

**CYTOGENES AND  
PRIONES: CYTOPLASMIC  
INHERITANCE  
WITHOUT DNA?**

S. G. INGE-VECHTOMOV

*The discovery of DNA without cellular cytoplasmic organelles, mitochondria, and plastids produced a substantial contribution to the concept of deoxyribonucleic acid (DNA) as the universal molecular carrier of genetic information. Several cytoplasmic genes and some infectious agents (priones) have been identified as protein molecules. These data contributed additional information to the mechanisms of heredity.*

**Существенный вклад в представления о ДНК как универсальном носителе наследственной информации внесло открытие ДНК в цитоплазматических органеллах клетки – митохондриях и пластидах. Некоторые цитоплазматические гены и инфекционные агенты (прионы) идентифицированы как белковые молекулы. Эти сведения дополняют наши представления о механизмах наследования.**

© Инге-Вечтомов С. Г., 1996

**ЦИТОГЕНЫ И ПРИОНЫ:  
ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ  
НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ БЕЗ ДНК?**

С. Г. ИНГЕ-ВЕЧТОМОВ

Санкт-Петербургский государственный университет

**ВВЕДЕНИЕ**

Развитие представлений о наследственности – пример непрерывного экспериментального уточнения фактов и закономерностей, открытых в середине прошлого столетия Г.И. Менделем. Основа этих представлений – существование материальных носителей наследственности, сосредоточенных в хромосомах ядра эукариотической клетки. Попытки ревизовать это положение лишь развивали и уточняли его. Мы расскажем об очередном парадоксе наследственности, получившем объяснение в последнее время.

**ЦЕНТРАЛЬНАЯ ДОГМА**

Ядерная гипотеза наследственности была доказана уже в конце XIX века, еще до переоткрытия законов Менделя. В 1889 году Теодор Бовери показал, что у морских ежей при оплодотворении яйцеклеток, лишенных ядра, полноценными сперматозоидами образуются вполне жизнеспособные гибриды. Более того, эти гибриды повторяли признаки отца, а не матери, если скрещиваемые формы различались по строению скелета личинки. Следует помнить, что сперматозоид приносит в зиготу при оплодотворении практически только ядро, в то время как яйцеклетка как ядро, так и цитоплазму, в тысячу раз превосходящую ядро по объему.

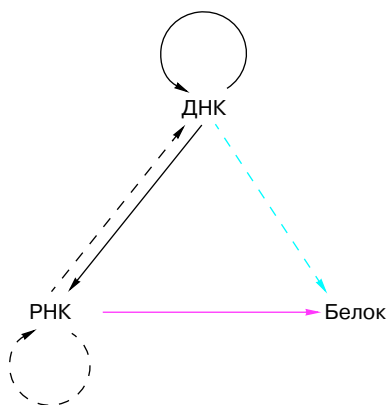
Вторичное открытие законов Менделя в 1900 году Гуто Де Фризом в Голландии, Карлом Корренсом в Германии и Эрихом Чермаком в Австрии утвердило представления о существовании дискретных наследственных факторов, которые Вильгельм Людвиг Иогансен позже (1909 год) назвал генами. Вскоре (1903 год) У. Сэттон “поместил” менделевские факторы (гены) в хромосомы ядра. Так был сделан первый шаг к хромосомной теории наследственности, блестяще обоснованной в дальнейшем Томасом Хантом Морганом и его учениками. Хромосомная теория требует отдельной публикации, а здесь мы отметим только, что ядерная теория таким образом получила развитие в виде хромосомной теории наследственности (см. [1]).

Казалось бы, все понятно: гены – в хромосомах ядра, поэтому оно и отвечает за передачу наследственных свойств организма. В дальнейшем открытие трансформации у бактерий и изучение наследственности бактериофагов – бактериальных вирусов

доказали, что гены – это молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Именно ДНК, а не белок, является носителем генетической информации. Одно из самых ярких доказательств этого представили в 1952 году Альфред Херши и Марта Чейз. Эти ученые показали, используя радиоактивную метку  $^{32}\text{P}$  для ДНК и  $^{35}\text{S}$  для белков, что при заражении бактерии кишечной палочки (*Escherichia coli*) бактериофагом T2 в клетку проникает только ДНК, а белок остается вне клетки. Тем не менее этого достаточно для развития полноценных частиц бактериофагов-потомков, состоящих, как и исходные инфицирующие частицы, из ДНК и белков (см. [1]).

Современные представления о роли ДНК в наследственности лучше всего отражает так называемая “Центральная догма” молекулярной биологии (рис. 1), сформулированная Фрэнсисом Криком [2]. Согласно Центральной догме в ДНК, способной к самовоспроизведению, закодирована первичная структура белков, то есть последовательность их аминокислотных остатков. Эта генетическая информация переносится с ДНК на РНК, которую в этом случае называют информационной – иРНК или мРНК (от англ. messenger – посланник, переносчик). Именно мРНК переносит информацию о структуре белков от ДНК хромосом, находящихся в ядре, в цитоплазму, где и происходит синтез белков. Так обстоит дело в эукариотической клетке, то есть типичной клетке, имеющей ядро и ядерную мембрану, отделяющую его содержимое от цитоплазмы. У бактерий те же процессы обставлены несколько проще.

Так или иначе, но во всех случаях генетическая информация переносится обычно по цепи: ДНК → РНК → БЕЛОК. Иногда молекулы РНК способны к самовоспроизведению или служат промежуточной матрицей при воспроизведении ДНК, но никогда белок не может служить матрицей для синтеза ДНК или РНК!



**Рис. 1.** Схема, иллюстрирующая Центральную догму молекулярной биологии. Сплошные стрелки показывают обычный путь переноса генетической информации, пунктирные – более редкие пути, также существующие в природе.

Итак, ДНК через своего посредника (мРНК) определяет чередование аминокислот в белках. При этом соблюдаются правила генетического кода, суммированные в таблице. Более подробно о некоторых проблемах генетического кодирования мы расскажем в другой статье.

Таблица генетического кода

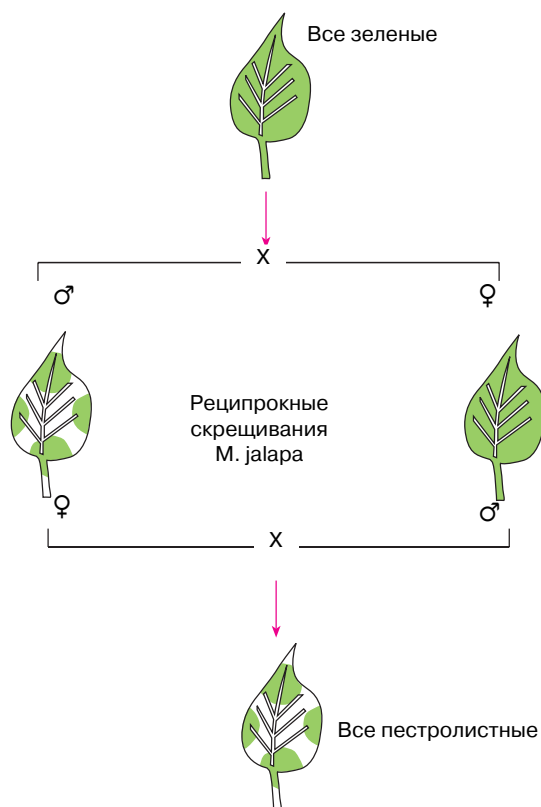
Первая буква в кодоне	Вторая буква в кодоне				Третья буква в кодоне
	U	C	A	G	
U	Фен F	Сер	Тир	Цис C	U
	Фен	Сер S	Тир Y	Цис	C
	Лей L	Сер	–	–	A
	Лей	Сер	–	Трп W	G
C	Лей	Про	Гис H	Арг	U
	Лей L	Про P	Гис	Арг R	C
	Лей	Про	Глн Q	Арг	A
	Лей	Про	Глн	Арг	G
A	Иле	Тре	Асн N	Сер S	U
	Иле I	Тре T	Асн	Сер	C
	Иле	Тре	Лиз K	Арг R	A
	Мет M	Тре	Лиз	Арг	G
G	Вал	Ала	Асп D	Гли	U
	Вал V	Ала A	Асп	Гли G	C
	Вал	Ала	Глу E	Гли	A
	Вал	Ала	Глу	Гли	G

Примечание: U – урацил, C – цитозин, A – аденин, G – гуанин – основания РНК. В таблице представлены трехбуквенные сокращения наименований аминокислот, а также их условные обозначения в виде отдельных букв, принятые в биохимии. Прочерк для кодонов: UAA, UAG, UGA указывает на то, что они не кодируют аминокислотных остатков, а являются сигналами терминации трансляции, то есть остановки синтеза белка.

## ГЕНЫ ВНЕ ЯДРА

Исключения из хромосомной теории наследственности, неоднократно обнаруживавшиеся у различных объектов, тем не менее только развивали и уточняли ее и в конце концов интегрировались в рамках Центральной догмы. Одним из первых исключений из хромосомной теории было обнаружение неядерных генов, или цитоплазматических генов. Неядерное наследование описали на заре генетики К. Корренс (1908 год) и Э. Бауэр (1909 год). К. Корренс, в частности, изучал наследование признака пестролистности у ночной красавицы *Mirabilis jalapa*. У этого растения встречаются формы, на листьях которых мозаично чередуются зеленые участки, содержащие хлорофилл, и белые участки,

лишенные хлорофилла. Если в скрещивании материнская форма пестролистная, а отцовская зеленая, то все потомство оказывается пестролистным. В реципрокном скрещивании, когда материнская форма зеленая, а отцовская пестролистная, все гибридное потомство зеленое (рис. 2) Налицо противоречие тому, что наблюдал Мендель. В его опытах реципрокные скрещивания всегда давали одинаковый результат. Более того, если потомство от скрещивания пестролистной формы (материнской) и зеленой (отцовской) вновь опылять пыльцой зеленой формы, то есть если она вновь выступает в качестве отцовской, то результат вновь будет таким же, как и в первом скрещивании. Можно продолжать эти скрещивания, насыщая ядро гибридного потомства хромосомами и генами зеленого растения, и тем не менее результат будет неизменен. Вновь и вновь будет получаться пестролистное потомство. Напомним, что у растений, как и у животных, спермий практически не вносит цитоплазму в зиготу при оплодотворении. Таким образом, наследование пестролистности связано в данном случае не с хромосомами ядра, а со структурами цитоплазмы. Такими структурами

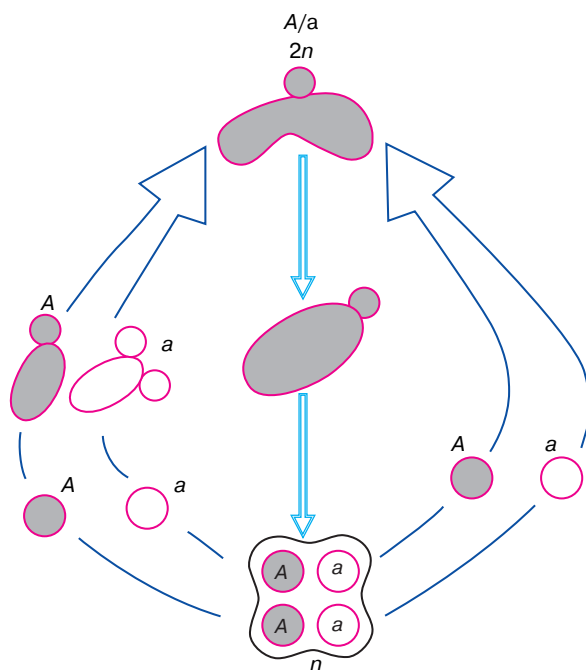


**Рис. 2.** Различия результатов в реципрокных скрещиваниях при наследовании пестролистности у ночной красавицы *Mirabilis jalapa* – первый пример нехромосомного (пластидного) наследования.

оказались пластиды, в которых и локализован хлорофилл и другие пигменты фотосинтеза (см. [1]).

Другой интересный пример нехромосомного (неядерного) наследования открыл Борис Эфрусси в конце 40-х годов у пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Он изучал у дрожжей наследование способности к дыханию. Нормально дышащие дрожжи образуют на плотных средах крупные матовые колонии и прекрасно растут как на глюкозе за счет ферментации, так и на неферментируемых источниках углерода, например этаноле или глицерине, за счет их окисления. Мутантные дрожжи, не способные к дыханию, на глюкозе образуют мелкие блестящие колонии, а на этаноле, глицерине и других несбраживаемых субстратах не растут совсем.

Дрожжи – вообще очень удобный объект для демонстрации менделевских закономерностей (рис. 3). Благодаря тому, что все четыре гаплоидные споры (или тетрада спор) – продукты каждого индивидуального мейоза у дрожжей остаются вместе (в сумке, или аске), у них возможен тетрадный анализ. При этом при помощи микроманипулятора под контролем микроскопа изолируют споры из каждой сумки-тетрады отдельно и выращивают из них индивидуальные гаплоидные культуры. При этом, если вы работали с исходным штаммом-диплоидом, гетерозиготным по какому-либо гену ( $A/a$ ), то в потомстве каждой тетрады у вас будут вырастать два гаплоида с признаком  $A$  и два гаплоида с признаком  $a$  ( $2A : 2a$ ). Это так называемое нормальное



**Рис. 3.** Жизненный цикл дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, иллюстрирующий возможности тетрадного анализа.

расщепление в тетрадах блестяще доказывает, что соотношение гамет  $1A : 1a$ , постулированное для моногетерозиготы  $A/a$  Менделем, действительно строго закономерно реализуется в мейозе как результат точного распределения гомологичных хромосом и находящихся в них генов.

Именно этого и не удается наблюдать при скрещивании нормальных и дыхательно-некомпетентных гаплоидных дрожжей, которые изучал Б. Эфрусси. Во всех тетрадах гибрида, полученного от такого скрещивания, все четыре потомка нормально дышали и прекрасно росли на неферментируемых источниках углерода. Результат явно противоречил механизму хромосомного наследования. Оказалось, что в этом случае признак способности/неспособности к дыханию у дрожжей определяется митохондриями, которые содержатся в цитоплазме в числе нескольких десятков. Дыхательно-компетентный родитель в скрещивании передает в зиготу свои нормальные митохондрии и они, случайным образом распределяясь в мейозе, оказываются во всех гаплоидных потомках каждой тетрады. Существуют и ядерные дыхательно-некомпетентные мутанты. Тогда в скрещивании их с нормально дышащими дрожжами наблюдается расщепление в тетрадах  $2 : 2$  [1].

Итак, кроме ядра, за передачу ряда наследственных признаков отвечают также органеллы цитоплазмы, такие, как пластиды и митохондрии. Все “встало на свои места”, когда в этих клеточных органеллах нашли ДНК. Оказалось, что пластиды и митохондрии имеют собственные носители генетической информации и собственный аппарат белкового синтеза. Интересно, что генетический код в ДНК митохондрий несколько отличается от кода хромосомных ДНК, а аппарат белкового синтеза в органеллах отличается от того, который работает в цитоплазме эукариотической клетки и контролируется исключительно ядром. Синтез белка в органеллах контролируют как гены органелл, так и гены ядра. При этом органелльный аппарат синтеза белка больше похож на аппарат синтеза белка бактерий. Это наблюдение, в частности, позволило Линн Маргелис [3] развить гипотезу Андрея Сергеевича Фаминцына о симбиогенетическом происхождении эукариотической клетки, высказанную им в конце XIX века. А.С. Фаминцын обратил внимание на сходство синезеленых бактерий (тогда их называли синезелеными водорослями) и хлоропластов высших растений и предположил, что это сходство есть свидетельство симбиоза, возникшего в период эволюционного возникновения эукариотических клеток.

Таким образом, факты органелльной наследственности расширили наши представления о носителях генетической информации — молекулах ДНК, которые могут быть локализованы как в ядре, так и в органеллах цитоплазмы. С учетом того, что мы рассказали, термин цитоплазматическая наслед-

ственность представляется неадекватным для описания генов органелл.

Существуют ли настоящие цитоплазматические гены, или цитогены?

## ЦИТОГЕНЫ ДРОЖЖЕЙ

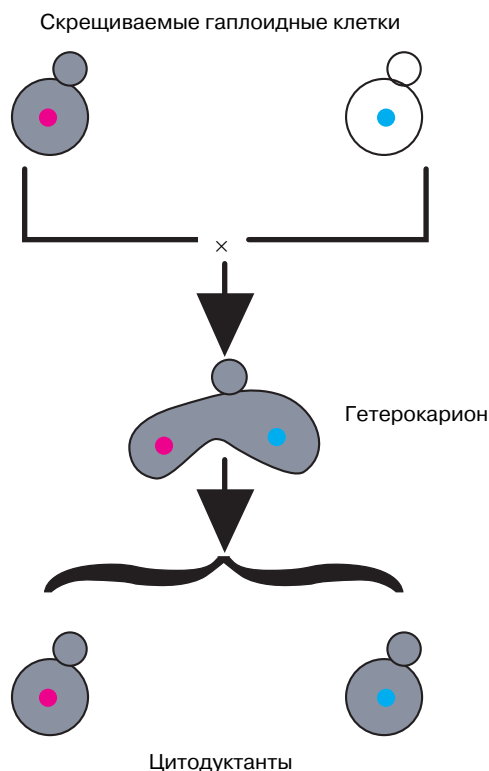
И все-таки цитоплазматические наследственные детерминанты, не связанные с клеточными органеллами, существуют. Их нашли у дрожжей. В 1965 году Брайан Кокс описал необычный наследственный фактор неядерной природы, не связанный с митохондриями. Кокс назвал его  $\psi$  — пси-фактором. Он есть у одних штаммов и отсутствует у других. В присутствии этого фактора нарушается точность считывания кодонов-терминаторов (UAA, UAG, UGA), на которых завершается синтез полипептидной цепи (см. таблицу кода). Это можно обнаружить, если вы работаете со штаммом, у которого какой-либо из этих кодонов возник в результате мутации в любом из генов, контролирующих белок-фермент, например, ответственный за синтез пуринового основания — аденина. Тогда в отсутствие  $\psi$ -фактора синтез соответствующего фермента обрывается на кодоне-терминаторе (их также называют нонсенсами, так как они обычно не кодируют никаких аминокислот), и клетки начинают нуждаться в аденине, то есть не растут без него. В присутствии  $\psi$ -фактора эта потребность частично или полностью исчезает, поскольку теперь кодон-терминатор читается как кодон для какой-либо аминокислоты. Соответствующий фермент образуется и обеспечивает синтез аденина в клетке. Это явление называется супрессией. Более подробно о нем мы расскажем в следующей статье.

Наследование  $\psi$ -фактора напоминает наследование дыхательной компетентности в опытах Б. Эфрусси. При скрещивании гаплоидов  $\psi^+$  и  $\psi^-$  образуются диплоиды  $\psi^+$ , и при последующем тетрадном анализе все четыре продукта каждого индивидуального мейоза образуют колонии  $\psi^+$ . Так установили нехромосомную природу  $\psi$ -фактора. Это могло указывать на множественность копий  $\psi$ -фактора и еще не указывало на его локализацию в клетке. Он мог быть и в ядре. Известно, что в ядре могут существовать плазмиды — молекулы ДНК, содержащиеся в ядре вне хромосом и во множестве копий.

Неядерную природу этого фактора установили в опытах по так называемой цитодукции. Цитодукция — это необычный, довольно редкий процесс гибридизации дрожжей, когда в образующейся зиготе не происходит слияния родительских ядер, то есть не происходит кариогамии, и ядра родительских клеток сосуществуют в форме гетерокариона. Такие гетерокарионы обычно образуются с частотой менее 1% среди общего числа нормальных зигот, у которых ядра сливаются. Далее гетерокарионы отпочковывают гаплоидные клетки, содержащие ядро того или другого из родителей и смешанную

цитоплазму (рис. 4). Частоту образования гетерокарионов можно резко повысить — вплоть до 90%, если один из родителей будет нести мутацию *kar1*, блокирующую кариогамию. Используя явление цитодукции в присутствии мутации *kar1*, легко убедиться, что  $\psi$ -фактор передается потомкам-цитодуктантам независимо от ядра, особенно если вы использовали родительские штаммы, у которых ядра были по-разному маркированы хромосомными мутациями, например, разными мутациями потребности в факторах роста или мутациями устойчивости к антибиотикам или антиметаболитам.

Немитохондриальную природу  $\psi$ -фактора можно показать, используя агенты, специфически связывающиеся с митохондриальной ДНК, например, бромистый этидий. В его присутствии клетки дрожжей на 100% превращаются в дыхательно-некомпетентные мутанты, но сохраняют  $\psi$ -фактор. В то же время существует другое соединение, практически не действующее на митохондрии, но эффективно «изгоняющее»  $\psi$ -фактор из клетки. Это — гуанидин гидрохлорид.



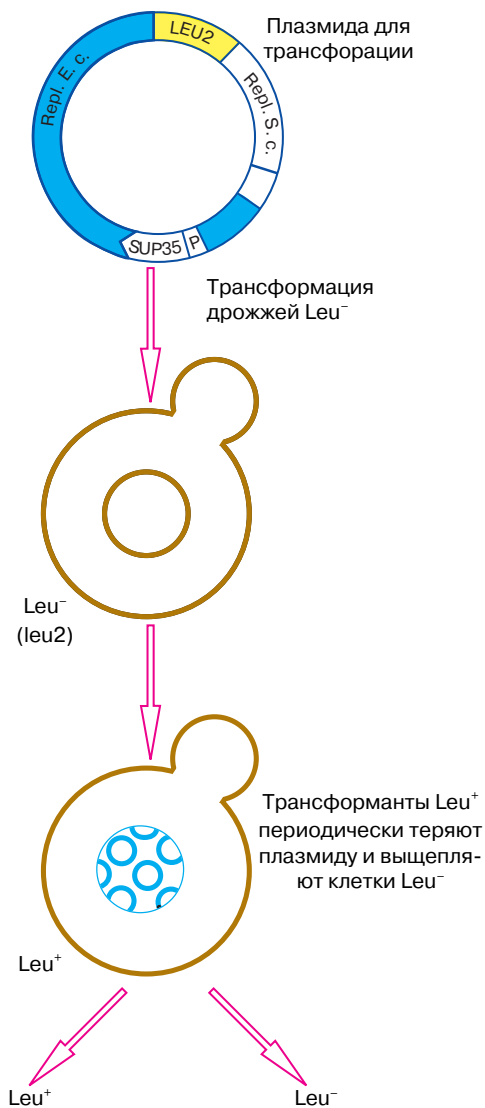
**Рис. 4.** Схема процесса цитодукции у дрожжей. Клетки, различающиеся маркерами ядра и цитоплазмы, образуют гетерокарион, в котором в смешанной цитоплазме сосуществуют ядра скрещиваемых клеток. При последующем почковании появляются гаплоидные клетки, имеющие ядро или другого родителя в смешанной цитоплазме.

Многочисленные попытки обнаружить связь загадочного  $\psi$ -фактора с какими-либо молекулами нуклеиновых кислот (особенно усилившиеся с наступлением в 70-х — 80-х годах эры генной инженерии) не дали никаких результатов. Аналогичным образом в опытах по гибридизации вел себя и другой наследственный детерминант дрожжей — [URE3], открытый Франсуа Лакрутом в 1971 году. В присутствии этого цитогена дрожжи приобретали способность использовать уреидосукцинат в качестве источника азота.

Природа  $\psi$ -фактора была выяснена только в последнее время благодаря применению методов генной инженерии, то есть манипулированию молекулами ДНК генов, извлеченными из клетки, созданию из них искусственных конструкций, способных к самовоспроизведению, изменению этих молекул желаемым образом и вновь возвращению их в клетку для изучения поведения признаков, контролируемых соответствующими генами.

Решающие эксперименты были поставлены группой исследователей на кафедре генетики и селекции Санкт-Петербургского государственного университета, уже давно изучавшей у дрожжей ядерный ген SUP35, который, так же как и  $\psi$ -фактор, контролирует считывание кодонов-терминаторов. Подчеркнем, однако, что SUP35 — это ядерный, так сказать, классический ген. Он выделен из клетки, получен в препаративных количествах, нуклеотидная последовательность его полностью расшифрована прежде всего усилиями Михаила Тер-Аванесяна и его коллег в Москве. Мутации в этом гене приводят к считыванию кодонов-терминаторов, то есть к супрессии нонсенсов, почему он и назван SUP, то есть супрессор [4]. Оказалось, что при введении его в клетки дрожжей  $\psi^-$ , причем не мутантного, а совершенно нормального, в числе нескольких (20 — 30) копий также наблюдается эффект нонсенс-супрессии [5] — прочитывания кодонов-терминаторов. Увеличить число копий гена можно, вставив его в плазмиду — молекулу ДНК, способную к самовоспроизведению в ядре, и трансформировать такой конструкцией клетки дрожжей (рис. 5).

Эта плазида и встроенный в нее ген будут содержаться в ядре в числе 20 — 30 копий. Недостатком этого метода является то, что такие плазмиды довольно часто теряются. Правда, потери не проходят незамеченными, если у вас есть в плазмиде дополнительный ген-маркер, например, ген LEU2, контролирующий синтез аминокислоты — лейцина. Тогда реципиент для трансформации должен быть  $Leu2^-$ , то есть нуждаться в лейцине вследствие мутации в том же гене, но локализованном нормально — в ядре. Тогда трансформанты становятся  $Leu^+$ , а клетки, потерявшие плазмиду, вновь станут  $Leu^-$ . Упомянутая нестабильность плазмиды, казавшаяся недостатком системы, принесла неожиданный результат. Оказалось, что около 20% трансформантов,



**Рис. 5.** Схема трансформации дрожжей. Многокопийная плаزمида, упомянутая в тексте, содержит ДНК дрожжей: ген SUP35 со своим регуляторным участком-промотором (P), участок, необходимый для репликации в дрожжах (Repl. S.c.), ген LEU2, а также ДНК бактерии E.coli (заштрихована), включающую участок, необходимый для репликации в бактерии (Repl. E.c.). Обычно плазмиду предварительно размножают в бактериях, выделяют из клеток, а затем трансформируют ею дрожжи.

потерявших плазмиду и ген SUP35 вместе с ней, стали клетками  $\psi^+$  [3]! Получается, что умножение (амплификация) числа копий гена SUP35 индуцирует в клетке  $\psi$ -фактор.

Возник ряд неизбежных вопросов: что индуцирует появление  $\psi$ -фактора – сама амплификация SUP35 или его повышенная экспрессия, то есть усиленный синтез его генных продуктов, сопровождающий такую амплификацию? Ответ на эти во-

просы дали изящные эксперименты сотрудников кафедры генетики и селекции СПбГУ Юрия Чернова и Ирины Деркач. Прежде всего было показано, что  $\psi$ -фактор индуцирует именно повышенная экспрессия SUP35. Для выяснения этого вопроса использовали клетки, несущие одну, а не несколько копий плазмиды с встроенным в нее геном SUP35. Для этого в ту же плазмиду вшили центромер – последовательность ДНК одной из хромосом дрожжей. Именно центромеры в хромосомах отвечают за их однокопийное состояние и точное распределение при делении клетки. Кроме того, заменили собственный регуляторный участок (промотор), предшествующий гену SUP35 и отвечающий за его экспрессию, на промотор гена, отвечающий за усвоение сахара-галактозы. Такой промотор “запускает” экспрессию гена на галактозе, но не работает на глюкозе (рис. 6). Достаточно было клетки с такой плазмидой поместить на галактозу, и в них появлялся  $\psi$ -фактор.

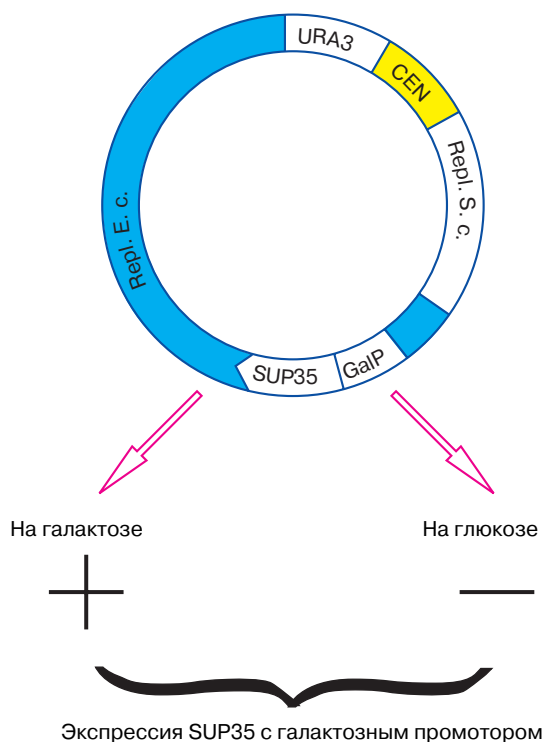
Следовательно, наблюдаемый эффект – результат именно усиленной экспрессии гена SUP35, а не его амплификации.

Далее нужно было решить, что же непосредственно отвечает за индукцию  $\psi$ -фактора: мРНК гена SUP35 или кодируемый им белок? Для того чтобы выяснить этот вопрос, в самое начало гена SUP35, находящегося под контролем галактозного промотора на однокопийной плазмиде, был вставлен лишний нуклеотид, что привело к нарушению рамки считывания гена, и трансляция его мРНК, то есть синтез соответствующего белка – генного продукта, оказался невозможным. Транскрипция (синтез мРНК) при этом не была блокирована. Оказалось, что при невозможности образования белка, кодируемого геном SUP35, никакая повышенная экспрессия этого гена не приводит к появлению в клетках  $\psi$ -фактора. Таким образом, загадочный  $\psi$ -фактор – это белковый продукт (он, естественно, в цитоплазме) гена SUP35.

Здесь уместно наконец сказать, что же кодирует ген SUP35 у дрожжей. Это стало известно совсем недавно. Продуктом этого гена оказался белковый фактор, узнающий кодоны-терминаторы в ходе трансляции – синтез белка. При “превращении” в  $\psi$ -фактор он частично теряет свою активность, то есть перестает безошибочно узнавать кодоны-нонсенсы, более того, теперь он способствует тому, что нонсенс считывается как обычный значащий кодон.

Аналогичным образом вскоре было показано Ридом Уикнером, что другой цитоген дрожжей – [URE3] также является продуктом хромосомного гена URE2, амплификация которого приводит к появлению в клетке фактора [URE3] [6].

Возникла интересная ситуация: по-видимому, существуют цитогены белковой природы, кодируют их ядерные гены, и тем не менее наследуются эти цитогены независимо от ядра. Складывается



**Рис. 6.** Использование галактозного промотора (GalP) для регулируемой экспрессии гена SUP35 дрожжей.

Наличие центромерного участка (CEN) делает плазмиду однокопийной и стабильной. На месте гена URA3 мог бы быть и LEU2, как в предыдущем эксперименте (рис. 5), однако в данном случае в качестве реципиентов при трансформации использовали клетки Ura<sup>-</sup>, хотя выбор системы селекции трансформантов не имеет принципиального значения.

впечатление, что некоторые белки, в частности, продукты генов SUP35 и URE2 у дрожжей, могут приобретать какие-то новые свойства, превращающие их в такие цитогены, хотя мы с вами прекрасно знаем, что белки не способны к репликации.

Естественно возник вопрос: а не встречались ли сходные ситуации у каких-либо других объектов?

## ПРИОНЫ

Рид Уикнер обратил внимание на сходство между упомянутыми цитогенами дрожжей и прионами позвоночных. Что такое прионы? Прионами Стэнли Прусинер назвал инфекционное начало белковой природы. Прионы человека переносят заболевания нервной системы, известные как куру, или смеющаяся смерть, болезнь Кройцфельда–Якоба, болезнь Герштонна–Штросслера–Шейнкера и др. Прионы являются переносчиками болезни овец, известной как скрэпи, или почесуха, а также сходных заболеваний у коз, оленей, мышей, хомяков и

некоторых других млекопитающих. В последнее время сходное заболевание было обнаружено у крупного рогатого скота и получило название “сумасшествие коров”. Во всех этих случаях болезнь переносит белок, обнаруживаемый у больных в нервной ткани в повышенной концентрации и обладающий устойчивостью к протеолитическим ферментам. Это и есть прион.

Белок с такой же аминокислотной последовательностью обнаруживается в нервной ткани здоровых людей и животных. Функция его пока неизвестна. Прионная форма этих белков отличается не только повышенной устойчивостью к протеолизу, но и характером пространственной укладки полипептидной цепи, в частности, в прионах меньше α-спиральных участков.

Первым из всех упомянутых заболеваний человека была открыта в 60-х годах болезнь куру и определена ее инфекционная природа. Это открытие принадлежит крупному вирусологу, биофизику, антропологу, медику и молекулярному биологу – Даниэлю Карлтону Гайдузеку (чаще на русский язык его имя переводят как Гайдушек). Мрачная романтика этого открытия заключается в том, что, как выяснилось, инфекционное начало куру передавалось между членами племени Форэ в Новой Гвинее в результате ритуального каннибализма. В 1976 году Гайдушек был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине (вместе с Б.С. Бламбергом) за “открытие новых механизмов происхождения и распространения инфекционных заболеваний” [6].

В результате исследования куру и других упомянутых заболеваний человека и животных силами многих ученых была достоверно доказана белковая природа инфекционного агента во всех случаях. Родилась еще одна сенсация – вирус без ДНК, вообще без нуклеиновой кислоты, наследственность без ДНК!

Сенсация просуществовала недолго. Были обнаружены случаи наследственной предрасположенности к прионным заболеваниям, был обнаружен ядерный ген Prp у человека, а также у животных, мутации в котором тоже являются причиной этих заболеваний. Ген Prp выделен из нескольких организмов, сравнение последовательности нуклеотидов этих генов показало, что все они похожи друг на друга, то есть гомологичны. Особенно много общего у них в начальной части – кодирующей N-терминальный конец полипептида. Первопричиной болезни является спонтанное изменение характера укладки полипептидной цепи – изменение третичной структуры белка. В результате этого белок инактивируется, образуя конгломераты, устойчивые к протеолизу. Это и есть прионная форма белка.

Наиболее интригующей загадкой остается механизм прионной инфекции. Прион, попадая в здоровый организм человека или животного, превращает все вновь синтезируемые молекулы белка Prp

в прион. Как это происходит, мы только начинаем узнавать, и в этой области сейчас больше предположений, чем окончательно установленных фактов.

Здесь важно подчеркнуть, что и в истории с прионами наследственность без ДНК не обходится. Информация о первичной структуре белка-приона закодирована в хромосомном гене Prp. Более того, совсем недавно (1994 год) Д. Уэстауэй показал, что сверхэкспрессия гена Prp у мыши вызывает прионное заболевание — появление в цитоплазме клеток аномальных белков-прионов со всеми вытекающими отсюда патологическими последствиями. Подчеркнем, что в этом случае причиной болезни служит не инфекция, а усиление действия нормального гена в клетке. Одно из наиболее вероятных объяснений этого феномена заключается в признании того, что “прионизация” белка Prp — процесс вероятностный. Тогда усиление экспрессии гена, приводящее к повышению концентрации белка Prp, повышает вероятность прионизации в пересчете на клетку. А дальше паршивая овца портит все стадо.

Напомним, что сходным образом сверхэкспрессия гена SUP35 у дрожжей вызывает появление в цитоплазме фактора  $\psi$  белковой природы. Этим сходство двух групп явлений не ограничивается. Перенос  $\psi$ -фактора при цитодукции служит аналогом прионной инфекции у позвоночных. В гене Prp позвоночных известны мутации, приводящие к такому же заболеванию, как и прионная инфекция, а в гене SUP35 дрожжей происходят мутации, имеющие почти идентичное проявление с проявлением  $\psi$ . Наконец, Р. Уикнер заметил, что существует сходство в организации генов Prp и SUP35, а следовательно, и кодируемых ими белков. В обоих случаях в N-терминальной части полипептидов обнаружены характерные повторы: 4 — 6 раз повторяются последовательности из одних и тех же 8 — 9 аминокислотных остатков. Эти участки при складывании образуют так называемые  $\beta$ -слои и никогда не образуют  $\alpha$ -спирали. Именно эти участки и отвечают за возможность “прионизации” белков — генных продуктов. С легкой руки Р. Уикнера  $\psi$ -фактор, а также [URE3] дрожжей уже стали называть дрожжевыми прионами.

Таким образом, прионы позвоночных и цитогены дрожжей:

а) имеют несомненное сходство по структуре, характеру наследственной детерминации и т.д.;

б) позволяют проводить взаимодополняющие исследования, более полно вскрывающие природу обоих явлений, и тем самым дрожжи становятся модельным объектом для изучения прионных инфекций и методов их лечения;

в) оба явления, казавшиеся экзотическими при раздельном рассмотрении, указывают на существование в природе ранее неизвестного механизма регуляции активности генных продуктов — белков.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, мы смогли убедиться, что наследственности без ДНК не бывает. Здесь мы не говорили об РНК-содержащих вирусах. Прионы человека и животных и цитогены дрожжей —  $\psi$ , [URE3] — результат вариаций в экспрессии хромосомных генов, приводящих к альтернативным вариантам складывания полипептидных цепей. Возможность такого альтернативного складывания может определяться участками этих белков, закодированных в тех же самых структурных генах. Сравнение близких феноменов у дрожжей и позвоночных показывает, что прионизации могут подвергаться белки, различные по своим функциям. Механизм явления прионизации изучен еще очень слабо, и мы практически ничего об этом не говорили. Здесь стоит только добавить, что уже известно, что процесс прионизации и сохранения прионов в клетке зависит от специальных генов, некоторые из которых отвечают за процесс складывания белков. Исследования, о которых мы рассказали, открывают перспективы для понимания новых молекулярных механизмов регулирования действия белков путем длительно сохраняющейся настройки их активности без изменения первичной структуры, закодированной в ДНК генов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989.
2. Лауреаты Нобелевской премии (Крик Ф.). М.: Прогресс, 1992.
3. Маргелис Л. Роль симбиоза в эволюции клетки. М.: Мир, 1983.
4. Инге-Вечтомов С.Г., Миронова Л.Н., Тер-Аванесян М.Д. // Генетика. 1994. Т. 30. С. 1022.
5. Чернов Ю.О., Деркач И.Л., Дагжесаманская А.Р., Тихомирова В.Л., Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. // ДАН. 1988. Т. 301. С. 1227.
6. Лауреаты Нобелевской премии (Гайдузек Д.К.). М.: Прогресс, 1992.

\* \* \*

Сергей Георгиевич Инге-Вечтомов, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой генетики и селекции Санкт-Петербургского государственного университета, заместитель председателя Президиума Санкт-Петербургского научного центра РАН. Область научных интересов: общая и молекулярная генетика — генетический контроль синтеза белка и точности считывания генетического кода, генетика микроорганизмов (дрожжей), экологическая генетика. Опубликовал более 200 печатных работ в отечественных и международных изданиях, в том числе учебники для университетов “Введение в молекулярную генетику”, “Генетика с основами селекции”.