и трансляционной активностью, результатом которой является синтез белков, осуществляемый в соответствии с центральной догмой биологии: ДНК → РНК → белок. Потенциальные возможности человеческого генома – 25000 разных белков.

Генетическая программа индивидуального развития реализуется на основе игры двух типов действия генов: активирующего и тормозящего [9]. Генный контроль осуществляется не непосредственно регуляторной ДНК, а через посредников, и этими посредниками являются белки. Все клеточные события совершаются при участии белков. **Активность генов контролируется белками, которые являются производными других генов.** В линейном полимере ДНК кроме синтеза белков закодировано еще одно условие, без выполнения которого существование клетки как самовоспроизводящейся и самоподдерживающейся системы было бы невозможно: порядок последовательности действия генов. Закодированный в ДНК порядок последовательности действия генов реализуется белками, взаимодействие которых между собой и с ДНК и определяет результат регуляции.

Принцип действия определяется целым рядом условий: белки, имеющие сродство с ДНК, присоединяются к ней, не нарушая комплементарного спаривания оснований, регуляторные белки выполняют роль активаторов или репрессоров. К примеру, установлено, что связывание белка Т-антигена с ДНК вируса SV-40 блокирует транскрипцию вирусных генов, но определяет начало репликации ДНК вируса в соседнем участке [1,2,3], иллюстрируя таким образом правило о том, что присоединение к ДНК одного регуляторного белка может репрессировать действие одного гена и активировать действие другого гена, тем самым определяя необходимый порядок последовательности событий.

Белки, экспрессируемые геномом, называются протеомом. Доля белков в клетке превышает долю всех макромолекул и других соединений вместе взятых. Клетка синтезирует разнообразные белки, которые можно распределить по группам:

- 1) белки цитоскелета,
- 2) белки клеточных мембран,
- 3) мембранные белки эндоплазматического ретикулума,
- 4) белки аппарата Гольджи,
- 5) белки рибосом,
- 6) белки ядерной ламины,
- 7) гистоновые белки,
- 8) негистоновые белки,
- 9) компоненты РНК-белковых комплексов,
- 10) компоненты ДНК-белковых комплексов,
- 11) белки репликационного аппарата,
- 12) белки транскрипционного аппарата.

У эукариот на долю белков транскрипционного и трансляционного аппарата приходится 35% всех клеточных белков; на долю белков, связанных с репликацией ДНК, – 10%; на долю белков, участников метаболизма, – 22%. К этому перечню следует добавить белки фолдинга, белки, связанные с деградацией, и белки участники общеклеточных процессов, суммарная доля которых от общего числа белков «клеточного хозяйства» составляет 14% (рис. 3). Следовательно, не менее 70% клеточных белков следует отнести к группе «ДНК-связанные белки эукариотических клеток», то есть к группе, которая структурно и функционально связана с ДНК и составляет единую интегральную систему (см. далее).

Ковалентные модификации нуклеиновых кислот и белков

Хорошо известно, что биомолекулы являются производными углеводов, в которых очень часто присутствуют функциональные (модифицирующие) группы, наличие которых и расположение в трехмерном пространстве придают соединению химическую индивидуальность [1,11].

В роли модифицирующих (функциональных) групп часто выступают метильные (-CH₃), карбоксильные (-COOH), ацетильные (-CH₃-C=O), гидроксильные (-OH) и аминогруппы (-NH₂); фосфорильная, аденильная, сульфатная, уридилная, пальмитоильная, пренильная и ADP-рибозильная группы [13]. Биомолекулы, в которых присутствуют функциональные группы называются модифицированными молекулы.

Метилирование ДНК по цитидинам последовательностей CG

5-метилцитозин является единственным модифицированным основанием ДНК у млекопитающих. Другие метилированные субстраты у человека: метиладенин; 3-метиладенин; 7-метиладенин и гипоксантин, являются поврежденными основаниями, их узнает и удаляет (кроме 1-метиладенина) фермент системы репарации алкиладенин-ДНК-гликозилаза (ААГ). Действие фер-

мента ААГ имеет сходный принцип с действием ферментов **метилтрансфераз** (рис. 4), которые вынимают цитозин за пределы двойной спирали ДНК, внутри фермента подвергают основание модификации и возвращают его на свое место в цепи ДНК [10].

Метилирование ДНК известно по аденинам нуклеотидов палиндромов *gatc* в ориджинах в ходе

регуляции репликации у *E. coli*.

Известно метилирование малых ядерных РНК. В зиготе наследуется метилированный цитозин яйцеклетки и спермия пронуклеуса, которые имеют эквивалентные уровни метилирования цитозинов. Сразу после оплодотворения материнский и отцовский геномы демонстрируют равное содержание метилированных цитозинов, но через несколько часов наблюдается уменьшение в два раза метилцитозинов сначала в отцовском геноме, а затем – в материнском. Во время имплантации, перед гастрულიацией, наблюдается период тотального метилирования, во время которого устанавливается типичный для данных клеток паттерн метилирования, сохраняющийся во всех соматических клетках на протяжении онтогенеза [10,26].

ДНК соматических клеток млекопитающих метилировано в 70% всех сайтов CpG [17,24]. Аббревиатура CpG – сокращение, указывающее на то что два нуклеотида CG разделены фосфатом. В число метилированных последовательностей генома входят сателлитные ДНК, повторяющиеся (в том числе транспозоны и их инертные остатки), экзоны, интроны и межгенные ДНК.

Установлено, что метилирование сайтов CpG восстанавливается после митоза. Во второй половине прошлого столетия постмитотическое метилирование цитозинов было предложено как возможный вариант среди механизмов клеточной памяти [1,2,3,20,24,27]. На рис.

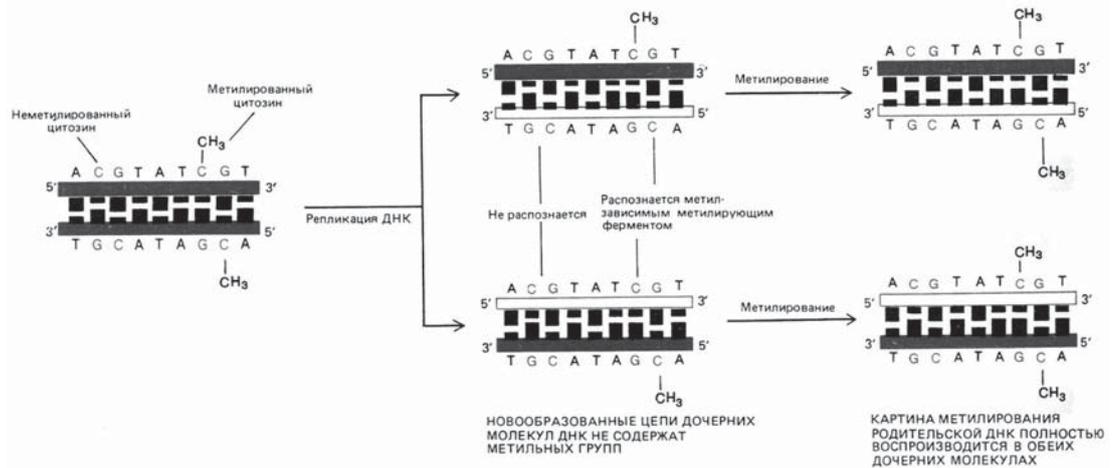


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая механизм устойчивого наследования общего типа метилирования ДНК (Альбертс и др., 1986. В 5 т. Т. 2, с 288).

5 показано, как восстанавливается предшествующее состояние метилирования после репликации, вследствие чего участки ДНК могут стабильно находиться в метилированном или неметилированном состоянии в ряду митотических делений. Потери метилирования в процессе репликации компенсируются ферментом **поддерживания метилаза (метилтрансфераза) Dnmt1**, который действует только на полуметилированные сайты CG и воспроизводит метилированное состояние после каждой репликации.

Заметным исключением из обширного метилирования ДНК, связанного с частотой метилирования динуклеотидов CpG, является **неметилированные островки CpG**, которые не метилированы в зародышевых клетках, в клетках ранних эмбрионов и во всех

соматических тканях [15,24]. Большинство островков **СрG маркируют промоторы и 5'-концы доменов генов**. Наличие неметилированных островков принято считать индикатором того, что ген является потенциально активным, но не обязательно транскрибируемым, то есть деметилированное состояние делает ген доступным для транскрипции [10].

Модификации белков. В отличие от ДНК описано свыше 500 различных ковалентно модифицированных белков [9]. В роли белковых модификаторов выступают все перечисленные выше функциональные группы. Существуют даже целые белки, которые выполняют функции модификаторов. К примеру, белок убиквитин (76 аминокислотных остатков) присоединяется к белку, который подлежит протеолитическому расщеплению. Для присоединения убиквитина к белку мишени требуется – активирующий фермент (E_1) конъюгирующий фермент (E_2) и переносящая лигаза (E_3). Убиквитин связывается с белком через все имеющиеся остатки лизина белка [1,2,3,12]. Ковалентная модификация убиквитином отмечена для молекул гистона H2A, при этом модифицированный убиквитином гистон H2A наблюдается в активных участках хроматина интерфазного ядра, а во время митоза этот комплекс не регистрируется [1,2,3]. Митоз не время для протеолитического расщепления гистона.

Самой частой формой модификации белков эукариот является ацетилирование. Ацетилированию подвергается около 80% всех растворимых белков. Среди гистонов модифицируются не все белки и не все аминокислоты белков. В частности, в процессе репликации и активации генов, выборочно ацетируются лизины гистонов H3 и H4. Ацетилирование очень кратковременная форма модификации. Продолжительность ацетилирования-деацетилирования гистонов в процессе репликации у эукариот составляет 10 мин [1,2,3], время сопоставимое со скоростью синтеза нуклеотидов – 25 нуклеотидов в секунду. Ацетилирование и деацетилирование гистонов находится под контролем ферментов – **гистоновые ацетилтрансферазы (НАТ) и гистоновые деацетил-трансферазы (НДАС)**. Lys-9 гистона H3 способен к двум формам модификации – ацетилированию и метилированию. У гистона H4 способностью к метилированию обладает Arg-3, а ацетируются Lys 5, Lys 12 и Lys 16. Большинство модифицирующих сайтов не подлежат альтернативным модификациям.

Принято считать, что наиболее важной формой регуляторной модификации белков является фосфорилирование [13]. Одна треть всех белков в клетках эукариот находится в состоянии постоянного фосфорилирования и не менее одной стадии фосфорилирования осуществляется в каждом регуляторном процессе. Ферменты, фосфорилирующие белки, называются **протеинкиназы**. Пострецепторные тирозинкиназы системы каскадной сигнальной трансдукции являются главными регуляторами периодов клеточного цикла. Известно фосфорилирование гистонов H1 и H3. Фосфорилирование гистона H3 в ходе клеточного цикла, происходит под действием киназы JIL-1. Утрата киназы JIL-1 у *Drosophila melanogaster* приводит к конденсированию хроматина и гибели мутантов. Роль фосфорилирования H1 в ходе митоза остается неясной [10,29].

Метилирование гистонов происходит по двум лизинам «хвоста» H3 и аргинину «хвоста» H4. Метилирование ДНК и метилирование гистонов взаимодействуют, метилированный сайт по 9 Lys обеспечивает метилирование ДНК. В хроматине, где метилированы и гистоны и ДНК гены репрессированы [10].

Известные варианты модификации гистонов изложены на Web-сайтах WWW-ресурсов. Гистоны могут быть модифицированы по разным сайтам разными модификаторами. Все ковалентные модификации гистонов являются результатом ферментативных процессов. Модификации гистонов создают сайты связывания для участия в белок-белковых взаимодействиях, а комбина-

ции модифицированных состояния обеспечивают работу репликационных и транскрипционных механизмов.

Таким образом, протеом в эукариотических клетках представлен громадным количеством белков (необходимый перечень которых мы сделаем в соответствующих местах) и белков, способных к ковалентной модификации. Попробуем разобраться в вопросе о том, какова роль и доля участия белков и белков, способных к модификациям, в главных клеточных событиях онтогенеза.

Структурно-функциональная организация системы «геном-протеом»

Геном и протеом составляют интегративную систему – единый функциональный комплекс. При этом первичная и главенствующая роль ДНК проявляется в том, что все элементы протеома являются продуктами транскрипционной активности ДНК.

Нуклеосома — интегративный комплекс, структурированный из ДНК и белков. Кочующие из учебника в учебник «спирали ДНК» дают частичное представление об истинном состоянии молекул ДНК в клеточном ядре. Суть в том, что двойная спираль ДНК толщиной 2 нм в «голом» виде в ядре не существует. В обозримом прошлом сформулировано правило о том, что **нуклеосома является фундаментальной структурной единицей хроматина у всех эукариот**. Вся геномная ДНК имеет нуклеосомную организацию, и на ее основе в хроматине формируются структуры от интерфазного состояния до митотических хромосом. Нуклеосома содержит около 200 п.н. ДНК, расположенных на **гистоновом октамере (гистоновом коре)**. Гистоновый октамер включает в себя по две молекулы гистоновых белков H2A, H2B, H3 и H4; эти белки называются гистонами сердцевин (рис. 6). Гистон H1 располагается снаружи гистонов сердцевин, имеет видовые и тканевые особенности и определяет состояние линкерных участков ДНК. Упаковка в состоянии нуклеосомы уменьшает длину ДНК в 8 раз. Толщина **нуклеосомной нити составляет 10 нм**. 10-нанометровая нуклеосомная нить – первый этап упаковки ДНК, следующей структурой компактизации ДНК является 30-нанометровая хроматиновая фибрилла. Электронная микроскопия показала, что большая часть хроматина интерфазного ядра имеет состояние 30-нанометровой хроматиновой фибриллы.

Нуклеосомы – **постоянные структуры клеточного ядра**, и только в процессе репликации нуклеосомы бывают расформированными на короткое время и лишь в пределах короткого участка репликативной вилки. Репликативная вилка, продвигаясь по ДНК, разрушает нуклеосомы, но когда вилка проходит, нуклеосомы очень быстро возникают на дочерних дуплексах. Вновь синтезированные нуклеосомы содержат старые гистоны и вновь синтезированные. В процессе сборки нуклеосом во время репликации участвует ряд белков, которые помогают комплектации ДНК с гистонами, при этом белок PCNA рекрутирует белок CAF-1, который является фактором сборки нуклеосом.

В процессе репликации ДНК на короткий промежуток времени, в S-фазе, происходит ацетилирование по гистонам H3-H4. При этом гистоны ацетируются до их включения в нуклеосому, и когда образуют тетрамер H3₂-H4₂ в составе нуклеосомы, то гистоны уже ацетилированы. Однако тетрамер в составе нуклеосомы очень быстро деацетируется (рис. 7).

Ацетилирование вновь синтезированных гистонов катализируется ферментом **гистонацетилтрансфераза** ДНК подтверждена в опытах на дрожжевых клетках, где показано, что при потере ацетилирования H3 и H4 дрожжевые клетки теряют жизнеспособность [10]. Сборка гистоновых октамеров и формирование нуклеосом происходит из ацетилированных гистонов. Ацетилирование лишает лизин гистонов H3₂ – H4₂ положительного заряда на короткое время, до их включе-

ния в нуклеосому, где положительный заряд восстанавливается (деацетилирование) и, возможно, определяет состояние прочного контакта с электроотрицательной ДНК. Включение гистонов в состав нуклеосом сопровождается обильным участием белков, и есть основание считать, что ацетилирование гистонов необходимо для контроля белок-белковых взаимодействий, очевидно, что ацетилирование гистонов H3 и H4 является звеном в цепи событий репликации, частью программы размножения клеток.

Потребность в нуклеосомах обеспечивается генами синтеза гистонов. Гистоновый октамер состоит из пяти белков, и каждый из этих белков кодируется соответствующим геном. Таким образом, пять разных генов кодируют пять разных белков, которые формируют гистоновый октамер. Все пять генов сгруппированы в единый кластер. В человеческом геноме каждый кластер имеет длину около 6 000 п.н. и повторяется 35 раз. В хромосоме кластеры tandemно следуют друг за другом. Отличительной особенностью гистоновых генов является отсутствие у них интронов, но кластеры разделены спейсерами. У человека кластер гистоновых генов транскрибируется как единое целое в виде одной про-м-РНК, которая после созревания разрезается на пять м-РНК.

Таким образом, нуклеосома является структурой, элементы которой (гистоновые октамеры) производятся ДНК и в то же время определяют возможности упаковки ДНК. При этом 10- и 30-нанометровые фибриллы обратимо превращаются одна в другую и могут достигать третьего уровня упаковки: состояния митотических хромосом. ДНК в составе нуклеосомы может свободно контактировать с малыми молекулами, однако нуклеосомная организация препятствует взаимодействию белков и ДНК. Репликация и транскрипция в клетках с нуклеосомной организацией ДНК возможны при условии доступности ДНК для соответствующих белков-ферментов, что и обеспечивается соответствующими механизмами.

Гены в состоянии стандартной нуклеосомной организации не экспрессируются. Гистоновые октамеры структурированы так, что промоторы генов и другие регуляторные области без специальных регулятор-

ных белков-активаторов не могут быть активированы. Между ДНК и гистоновым октамером в любой нуклеосоме существует четырнадцать контактов, которые блокируют доступ к ДНК и ограничивают смещение октамера. Когда гистоновый октамер теряет связь с ДНК, с ней могут связаться белки факторов транскрипции или РНК-полимераза.

Процесс смещения гистонов, который открывает доступ к ДНК, получил название **ремоделирование хроматина**. Ремоделирование хроматина в области промотора гена – первоначальное событие, после которого аппарат транскрипции получает доступ к промотору. Ремоделированием хроматина занимаются большие белковые комплексы, использующие гидролиз АТФ, при этом **ремоделирование хроматина и узнавание промоторов транскрипции производится единым белковым комплексом**. Активный комплекс транскрипции (холофермент РНК-полимеразы II) содержит полимеразу, почти все факторы TF_{II} и комплекс SWI/SNF, присоединенный к полимеразе. У человека описаны комплексы hSWI/SNF и группа JSWI. Комплекс SWI/SNF содержит одиннадцать субъединиц, молекулярная масса комплекса значительно превышает размеры нуклеосомы и РНК-полимеразы. Отсутствие в клетке любого комплекса (RSC, SWI/SNF) летально. Комплекс SWI/SNF изменяет контакты белок-ДНК и создает эффект вращения (скольжения) нуклеосом, что высвобождает соответствующий участок ДНК с поверхности нуклеосомы и делает ДНК доступной для факторов транскрипции и РНК-полимеразы. Скольжения не происходит, если у гистонов H4 и H3 удалить N-концевые хвосты. Установлено, что сами комплексы не содержат субъединиц, специфичных к определенным последовательностям ДНК. Для работы на промоторе комплекс привлекает белки-активаторы и коактиваторы. Коактиватор р300/CPB обладает гистонацетилазной активностью (см. далее). Специфичность активатора к промотору или энхансеру определяется ДНК-связывающим доменом.

Участие элементов протеома в репликации ДНК

Онтогенез и состояние гомеостаза обеспечивают четыре клеточных процесса (размножение, дифференцировка, перемещение-миграция и апоптоз), которые

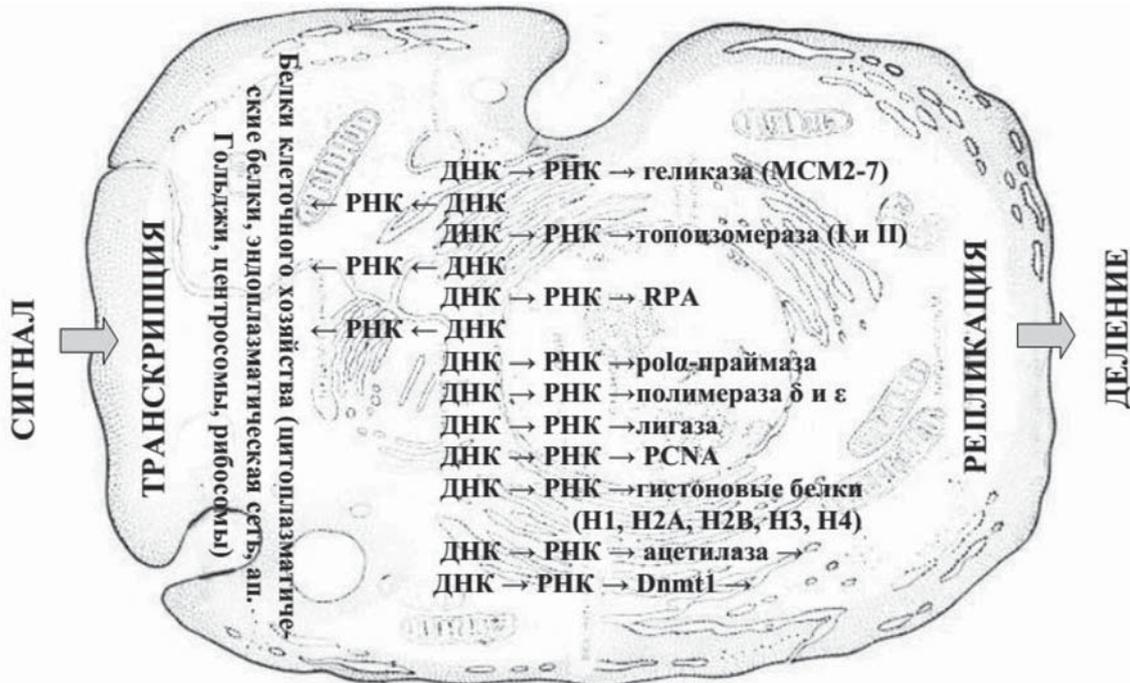


Рис. 8. Репликация находится под контролем транскрипции.

На репликационной вилке регистрируются: ORC (origin recognition complex), АТФ-зависимая геликаза, топоизомераза, ДНК-полимеразы, старые и вновь синтезированные гистоны, белки-ферменты ацетилирования, деацетилирования и метилирования.

находятся под генетическим контролем и тщательно регулируются, а нерегулируемые состояния приводят к различным патологическим последствиям.

Особое место в обеспечении онтогенеза занимает размножение клеток. В человеческом организме 10^{15} клеток, за период онтогенеза происходит около 10^{16} делений. Каждое деление сопровождается репликацией ДНК, синтезом белков, обеспечивающих репликацию (фермент геликаза, стабилизирующие белки, ДНК-топоизомераза, ДНК-полимеразы, РНК-праймазы, скользящий зажим, ферменты репарации ДНК, ДНК-лигазы и т.д.), транскрипционным синтезом белков, необходимых для упаковки ДНК и строительства органоидов (гистоновые белки для сборки нуклеосомных октамеров, белки для клеточных органоидов), синтезом белков-ферментов для восстанавливающего метилирования (рис. 8). Даже неполный перечень участни-

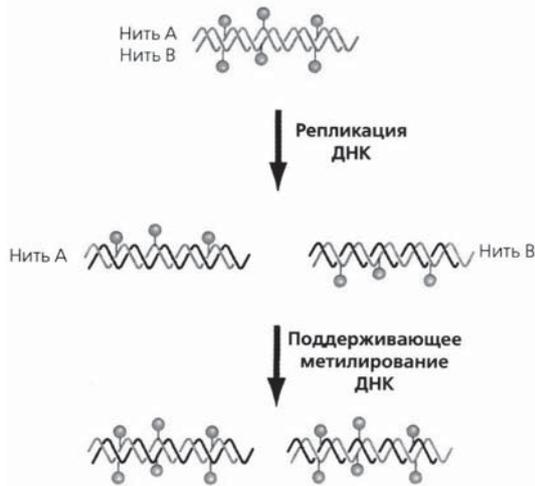


Рис. 9. Механизм поддержания паттерна метилирования ДНК [16].

ков процесса репликации дает возможность оценить роль и долю участия каждого элемента в размножении клеток и позволяет сделать заключение, что ни один из них не может претендовать на роль механизма размножения.

Однако если естественную потерю метильных групп цитозинами ДНК и последующее их метилирование показать как единственное событие репликации, то метилирование предстает главным регуляторным процессом репликации ДНК и трактуется как один из эпигенетических механизмов работающих в организме» (рис. 9).

В контексте анализа этапы репликации ДНК трактуются как элементы «черного ящика», а результат – как окончание репликации, поэтому метилирование цитозинов может быть элементом, этапом, но никак не механизмом репликации ДНК (рис. 8). Неизбежная потеря метильных групп в процессе разделения спирали ДНК компенсируется ферментом **поддерживающая метилаза (метилтрансфераза) Dnmt1**, который синтезируется под контролем соответствующего гена (контроль ДНК). Среди необходимых генов, последовательно синтезирующих белки, обеспечивающие репликацию, имеется ген *Dnmt1*, синтезирующий поддерживающую метилазу как одну из элементов-участниц репликативного синтеза (рис. 4).

Таким образом, размножение клеток – скоординированный процесс, осуществляемый сложным механизмом с участием множества белков и модифицированных белковых молекул, которые находятся под контролем ДНК. Действительно, репликативный синтез сопровождается появлением необходимых белков-

ферментов и гистоновых белков – участников репликации, как результат классической схемы действия ДНК → РНК → белок. ДНК сама себя обеспечивает необходимыми белками в результате разнообразных транскрипционных синтезов.

Геном и протеом реализуют транскрипцию у эукариот. Экспрессия генов – результат последовательных событий, основные из которых можно представить в виде **схемы**: ремоделирование хроматина → инициация транскрипции → процессинг транскрипта → транспорт в цитоплазму → трансляция в полипептид. Очевидно, что главным контрольным звеном экспрессии является инициация транскрипции [1,2,3,10].

У эукариот в отличие от прокариот транскрипция осуществляется тремя ДНК-зависимыми РНК-полимеразами, обозначаемыми как РНК-полимераза I, II, и III. Установлено, что РНК-полимераза I обеспечивает синтез пре-рРНК, РНК-полимераза II – синтез всех пре-мРНК, а РНК-полимераза III – синтез пре-тРНК и других низкомолекулярных РНК. Транскрипция начинается после присоединения РНК-полимеразы к соответствующему участку связывания ДНК, который называется промотор. Разные РНК-полимеразы взаимодействуют с разными промоторами.

Структура промотора для РНК-полимеразы II. Промоторы делят на ТАТА-боксы-содержащие и не содержащие ТАТА-боксы. Эти промоторы встречаются в соотношении близком один к одному. Обязательным компонентом промоторов РНК-полимеразы II является участок с короткой последовательностью в стартовой точке. Этот участок называется **инициатором (Inr)**, Inr находится между позициями -3 и +5. Если промотор не содержит ТАТА-боксы, он содержит другой элемент **DPE** (Downstream promoter element), расположенный ниже стартовой точки между +28 и +32. Ядро промотора для РНК-полимеразы II включает либо **Inr** и ТАТА-боксы, либо **Inr** и **DPE**. Ядро промотора определяет расположение стартовой точки, то есть место сбора основных транскрипционных факторов и образование основного комплекса транскрипции (рис. 10).

В некоторых промоторах для РНК-полимеразы II кроме базовых элементов имеются **короткие последовательности**, которые лежат выше ТАТА-боксы и распо-



Рис. 10. Ядро минимального промотора [8].

знаются специальной группой факторов-активаторов. Активаторы являются факторами транскрипции, они узнают короткие **элементы промотора** или **короткие последовательности энхансера**. Участок ДНК, который узнает связывающий домен активатора, называется **элементом ответа**. Короткие общие элементы ответа, распознаваемые активатором, располагаются на участке в 140 п.н. выше стартовой точки у разных генов и обозначаются как СААТ-боксы, GC-боксы и октамер (состоящий из 8 нуклеотидов) (рис. 11).

Установлено, что ядра промотора определяют расположение стартовой точки. СААТ-боксы определяют эффективность промотора, но не его специфичность.

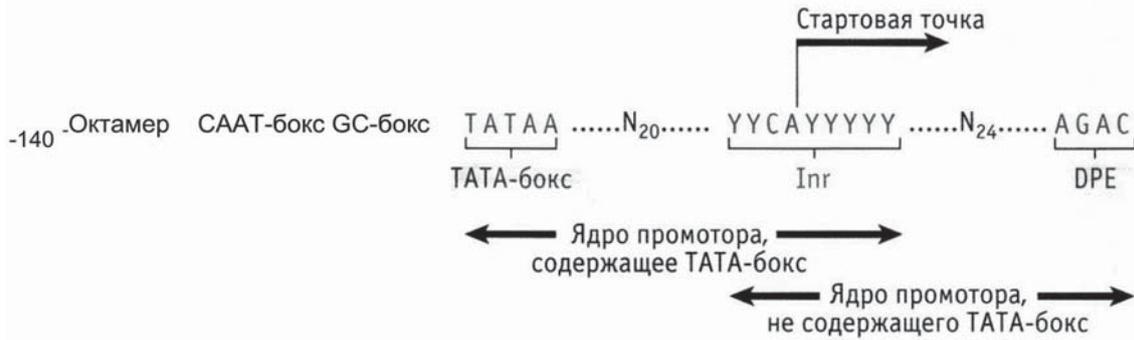


Рис. 11. Промотор для эффективной работы должен содержать кроме ядра промотора хотя бы один из коротких элементов [10].

GC-бокс содержит последовательности CpG, цитозины которых могут быть мишенями метилирования.

В промоторах элементы, расположенные в пределах 200 п.н. от стартовой точки, проявляют специфичность относительно различных воздействий. Так, различают элементы ответа на тепловой шок, на глюкокортикоиды и др. При этом элементы ответа на тепловой шок чаще встречаются на промоторах, а на глюкокортикоиды – в энхансерах.

Инициация транскрипции у эукариот осуществляется в результате взаимодействий между основными факторами транскрипции, промоторами генов и РНК-полимеразой. Ключевое отличие транскрипции у про- и эукариот заключается в том, что у прокариот сама РНК-полимераза распознает промоторную последовательность, а за распознавание промотора у эукариот отвечают **транскрипционные факторы**.

Основные факторы транскрипции эукариот TF_{II}X (Transcriptional Factor for polymerase II) содержат два типа белков: TBP (TATA-binding protein) и TAF белки (TBP-associated factors). TF_{II}D связывают промотор рядом со стартовой точкой и TATA-боксом. Узнавание промотора обеспечивает белки TBP и TAF, которые являются составляющими компонентами TF_{II}. Различные TAF распознают промоторы, и некоторые из них являются тканеспецифическими. TF_{II} факторы идентифицируются при помощи буквы, добавленной в конце аббревиатуры: TF_{II}A, TF_{II}B, TF_{II}D, TF_{II}E, TF_{II}F, TF_{II}H и др.

Инициация начинается со связывания TF_{II}D с TATA-боксом при помощи TBP и последующего присоединения к инициаторному комплексу факторов TF_{II}A, TF_{II}B и TF_{II}F. Принято считать, что TF_{II}F приносит РНК-полимеразу II к собирающемуся транскрипционному комплексу, обеспечивая тем самым связь полимеразы с промотором. На более поздних стадиях действуют другие факторы транскрипции, среди которых фактор TF_{II}H обладает множеством различных активностей, и его взаимодействие с ДНК необходимо, чтобы РНК-полимераза II покинула промотор и начала транскрибировать. Для освобождения полимеразы от транскрипционных факторов необходимо фосфорилирование С-конца РНК-полимеразы II.

Таким образом, инициаторный комплекс собирается на промоторах для РНК-полимеразы II путем последовательного присоединения транскрипционных факторов (белков). В конечном результате фактор TF_{II}F обеспечивает связь РНК-полимеразы с промотором, а фактор TF_{II}E – освобождение РНК-полимеразы от инициаторного комплекса и обеспечение вступления полимеразы на путь транскрипции (элонгации). Все транскрипционные факторы являются белками (продуктами ДНК), инициация транскрипции является результатом белок-белковых взаимодействий факторов транскрипции, которые происходят в специфической последовательности (рис. 12). Не трудно заметить, что инициаторный комплекс представлен белками, среди которых имеются белки способные связываться с ДНК

и белки, определяющие белок-белковые взаимодействия. Никаких эпигеномов, только белки — продукты деятельности ДНК и только взаимодействие между ними: ДНК₁ → B₁ → ДНК₂ → B₂ → и т.д.

Транскрипция невозможна без еще одной группы факторов – **белков-активаторов**. Активаторы участвуют в конститутивных транскрипциях, а также могут контролировать ее специфические варианты. Активаторы состоят из независимых доменов, один из которых отвечает за связывание с ДНК (**ДНК-связывающий домен**), а второй – за активацию транскрипции (**активирующий домен**). Активаторы не взаимодействуют с РНК-полимеразой, они взаимодействуют с основными факторами транскрипции напрямую или через **коактиваторы**. Принято считать, что связывание активатора с элементом ответа – обязательное условие начала транскрипции гена РНК-полимеразой. Активаторы узнают короткие последовательности промотора или энхансера при помощи последовательностей, которые отвечают за связывание с ДНК (рис. 13). Такие последовательности получили название «мотивы домена». Различают следующие типы ДНК-связывающих доменов: мотив «цинковый палец», мотив «спираль-поворот-спираль», мотив «спираль-петля-спираль», мотив «лейциновые молнии», гомеодомены и рецепторы гормонов. ДНК-связывающий домен активаторов имеет специальные аминокислотные последовательности, которые содержат α-спирали, соседствующие с положительными заряженными аминокислотными остатками, обеспечивающими димеру контакт с ДНК. Участок ДНК, который узнает связывающий домен активатора, называется **элемент ответа**.

Активность активаторов контролируется в зависимости от состояния транскрипции. Активность регулируется многими различными путями. Лучше всего изучена активация **рецепторов гормонов**, которые являются типичными **активаторами**. Рецепторы многих стероидных и тиреоидных гормонов активируются **лигандами**. В отсутствие лиганда наблюдается репрессия. Присоединение лиганда влияет на способность фактора к перемещению в ядро, придает фактору способность связываться с ДНК, и в результате каждый рецептор узнает в ДНК элемент ответа.

Рецепторы стероидных гормонов не имеют прямой связи с основным аппаратом транскрипции. Рецепторы стероидов для связи с транскрипционным аппаратом используют **коактиваторы**. В частности установлено, что многим коактиваторам свойственна гистонацетиленотрансферазная активность, направленная на ацетилирование «хвостов» гистонов. Так, коактиватор транскрипции комплекс р300/СВР, состоящий из двух белков (р300 и СВР), ацетилюет N-концевые «хвосты» молекул гистона H4, а коактиватор РСАФ ацетилюет в нуклеосомах молекулы H3 (рис. 15).

Белки не изменяют последовательности ДНК, но белки влияют на ДНК, изменяя активность генов (рис. 12, 13, 14). Основные факторы, РНК-полимераза, активаторы и коактиваторы образуют большой комплекс

из более чем сорока белков. Установлено, что сборка таких больших комплексов происходит не поэтапно, а группами из активаторов и основных факторов прямо на промоторе, после чего к ним присоединяется РНК-полимераза с другими активаторами и коактиваторами.

Регуляция действия генов. Общее правило о том, что активность генов контролируется белками, которые являются производными других генов, требует необходимой детализации.

Различают два типа последовательностей ДНК, которые участвуют в регуляции генной активности: последовательности, кодирующие **транс-активные** белки, и **цис-активные** последовательности (сайты ДНК), узнающие эти белки [22].

Гены регуляторной группы (регуляторные гены) контролируют **структурные гены**, которые кодируют огромное разнообразие белков, обеспечивающих структурно-функциональную организацию клеточного хозяйства и ферментов в том числе. **Регуляторные гены** кодируют белки, участвующие в регуляции экспрессии структурных генов.

К последовательностям ДНК (сайтам ДНК), проявляющим цис-активность, относятся промоторы, терминаторы и практически все компоненты **регуляторного домена (РД)**, которые примыкают к промотору [10]. В составе РД участвуют инсулятор, энхансер, участок присоединения к ядерному матриксу (MAR) и первичные регуляторы контроля над локусом (LCR). Трансактивный белок (продукт регуляторного гена) взаимодействует с цис-сайтом (инсулятор, энхансер) и, в зависимости от его регуляторной направленности, активирует ген или блокирует участок ДНК от влияния геномного окружения.

*В частности, все разнообразие функций **инсулятора** (инсулирует-изолирует) основано на его способности репрессировать сигналы, идущие вдоль ДНК. Прежде всего, инсулятор, замыкая участок ДНК, ограничивает домены и блокирует распространение эффектов экспрессии и репрессии между доменами. Два инсулятора способны заблокировать участок расположенный между ними, от влияния геномного окружения. Действие инсулятора может проявляться вариантами в результате расположения выше и ниже промотора. Инсулятор, расположенный между энхансером и промотором, блокирует активность энхансера. Примечательно, что участок MAR обеспечивает прикрепление домена к ядерному матриксу, может выполнять функцию инсулятора.*

Энхансер – это часть последовательности ДНК, участвующая в инициации транскрипции. Энхансер может располагаться как выше, так и ниже промотора, и на значительном удалении от него.

Роль LCR (locus control region) сводится к двум вариантам регуляции действия кластерных генов: включено-выключено. LCR необходим для регуляции нескольких генов, последовательность работы которых строго лимитирована.

Действие инсуляторов и энхансеров осуществляется не напрямую, а опосредовано белками, которые являются производными специальных генов. Некоторые из этих белков идентифицированы. В частности, при анализе геномной ДНК *Drosophila melanogaster* по краям генов, кодирующих белки теплового шока, были определены два участка хроматина, отличающиеся высокой устойчивостью к действию ДНК-азы I, то есть содержащие неактивные гены. Эти участки получили обозначение *scs* и *scs¹*, они выполняют функцию инсуляторов и изолируют гены теплового шока от геномного окружения. У *scs* и *scs¹* разная первичная структура. Участок *scs* состоит из 24 п.н. и связывает белок Zw5, являющийся продуктом гена *zw5*. Участок *scs¹* имеет повторы CGATA, которые на всем протяжении генома связывают один и тот же белок BEAF-32. Очевидно, что белок BEAF-32 является обязательным компонентом хроматинового окружения инсуляторных последовательностей [28].

Энхансер и промотор участвуют в регуляции транскрипции одного гена. Последовательности энхансера не связываются напрямую с промотором, контакт осуществляется в результате белок-белковых взаимодействий, когда белки связываются с элементами энхансера и взаимодействуют с белками, связывающимися с элементами промотора (рис. 13). Очевидно, что белок-репрессор, узнавший промотор, препятствует связыванию РНК-полимеразы с промотором и блокирует транскрипцию. Способность репрессора связываться с промотором определяется родством химического взаимодействия коротких последовательностей ДНК и специфических доменов белковых молекул. Необходимое разнообразие способов регуляции достигается набором белков, среди которых имеются белки, способные связываться не только с ДНК, но и с метилированной ДНК (см. далее).

Заключение. Генетическая программа репликации и транскрипции реализуется специфической последовательностью белковых синтезов, находящихся под генетическим контролем. Кроме прямого участия в составе основных факторов транскрипции, белки по мере потребности модифицируют другие белки и основания нуклеотидов на разных этапах реализации генетической программы. В частности, репликация и транскрипция демонстрируют обязательное ферментативное метилирование цитозинов ДНК и ацетилирование гистонов H3 и H4, модификации которых опосредованы действием белков-ферментов:

$ДНК_1 \rightarrow РНК \rightarrow B_{\phi} \text{ (метилтрансфераза)} \rightarrow \text{метилирование} \rightarrow \text{MetC}$

$ДНК_2 \rightarrow РНК \rightarrow B_{\phi} \text{ (ацетилтрансфераза)} \rightarrow \text{ацетилирование} \rightarrow \text{ацетил-14LysH3.}$

Все митилтрансферазы и ацетилтрансферазы являются продуктами экспрессии специфических генов, гены наследуются и обязательно воспроизводятся в ходе митоза и мейоза в каждой дочерней клетке в ряду поколений вида. Очевидно, что наличие ферментов и их активация возможно только при участии и контроле ДНК. Белки, модифицированные белки и модифицированные основания принимают участие в процессах регуляции и восстановлении исходного состояния генома в ходе репликации и транскрипции. Белок метилаза в данном случае выполняет функцию восстановления паттернов метилирования ДНК как обязательного программного события репликации, а модифицированные гистоны участвуют в двух видах регуляции: активно/неактивно, поскольку гистонацетилазы ассоциированы с активаторами транскрипции, а гистондеацетилазы с репрессорами транскрипции. Метилирование оснований и ацетилирование гистонов являются обязательными этапами (элементами) последовательных событий **механизма репликации и транскрипции** и находятся под генетическим контролем (не будем путать «участие в работе механизма» и понятие «механизм»).

Приоритет ДНК проявляется в контроле синтеза всех необходимых белков и в контроле их модификаций. Модификации не изменяют пространственного положения нуклеосом, но меняют их химические и конформационные свойства внутри молекул белков. Поэтому модифицированные гистоны рекрутируют специфичные для данной модификации белки. В частности нуклеосомы активных генов ацетилированы и проявляют избирательную способность присоединять в больших количествах два негистоновых белка HMG14 и HMG17, эти нуклеосомы содержат гистон H2A, который связан с убиквитином (1); гистон H3, метилированный по 9Lys связывает негистоновый белок HP1 (heterochromatin protein 1) (рис. 16). Роль порядка последовательности событий модификации белков и их генетическую зависимость хорошо иллюстрирует мутация в деацетилазе, действующая на ацетил-14Lys гистона H3 и отсутствие которой препятствует метилированию H3 по 9Lys.

Действие генов опосредовано белками. Молекуляр-

ные механизмы инициации транскрипции демонстрируют, что для того, чтобы включить транскрипцию (активировать промотор) требуется большое количество разнообразных белков, которые образуют комплексы, последовательно участвующие в событиях ремоделирования и активации. Белок-активатор привлекает ремоделирующий комплекс SWI/SNF, который изменяет нуклеосомную организацию промотора и привлекает комплекс ацетилирования, который ацетилюет гистоны (рис. 14). Ацетилированное состояние нуклеосом в промоторной части гена считается показателем его активированного состояния. Транскрипционные комплексы и модифицированные белки нужны при каждом акте экспрессии гена, но участие транскрипционных комплексов и модифицированных белков явление кратковременное и соответствует скорости синтеза нуклеотидов.

Перечень участников процессов репликации и инициации транскрипции у эукариот не обнаруживает в системе клеточной структуры ни чего что могло быть «выше» или «над» геномом в функциональном проявлении. Ферментативная природа всех форм модификаций оснований и белков однозначно указывает направление модификации – «от ДНК», а не «над ДНК». На рис. 4 показана модификация цитозина ферментом метилаза, который является продуктом деятельности ДНК. На рис. 15 комплекс состоящий из CPB/p300 и PCAF белков имеет свойства коактиватора и обладает гистоацетилазной активностью. Все элементы комплекса продукты деятельности ДНК. Никакого эпигенома – только производные генома. Вся система регуляции репликации и транскрипции основана на пространственно-временной последовательности специфичных элементов, коими являются белки – вездесущая материя клеточных структур, зависящая от клеточной активности. В этой связи подмена химического понятия модификации термином «эпигенетические сигналы» следует признать неудачной. Так же неудачной следует признать терминологическое превращение протеома в эпигеном.

Двусмысленность термина эпигеном (эпигенетика)

отражает не функциональный приоритет, а позиционное положение громадного количества белков, которые находятся «при» ДНК (рис. 12, 13, 14). В нормально функционирующей клетке нет белков, которые бы появились без ведома ДНК. ДНК не производит ненужных белков и белков, которые бы находились в бесконтрольном существовании. Гистоны и все белки синтезированы генами, механизм модификации и гистонов и нуклеотидов – генетический, ферментативные системы модификаций воспроизводятся в зародышевом пути – кодируются и передаются генами. Очевидно, что «эпигенетический» – не «над» ДНК, а ДНК зависимый; «эпигеном» – продукт деятельности ДНК; «эпигенетические сигналы» – продукты деятельности ДНК. Если термину «эпигенетические системы» вернуть нормальное научное звучание – модификации гистонов, то довольно точно можно сформулировать одну из важных задач, решение которой приближает нас к пониманию закономерных отношений между геномом и протеомом: «Модификации гистонов – причина или следствие вариантов экспрессии генов!».

В следующем сообщении мы проанализируем роль дифференциальной активности генов и разного состояния хроматина в клеточном многообразии, взаимодействии генома и протеома в инактивации X-хромосомы и в процессах геномного импринтинга.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователь несёт полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных взаимодействиях. Автор разработал концепцию и дизайн исследования и написал рукопись. Окончательная версия рукописи была одобрена автором, автор не получал гонорар за исследование.

Работа поступила в редакцию: 27.11.2016 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. – Пер. с англ. – Т. I. – М.: Мир, 1994. – 504 с.
2. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. – Пер. с англ. – Т. II. – М.: Мир, 1994. – 539 с.
3. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. – Пер. с англ. – Т. III. – М.: Мир, 1994. – 504 с.
4. Жимулев И.Ф. Гетерохроматин и эффект положения гена. – Новосибирск: Наука, 1993. – 490 с.
5. Жимулев И.Ф. Общая молекулярная генетика. – Новосибирск: Сиб. универс. изд-во, 2003. – 478 с.
6. Дубинин Н.П., Соколов Н.П., Тиняков Г.Г. Цитогенетический анализ эффекта положения // Биологический журнал. – 1935. – Т. 4. Вып. 4. – С.707-720.
7. Дубинин Н.П., Сидоров Б.И. Эффект положения гена hairy // Биологический журнал. – 1936. – Т. 4. №3. – С.555-563.
8. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. – М.: Высшая школа, 1989. – Т. I.
9. Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 264 с.
10. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012. – 896 с.
11. Льюин Б., Кассимерис Л., Лингаппа В.П. и др. Клетки. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. – 952 с.
12. Мушкамбаров Е.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. – М.: МНА, 2007. – 536 с.
13. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера. – М.: Бином, 2012. – Т. I. – 694 с.
14. Allis C.D., Jenurxein T., Reinberg D. Общий обзор и основные понятия // Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.33-70.

15. Bird A., Taggart M., Frommer M., et al. A fraction of the mouse genome that is derived from islands of non-methylated, CpG-rich DNA // Cell. – 1985. – Vol. 40. – P.91-99.
16. Bird A., Pand Wolfe A.P. Methylation-induced repression-Beltz, bracez and chromatin // Cell. – 1999. – Vol. 99. – P.451-454.
17. Ehrlich M. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells // Nucleic Acids Res. – 1982. – Vol. 10. – P.2709-2721.
18. Felsenfeld G. Краткая история эпигенетики // Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.25-32.
19. Gottschling D. Эпигенетика: от явления к области науки. В кн.. Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.13-25.
20. Holliday R., Pugh J.E. DNA modification mechanisms and gene activity during development // Science. – 1975. – Vol. 186. – P.226-232.
21. Hirose Y., Makley J.L. RNK-polymerase II and the integration of nuclear events // Genes Dev. – 2000. – Vol. 14. – P.1415-1429.
22. Jacob F, Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins // J. Mol. Biol. – 1961. – Vol. 3. – P.318-389.
23. Jenuwein N., Allis C.D. Translating the histone coda // Science. – 2001. – Vol. 293. – P.1074-1080.
24. Li En u Bird A. Метилирование ДНК у млекопитающих // Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.333-348.
25. Lasin A., Riggs A.D. DVA methylation and gene function // Science. – 1980. – Vol. 210. – P.604-610.
26. Mayer W., Niveleau A., Walter J., et al. Demethylation of the zygotic paternal genome // Nature. – 2000. – Vol. 403. – P.501-502.
27. Riggs A.D. X-inactivation differentiation and DVA methylation. Cytogenet // Cell Genet. – 1975. – Vol. 14. – P.9-25.
28. Zhao K., Hart C.M., Laemmli U.K. Visualization of chromosomal domains with boundary element-associated factor BEAF-32 // Cell. – 1995. – Vol. 81. – P.879-889.

29. Wang Y, Zhang W, Jin, Y, Johansen K.M. The JIL-1 thandem kinase mediates histone H3 phosphorylation and is

regaired for maintenance of chromatin structure in Drosophila // Cell. – 2001. – Vol. 105. – P.433-443.

REFERENCES

1. Alberts B., Bray D., Lewis J., et al. Molecular cell biology. – Translate with the English. – Vol. I. – Moscow: Mir, 1994. – 504 p. (in Russian)
2. Alberts B., Bray D., Lewis J., et al. Molecular cell biology. – Translate with the English. – Vol. II. – Moscow: Mir, 1994. – 539 p. (in Russian)
3. Alberts B., Bray D., Lewis J., et al. Molecular cell biology. – Translate with the English. – Vol. III. – Moscow: Mir, 1994. – 504 p. (in Russian)
4. Zhimulev I.F. Heterochromatin and the effect of gene position. – Novosibirsk: Science, 1993. – 490 p. (in Russian)
5. Zhimulev I.F. General molecular genetics. – Novosibirsk: Sib. Univers. Publishing house, 2003. – 478 p. (in Russian)
6. Dubinin N.P., Sokolov N.P., Tinyakov G.G. Cytogenetic analysis of the effect of position. // Biologicheskij Zhurnal. – 1935. – Vol. 4. Is. 4. – P.707-720. (in Russian)
7. Dubinin N.P., Sidorov B.I. The effect of the position of the hairy gene // Biologicheskij Zhurnal. – 1936. – Vol. 4. №3. – P.555-563. (in Russian)
8. Inge-Bechtomov S.G. Genetics with the basics of selection. – Moscow: Higher School, 1989. – Vol. I. (in Russian)
9. Korochkin L.I. Biology of individual development. – Moscow: Izd-vo MGU, 2002. – 264 p. (in Russian)
10. Lewin B. Genes. – Translate with the English. – Moscow: Binom. Laboratory of Knowledge, 2012. – 896 p. (in Russian)
11. Lewin B., Kassimeris L., Lingappa V.P., et al. Cells. – Translate with the English – Moscow: Binom. Laboratory of Knowledge, 2011. – 952 p. (in Russian)
12. Mushkambarov E.N., Kuznetsov S.L. Molecular biology. – Moscow: MNA, 2007. – 536 p. (in Russian)
13. Nelson D., Cox M. Fundamentals of the biochemistry of Lenin. – Moscow: Binom, 2012. – Vol. I. – 694 p. (in Russian)
14. Allis C.D., Jenurxein T., Reinberg D. General overview and basic concepts // Epigenetics. – Moscow: Technosphere, 2013. – P.33-70. (in Russian)
15. Bird A., Taggart M., Frommer M., et al. A fraction of the mouse genome that is derived from islands of non-methylated, CpG-rich DNA // Cell. – 1985. – Vol. 40. – P.91-99.
16. Bird A., Pand Wolffe A.P. Methylation-induced repression- Beltz, bracez and chromatin // Cell. – 1999. – Vol. 99. – P.451-454.
17. Ehrlich M. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells // Nucleic Acids Res. – 1982. – Vol. 10. – P.2709-2721.
18. Felsenfeld G. Краткая история эпигенетики // Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.25-32.
19. Gottschling D. Эпигенетика: от явления к области науки. В кн.. Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.13-25.
20. Holliday R., Pugh J.E. DNA modification mechanisms and gene activity during development // Science. – 1975. – Vol. 186. – P.226-232.
21. Hirose Y., Makley J.L. RNK-polymerase II and the integration of nuclear events // Genes Dev. – 2000. – Vol. 14. – P.1415-1429.
22. Jacob F, Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the syntesis of proteins // J. Mol. Biol. – 1961. – Vol. 3. – P.318-389.
23. Jenuwein N., Allis C.D. Translating the histone coda // Science. – 2001. – Vol. 293. – P.1074-1080.
24. Li En u Bird A. Метилирование ДНК у млекопитающих // Эпигенетика. – М.: Техносфера, 2013. – С.333-348.
25. Lasin A., Riggs A.D. DVA methylation and gene function // Science. – 1980. – Vol. 210. – P.604-610.
26. Mayer W, Niveleau A., Walter J., et al. Demethylation of the zygotic paternal genome // Nature. – 2000. – Vol. 403. – P.501-502.
27. Riggs A.D. X-inactivation differentiation and DVA methylation. Cytogenet // Cell Genet. – 1975. – Vol. 14. – P.9-25.
28. Zhao K., Hart C.M., Laemmli U.K. Visualization of chromosomal domains with boundry element-associated factor BEAF-32 // Cell. – 1995. – Vol. 81. – P.879-889.
29. Wang Y, Zhang W, Jin, Y, Johansen K.M. The JIL-1 thandem kinase mediates histone H3 phosphorylation and is regaired for maintenance of chromatin structure in Drosophila // Cell. – 2001. – Vol. 105. – P.433-443.

Информация об авторе:

Майборода Аскольд Александрович – заведующий кафедрой медицинской биологии, профессор, д.б.н., 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

Information About the Author:

Mayboroda Askold A. – Head of the Department of Medical Biology, Professor, Doctor of Biological Sciences, 664003, Irkutsk, Krasnogo Vosstania str., 1