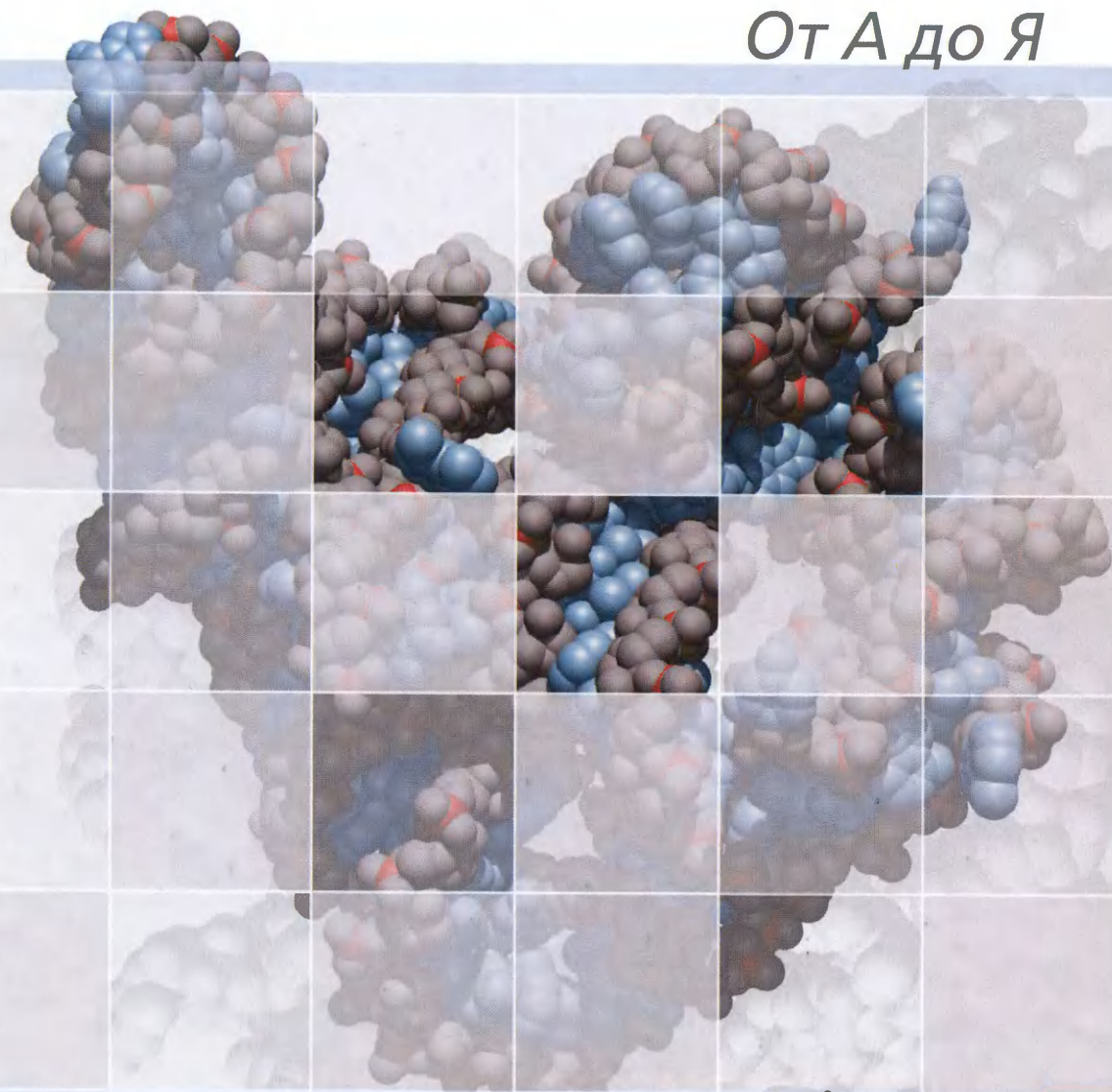


НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

От А до Я



ИЗДАТЕЛЬСТВО

БИНОМ

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Nucleic acids

from A to Z

A Concise Encyclopedia

Edited by
Sabine Müller



**WILEY-
VCH**

WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

От А до Я

Редактор **С. Мюллер**

Пер. с английского канд. биол. наук. А. А. Синюшина
и Ю. В. Киселевой

под редакцией канд. биол. наук. А. А. Быстрицкого
и канд. хим. наук. Е. Г. Григорьевой



Москва
БИНОМ. Лаборатория знаний

УДК 577.113
ББК 28.072я2
Н88

А в т о р ы:

Б. Аппель, Б.-И. Бенеке, Я. Бененсон и др.

Н88 **Нуклеиновые кислоты : От А до Я / Б. Аппель [и др.] ;**
под ред. С. Мюллер ; пер с англ. — М. : БИНОМ. Лаборатория
знаний, 2013. — 413 с. : ил., [8] с. цв. вкл.

ISBN 978-5-9963-0376-2

В научном издании, написанном коллективом авторов из Германии и других европейских стран, а также из России, США и Израиля, на современном уровне рассмотрены практически все аспекты, связанные со строением, синтезом, модификацией, функционированием ДНК и РНК. Даны определения ключевых биохимических терминов и понятий, а также некоторые механизмы в сопровождении наглядных рисунков и схем. Книгу можно использовать как настольное справочное издание в научной лаборатории и учебном процессе.

Для научных сотрудников (в том числе в смежных областях), преподавателей, студентов.

УДК 577.113
ББК 28.072я2

Первый тираж осуществлен при финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований по проекту № 11-03-07012

Научное издание

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

От А до Я

под ред. С. Мюллер

Ведущий редактор канд. хим. наук *Т. И. Почкаева*

Редактор канд. биол. наук *Т. Е. Толстухина*

Художник *Н. А. Новак*

Технический редактор *Е. В. Денюкова*. Корректор *Н. Н. Устякова*

Компьютерная верстка: *В. А. Носенко*

Подписано в печать 15.11.12. Формат 70×100/16.

Усл. печ. л. 33,80. Тираж 700 экз. Заказ 1693.

Издательство «БИНОМ. Лаборатория знаний»

125167, Москва, проезд Аэропорта, д. 3

Телефон: (499) 157-5272, e-mail: binom@Lbz.ru, <http://www.Lbz.ru>

Отпечатано в ООО ПФ «Полиграфист»,

160001, г. Вологда, ул. Челюскинцев, 3.

© Originally published in the English language
by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA,
Boschstraße 12, D-69469 Weinheim, Federal
Republic of Germany, under the title "Nucleic
Acids from A to Z. A Concise Encyclopedia".
Copyright 2008 by WILEY-VCH
Verlag GmbH & Co. KGaA.

© Перевод на русский язык, оформление,
БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013

ISBN 978-5-9963-0376-2

Предисловие

С момента открытия двойной спирали ДНК в 1953 г. строение и функции нуклеиновых кислот стали одной из главных тем исследований в молекулярной биологии. Благодаря этому на сегодняшний день мы располагаем подтвержденными данными о связи структуры и функций нуклеиновых кислот, а также о многих важных параметрах их регуляции. Именно поэтому данная область стала бурно развиваться, особенно в последние два десятилетия. Основные открытия касаются рибозимов, явления РНК-интерференции и множества других функций малых некодирующих РНК в клетке. Олигонуклеотиды уже применяются как лекарственные средства, а конъюгаты олигонуклеотидов играют важную роль в медицинской диагностике в качестве нерадиоактивных меток. В это же время значительных успехов достигла химия нуклеиновых кислот — появилась возможность синтезировать длинные олигонуклеотиды ДНК и РНК любой последовательности в количестве от микрограммов до нескольких граммов. Это дает ученым важные инструменты для исследований в молекулярной биологии, биохимии и медицине. Синтез олигонуклеотидов используется в различных научных исследованиях, например для связывания и правильного расположения функциональных групп в молекулярных ансамблях, при создании новых материалов из агрегатов наночастиц с олигонуклеотидами. В настоящее время можно заметить, что нуклеиновым кислотам уделяется особое внимание в самых разных областях науки.

В этой книге предпринята попытка собрать воедино накопленные знания, дать определения и объяснить понятия, связанные с нуклеиновыми кислотами. Издание «Нуклеиновые кислоты» было задумано как краткая энциклопедия, охватывающая все аспекты исследований нуклеиновых кислот в различных научных областях.

Когда Frank Weinreich из Wiley-VCH предложил мне возглавить этот проект, я обрадовалась и решила, что идея обобщить в одной книге всю информацию о нуклеиновых кислотах очень привлекательна. Позже, разрабатывая концепцию издания и собирая ключевые слова, я осознала, насколько грандиозна задача, стоящая передо мной. Ведь только терминов, связанных с РНК, хватит на целую книгу. И то же самое касается ДНК — как генетического материала, как лекарственных средств, как строительных блоков для молекулярных устройств, наноструктур или функциональных единиц. А ведь есть еще синтез нуклеиновых кислот, ферменты, катализирующие реакции нуклеиновых кислот, и молекулы, взаимодействующие с нуклеиновыми кислотами, применение нуклеиновых кислот и методы анализа их структуры и функций — и все это следовало включить в энциклопедию. И при этом надо не забыть про производные нуклеиновых кислот и структуры, связанные ними.

Я далека от мысли, что энциклопедия получилась исчерпывающей. И все же я надеюсь, что в книге уделено достойное внимание большинству терминов, связанных с нуклеиновыми кислотами из различных областей ис-

исследований. Моей целью было собрать в одной книге знания о нуклеиновых кислотах из аналитической химии, биохимии, генетики, молекулярной медицины, нанотехнологии, супрамолекулярной химии, химического синтеза, теоретической и структурной биологии. Я могла проглядеть важный термин, вполне возможно, что то или иное понятие в книге отсутствует. Пожалуйста, если заметите, сообщите мне об этом.

Конечно же, такую книгу не мог написать один автор. И я хочу выразить признательность всем принявшим участие в проекте авторам, благодаря стараниям и высокому профессионализму которых стало возможным издание этой книги. Я особенно признательна Mauro Santos, Milan Stojanovic и Stefan Vörtler, они вместе сделали гораздо больше, чем я смела надеяться. Большое спасибо моим коллегам Bettina Appel, Valeska Dombos, Irene Drude, Slawomir Gwiazda, Matthäus Janczyk, Denise Strohbach, Jörn Wolf и Stéphanie Vauléon, они поддерживали меня во время осуществления проекта и очень помогли довести рукопись до окончательного варианта. Я благодарю Fritz Eckstein за полезные советы в начале работы. И наконец, но не в последнюю очередь, я хочу выразить признательность редакционному коллективу из Wiley-VCH — Frank Weinreich, который вдохновил меня на редактирование этой книги, Bettina Bems, Tim Kersebohm и Stefanie Volk за помощь в подготовке рукописи, Ray Loughlin за редактирование текста, Claudia Grössl за плодотворное сотрудничество при оформлении книги и их всех вместе за бесконечное терпение и поддержку.

Я надеюсь, что многим ученым, преподавателям и студентам университетов и всем интересующимся этой тематикой данная книга послужит ценным источником информации по нуклеиновым кислотам с позиций разных областей науки.

Грайфсвальд, январь 2008 г.

Сабина Мюллер

Авторы

Dr. Bettina Appel

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Prof. Dr. Bernd-Joachim Benecke

Ruhr-Universität Bochum, 44780 Bochum, Germany

Dr. Yaakov Benenson

Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA

Dipl.-Chem. Lucas Bethge

Humboldt-Universität zu Berlin, 12489 Berlin, Germany

Dr. Susanne Brakmann

Universität Dortmund, 44227 Dortmund, Germany

Д-р хим. наук Н. Г. Долиная

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Химический факультет, 119991 Москва, Россия

Dipl.-Chem. Valeska Dombos

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Dipl.-Biochem. Irene Drude

Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie, 44227 Dortmund, Germany

Dr. Pierre Fechter

UPR 9002-ARN, ULP, CNRS

Institute de Biologie Moléculaire et Cellulaire du CNRS, 67084 Strasbourg, France

Prof. Dr. Hans-Joachim Fritz

Georg-August-Universität, Göttingen, 37077 Göttingen, Germany

Dr. Boris Fürtig

Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt, 60438 Frankfurt, Germany

Prof. Dr. Roser González-Duarte

Universitat de Barcelona, 08028 Barcelona, Spain

Dipl.-Chem. Tom Grossmann

Humboldt-Universität zu Berlin, 12489 Berlin, Germany

Dipl.-Biochem. Slawomir Gwiazda

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Prof. Dr. Uli Hahn

Universität Hamburg, 20146 Hamburg, Germany

Prof. Dr. Roland Hartmann

Philipps-Universität Marburg, 35032 Marburg, Germany

Prof. Dr. Christian Herrmann

Ruhr-Universität Bochum, 44780 Bochum, Germany

Dr. Ivo Hofacker

Universität Wien, 1090 Wien, Austria

Dipl.-Biochem. Matthäus Janczyk

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Prof. Dr. Andres Jäschke

Universität Heidelberg, 69120 Heidelberg, Germany

Dr. Hans-Werner Junghans

Universität Konstanz, 78457 Konstanz, Germany

Prof. Dr. Evgeny Katz

Clarkson University, Potsdam, NY 13699-5810, USA

Dr. Sven Klussmann

NOXXON Pharma AG, 10589 Berlin, Germany

Prof. Dr. Eric T. Kool

Stanford University, Stanford, CA 94305, USA

Dr. Andrew T. Krueger

Stanford University, Stanford, CA 94305, USA

Д-р хим. наук Е. А. Кубарева

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, 119991 Москва, Россия

Dr. Jens Kurreck

Universität Stuttgart, 70569 Stuttgart, Germany

Dr. David Loakes

MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, CB2 2QH, United Kingdom

Dr. Gemma Marfany

Universitat de Barcelona, 08028 Barcelona, Spain

Prof. Dr. Andreas Marx

Universität Konstanz, 78457 Konstanz, Germany

Д-р хим. наук В. Г. Метелев

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, 119991 Москва, Россия

Prof. Dr. Ronald Micura

Leopold-Franzens-Universität, 6020 Innsbruck, Austria

Prof. Dr. Mario Mörl

Universität Leipzig, 04103 Leipzig, Germany

Prof. Dr. Sabine Müller

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Prof. Dr. Franz Narberhaus

Ruhr-Universität Bochum, 44780 Bochum, Germany

Prof. Dr. Wolfgang Nellen

Universität Kassel, 34109 Kassel, Germany

Mark Olah

University of New Mexico, Albuquerque, NM 87131, USA

Проф., д-р Т. С. Орецкая

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Химический факультет, 119991 Москва, Россия

Dr. Tina Persson

Lund University, 22100 Lund, Sweden

Dr. Nicolas Piganeau

Universität Hamburg, 20146 Hamburg, Germany

Prof. Dr. Tobias Restle

Universität zu Lübeck, 23538 Lübeck, Germany

Dipl.-Chem. Lars Röglin

Humboldt-Universität zu Berlin, 12489 Berlin, Germany

Dr. Pascale Romby

UPR 9002-ARN, ULP, CNRS

Institute de Biologie Moléculaire et Cellulaire du CNRS, 67084 Strasbourg, France

Dr. Paul W. K. Rothemund

California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125, USA

Prof. Dr. Mauro Santos

Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona), Spain

Dr. Olav Schiemann

University of St. Andrews, St. Andrews, KY 169ST, United Kingdom

Prof. Dr. Harald Schwalbe

Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt, 60438 Frankfurt, Germany

Prof. Dr. Georg Sczakiel

Universität zu Lübeck, 23538 Lübeck, Germany

Prof. Dr. Nadrian C. Seeman

New York University, New York, NY 10003, USA

Prof. Dr. Claus Seidel

Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, 40225 Düsseldorf, Germany

Prof. Dr. Oliver Seitz

Humboldt-Universität zu Berlin, 12489 Berlin, Germany

Проф., д-р хим. наук П. В. Сергеев

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Химический факультет, 119991 Москва, Россия

Prof. Dr. Roland K. O. Sigel

Universität Zürich, 8057 Zürich, Switzerland

Prof. Dr. Snorri Thor Sigurdsson

University of Iceland, 101 Reykjavik, Iceland

Dr. Adam Silvermann

Stanford University, Stanford, CA 94305, USA

Dr. Rajesh Kumar Singh

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Dr. Andreas Springer

Freie Universität Berlin, 14195 Berlin, Germany

Prof. Dr. Peter Stadler

Universität Leipzig, 04107 Leipzig, Germany

Prof. Dr. Darko Stefanovic

University of New Mexico, Albuquerque, NM 87131, USA

Prof. Dr. Milan Stojanovic

Columbia University, New York, NY 10032, USA

Dr. Denise Strohbach

Ruhr-Universität Bochum, 44780 Bochum, Germany

Dr. Beatrix Süß

Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Frankfurt, 60438 Frankfurt, Germany

Prof. Dr. Eörs Szathmáry

Collegium Budapest, 1014 Budapest, Hungary

Dr. Stéphanie Vauléon

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Dr. Stefan Vörtler

Universität Bayreuth, 95447 Bayreuth, Germany,

Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht

Universität Regensburg, 93053 Regensburg, Germany

Dr. Markus Wahl

Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, 37077 Göttingen, Germany

Prof. Dr. Elmar Weinhold

Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen (RWTH), 52056 Aachen, Germany

Prof. Dr. Klaus Weisz

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Dr. Rüdiger Welz

Yale University, New Haven, CT 06520-8120, USA

Prof. Dr. Jesper Wengel

University of Southern Denmark, 5230 Odense, Denmark

Dr. Annegret Wilde

Humboldt-Universität zu Berlin, 10115 Berlin, Germany

Dr. Dagmar Willkomm

Philipps-Universität Marburg, 35032 Marburg, Germany

Prof. Dr. Erik Winfree

California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125, USA

Dipl.-Chem. Jörn Wolf

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, 17487 Greifswald, Germany

Prof. Dr. Ada Yonath

Weizmann Institute of Science, 76100 Rehovot, Israel

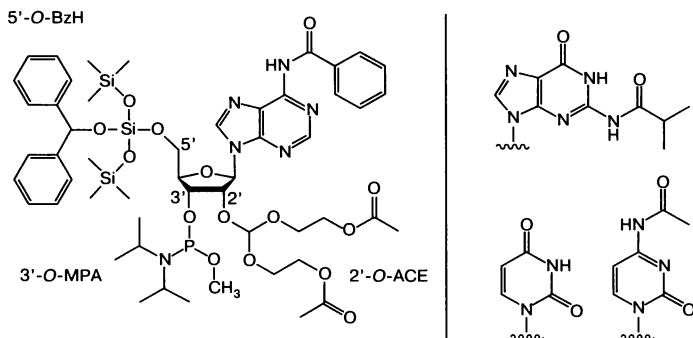
А

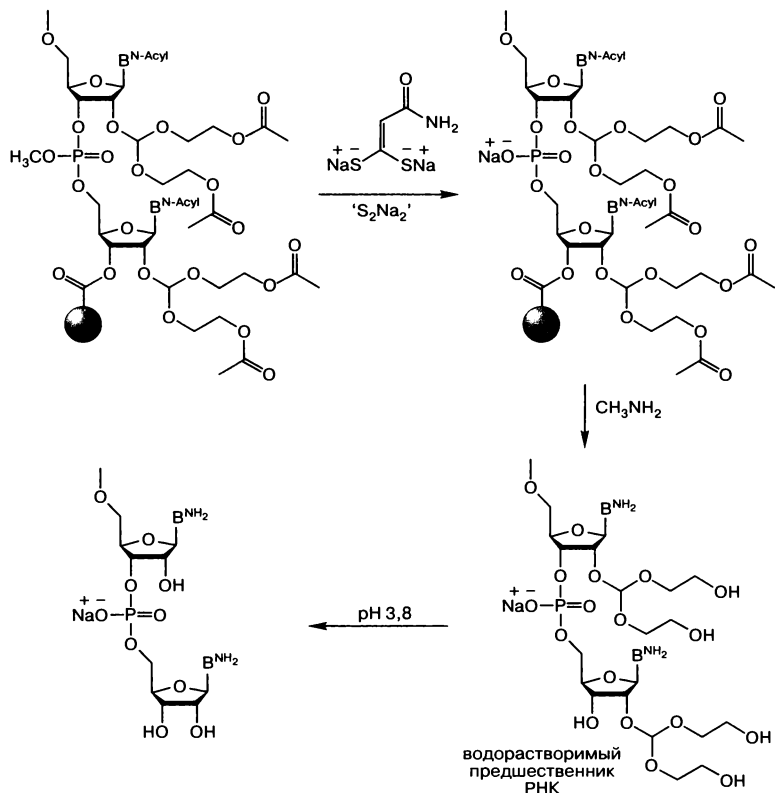
А. См. *аденин, однобуквенный код.*

АА-платформа. Структурный мотив в молекуле РНК, состоящий из двух последовательных остатков *аденозина*, которые расположены в одной плоскости.

АСЕ-метод. Позволяет осуществлять химический твердофазный синтез *олигорибонуклеотидов*. Назван так из-за молекулы, защищающей 2'-гидроксильную группу нуклеозида — бис(ацетоксиэтокси)метильной группы (АСЕ-группы). Этот метод был впервые предложен в 1998 г. и основан на фосфорамидитном связывании (см. *фосфорамидитный метод*) избирательно защищенных нуклеозидных блоков. Подход основан на том, что умеренно кислые водные растворы идеальны для финального удаления защитной группы с 2'-О синтезируемой РНК. Используются две ортогональные *защитные группы*: неустойчивый в растворах высокой ионной силы фторсодержащий эфир кремниевой кислоты в 5'-О-положении и неустойчивый в кислой среде ортоэфир в 2'-О-положении. Положение 3'-О модифицировано (N,N-диизопропиламино)метоксифосфинильным остатком, поскольку часто используемая цианоэтоксифосфинильная группа нестабильна в присутствии соединений фтора, необходимых при элонгации цепи. Структуры фосфорамидитных производных нуклеотидов приведены на рисунке ниже.

Синтез олигонуклеотидов протекает со скоростью около 2 нуклеотидов в минуту и выходом, превышающим 99%. После синтеза группы, защищающие фосфат, удаляют с помощью тригидрата динатриевой соли 2-карбамоил-2-цианоэтилен-1,1-дитиолата. Этот этап несколько ограничивает спектр модификаций, которые могут быть введены в структуру олигорибонуклеотидов, по сравнению с альтернативными методами синтеза РНК (*ТОМ, TBDMS*), в которых такая обработка не требуется. Основные условия (40%-й водный раствор MeNH_2) приводят к высвобождению из твердой фазы и отделению ацильных защитных групп, а также (что особенно важно) ацетильных групп на 2'-ортоэфирах. Образующиеся 2'-О-бис(2-гидроксиэтокси)метильные





ортоэфиры в 10 раз менее устойчивы в кислотах, чем до удаления ацетильных групп. Для завершающего снятия защитных групп достаточно умеренно кислотных условий (pH 3,8, 30 мин, 60 °C) с последующей короткой обработкой при pH 8,7 (для усиления гидролиза промежуточных 2'-О-формильных форм). Возможность получения 2'-О-бис(2-гидроксиэтилокси)метильных производных олигорибонуклеотидов является важным достоинством метода ACE, так как эти предшественники РНК водорастворимы, доступны для анализа методом *ВЭЖХ* и при необходимости могут быть очищены. Особенно важно, что 2'-О-бис(2-гидроксиэтилокси)метильная защита нарушает *вторичную структуру*, делая РНК устойчивой к воздействию *нуклеаз* и иным видам деградации. Это облегчает работу с такими РНК и делает возможным их длительное хранение.

Для обеспечения синтеза олигорибонуклеотидов с высокими структурной однородностью, чистотой и биологической активностью строение 5'-О-силиловых эфиров и 2'-О-ортоэфиров было оптимизировано. С использованием коммерческих синтезаторов (см. *ДНК-синтезаторы*) метод ACE дает возможность рутинного получения олигорибонуклеотидов длиной до 60 пар оснований, независимо от последовательности или вторичной структуры. Метод ACE позволяет синтезировать РНК более чем 90%-й чистоты в количествах от миллиграммов до килограммов и успешно поставлен на коммерческую основу (Dharmacon Inc.).

Ronald Micura

AP-сайт. См. *сайт, лишенный основания*.

Argonaute. Основной компонент *RISC*, эффекторного комплекса при *РНК-интерференции*. У плодовой мушки известны два гомолога белков Argonaute. Ago2 ассоциируется с *малыми интерферирующими РНК* в *RISC* и осуществляет расщепление *матричной РНК* (мРНК). Ago1 ассоциируется с *микроРНК* и выполняет функцию ингибитора *трансляции* мРНК-мишени.

Nicolas Piganeau

атас-сплайсинг. Сплайсинг *интронов*, маркированных неканоническими *консенсусными последовательностями* сайтов сплайсинга. Эти «редкие» интроны были найдены в целом ряде *генов* многоклеточных организмов. Последовательности сайта сплайсинга этих интронов в основном состоят из нуклеотидных пар АТ (5'-сайт сплайсинга) и АС (3'-сайт сплайсинга), что и послужило причиной для обозначения их как атак-интронов. Так как в вырезании этих редких интронов участвует *малый ядерный рибонуклеопротеин* (мяРНП) U12 вместо обычного U2-мяРНП, они также получили название *интронов U12-типа*. Вместе с еще тремя редкими *U-мяРНП* (U11, U4atac и U6atac) U12-мяРНП составляют *малую сплайсому*. У позвоночных частота встречаемости интронов типа U12 составляет около 0,2% по сравнению с основными GT–AC интронами, которые сейчас чаще называют интронами U2-типа.

Bernd-Joachim Benecke

АТ-состав. Содержание пар оснований аденин–тимин в двуцепочечной молекуле нуклеиновой кислоты (см. *GC-состав*).

А-ДНК. Правозакрученная двойная спираль, стабилизированная *уотсон-криковскими парами оснований*. Это один из нескольких типов вторичных структур, которые ДНК может принимать в зависимости от внешних факторов. В отличие от В-формы А-ДНК образуется в условиях низкой относительной влажности. Данный тип двойной спирали детально охарактеризован методом рентгеноструктурного анализа. Реагенты, которые стимулируют кристаллизацию биомолекул, приводят к их дегидратации, способствуя тому, что многие ДНК в кристаллическом состоянии принимают А-форму. В А-ДНК антипараллельные полинуклеотидные цепи закручены в меньшей степени, чем в В-ДНК. На виток спирали приходится 11–12 нуклеотидных пар, что соответствует углу спирального вращения 30–32,7°. Расстояние между соседними фосфатными группами составляет 5,9 Å. Плоскости спаренных оснований отклоняются от перпендикуляра и к спиральной оси на 13–20°. Кроме того, они смещены к периферии двойной спирали, оставляя внутри полый цилиндр диаметром 3 Å и образуя глубокий большой и мелкий *малый желобки*. Ось спирали проходит через *большой желобок* и не пересекает пары оснований. В отличие от ДНК в В-форме, для которой характерны зависящие от нуклеотидной последовательности модуляции локальной структуры, нуклеотидные остатки в А-ДНК имеют одинаковые структурные черты. Однако основным различием между этими двумя формами двойных спиралей является *конформация* фуранозных циклов: в А-ДНК все они

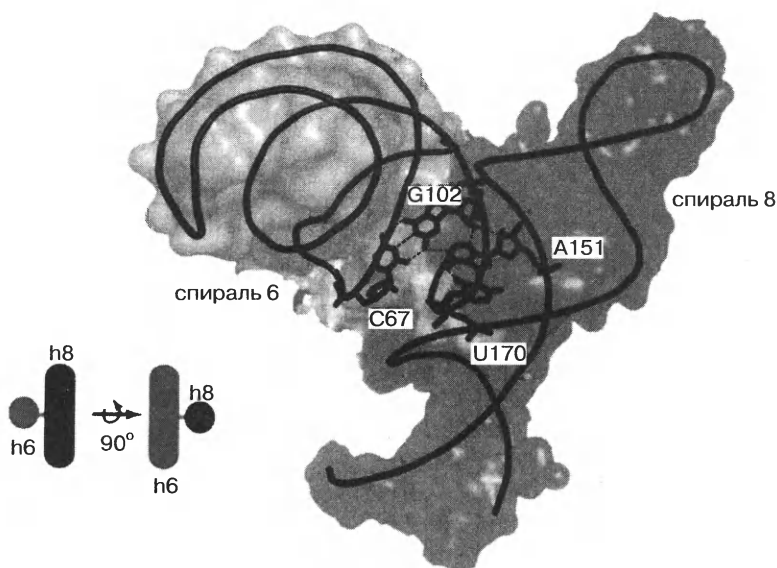
имеют СЗ'-эндо-конформацию, в то время как в В-ДНК — С2'-эндо. Кооперативный переход из В- в А-форму происходит при повышении ионной силы раствора или при понижении относительной влажности, например при добавлении спирта в водную среду. Этот переход имеет важное биологическое значение, поскольку во многих белково-нуклеиновых комплексах ДНК может находиться в А-форме. А-ДНК, близкая по своим структурным параметрам к А-РНК, является единственным представителем А-семейства. Гибридные двойные спирали ДНК-РНК также принадлежат к А-семейству и не способны переходить в формы В-семейства. Это свидетельствует о том, что структурный консерватизм РНК сохраняется даже в случае, когда одна из цепей двойной спирали — дезоксирибонуклеотидная (см. *структуры ДНК*).

Н. Г. Долиная

А-минорный мотив. Один из наиболее интересных мотивов *третичной структуры РНК*. Он встречается, например, в *молотоголовом рибозиме*, домене Р4-Р6 *интрона I группы* и в *рибосомной РНК*. Он представляет собой особого рода *взаимодействие «нуклеотид-нуклеотид»*, включающее ассоциацию между *азотистыми основаниями* и *рибозой* в составе *нуклеотида*.

Мотив состоит из одноцепочечного *аденина*, который связан *водородными связями* и *ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями* с функциональными группами пар А-У или Г-С, смотрящим в *малый желобок*. Существует два типа А-минорного мотива. В типе I аденин взаимодействует с обоими нуклеотидами пары, а в типе II — только с одним нуклеотидом из двух, образующих пару.

Boris Fürtig, Harald Schwalbe



См. рис. I на цветной вклейке

А-платформа. См. *АА-платформа*.

А-форма РНК. Тип двуцепочечной спиральной структуры РНК, существующей в виде *дуплекса*. *Двойная спираль* А-формы РНК сходна по параметрам с молекулой ДНК А-семейства (см. *А-ДНК*).

Sabine Müller

В

В. От англ. *base* (основание). См. *азотистое основание, однобуквенный код*.

ВАС. См. *бактериальная искусственная хромосома*.

bar (ген). Обуславливает устойчивость к гербициду биалафосу, исходно клонирован из *Streptomyces hygrosopicus*. Кодирует фермент фосфинотрицин-ацетилтрансферазу.

Mauro Santos

В-ДНК. Наиболее стабильная в физиологических условиях двухспиральная правозакрученная структура с *антипараллельной ориентацией цепей*, которая образуется ДНК случайной последовательности (также называемая *уотсон-криковской спиралью*). В-ДНК, вместе с С- и D- формами принадлежит В-семейству. Ось спирали в В-ДНК проходит почти через центр пар оснований (смещение пар в сторону *большого желобка* составляет $-0,2 \text{ \AA}$), которые располагаются практически перпендикулярно к оси с небольшим отрицательным наклоном -6° . *Большой и малый желобки* имеют примерно одинаковую глубину. На виток спирали в В-форме приходится 10,5 пар оснований (в растворе); в кристаллическом состоянии порядок спирали составляет 10 пар из-за ограничений, обусловленных кристаллической упаковкой. Расстояние между основаниями вдоль оси спирали составляет $3,4 \text{ \AA}$, а расстояние между фосфатными группами одной цепи — 7 \AA . Для В-ДНК характерна систематическая модуляция структуры, зависящая от нуклеотидной последовательности, которая включает изменение углов *спирального вращения* и *крена* пар оснований, а также вариации в значениях торсионных углов *сахарофосфатного остова*. Преобладающая конформация фуранозного цикла — *С2'-эндо* или близкая к ней *С3'-экзо*. В-форма двойной спирали является основной биологически значимой *вторичной структурой ДНК*, которая сохраняется и тогда, когда ДНК обвивает гистоновый кор нуклеосом.

Н. Г. Долинная

В-хромосомы. Небольшие *хромосомы* в ядрах некоторых эукариотических организмов, не имеющие гомологов среди нормальных (А) хромосом. В-х. считаются паразитическими элементами, которые наследуются не по менделевским законам и накапливаются в потомстве их носителей.

Mauro Santos

С

С. См. *цитозин, однобуквенный код*.

СААТ-бокс. Часть *консервативной последовательности*, расположенная на расстоянии 75–80 п. н. *выше* точки начала *транскрипции* у эукариот. СААТ-бокс распознается многими *транскрипционными факторами*.

Mauro Santos

ССА-«хвост». Консервативный одноцепочечный 3'-концевой фрагмент *транспортной РНК*, образующий окончание *акцепторного плеча*. *Рибоза* в концевом аденине присоединяется в ходе ацилирования к аминокислоте; тем самым осуществляется активация трансляции. Спаривание оснований *рибосомной РНК* и двух остатков цитидина обеспечивает правильное положение этого сайта, чем объясняется высокая консервативность ССА-«хвоста» и его важность с точки зрения механизма процесса. Специальные ферменты поддерживают целостность ССА-«хвоста» в течение жизни тРНК или даже присоединяют его к вновь синтезированной эукариотической тРНК, поскольку он не кодируется в *пре-мРНК транскрипте*.

Stefan Vörtler

***cdc* гены.** Кодируют белки (циклинзависимые киназы, англ. cyclin-dependent kinases), которые регулируют цикл клеточных делений у эукариот.

«С-Н» сторона. См. *взаимодействие азотистых оснований*.

СоТС-рибозим. Каталитическая структура РНК, обнаруженная в *матричной РНК* (мРНК) *гена* β-глобина человека. Было показано, что *терминация транскрипции* происходит в этом гене путем котранскрипционного расщепления (СоТС, от англ. *co-translational cleavage* — котрансляционное расщепление). Первичное расщепление происходит за сайтом *поли(А)*, включает саморасщепляющую активность РНК и играет важную роль в эффективной терминации *in vivo*.

Sabine Müller

СРГ. Стекло с контролируемым размером пор. См. *твердофазный носитель*.

СрG-богатые олигонуклеотиды. Олигонуклеотиды *ДНК*, содержащие *СрG-островки*; известны как активаторы внутреннего иммунитета и В-клеток у позвоночных. Эту индукцию можно объяснить тем, что неметилированные СрG-динуклеотиды чаще встречаются в ДНК вирусов и бактерий, чем в *геномах* млекопитающих; такие последовательности оказываются сигналом об инфекции для иммунной системы. Эффективность активации иммунитета зависит от последовательности, фланкирующей СрG-мотив. Олигонуклеотиды, содержащие СрG-динуклеотиды, распознаются Toll-подобным рецептором 9 и индуцируют секрецию различных цитокинов, в том числе интерлейкинов, фактора некроза опухолей и интерферона. Большинство *антисмысловых олигонуклеотидов*, в настоящее время проходящих этап клинических испытаний, содержат СрG. Поэтому предполага-

ется, что их основное действие *in vivo* заключается в иммуностимуляции, а не в специфическом ингибировании экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) по истинно антисмысловому механизму. Это неспецифическое действие может быть нивелировано метилированием атома C5 в остатке *цитозина*. Стимулирующий потенциал CpG-богатых олигонуклеотидов был изучен с целью активации иммунной системы при терапии вирусных инфекций, воспалительных процессов и онкологических заболеваний. Некоторые перспективные клинические испытания проходят в настоящее время.

Jens Kurreck

CpG-олигонуклеотиды. См. *CpG-богатые олигонуклеотиды*.

CpG-островки. Области в ДНК с высоким содержанием остатков *цитидина* и *гуанозина*, связанных *фосфодиэфирными связями*. Буква «р» в обозначении используется для того, чтобы не спутать CpG с *GC-составом*, под которым понимают долю уотсон-криковских пар G-C в молекуле ДНК или нуклеотидной последовательности *генома*. Многие *гены* позвоночных несут CpG-островки вблизи промоторной области, что предположительно связано с ролью этих островков в регуляции экспрессии генов (см. *гена экспрессия*).

Mauro Santos

С-ДНК. *Правозакрученная двойная спираль*, принадлежащая В-семейству; идентифицирована в волокнах ДНК методом дифракции рентгеновских лучей при особом сочетании солевых условий и влажности. Показано, что С-ДНК образуется при выдерживании литиевой соли природной ДНК в условиях низкой относительной влажности (44–66%) или при использовании высокой концентрации ионов натрия в качестве противоионов и значений влажности промежуточных тем, которые благоприятствуют образованию В- и А-форм. Еще один фактор, облегчающий переход из В- в С-конформацию, — низкое содержание пар G-C. Эта форма близка по структурным параметрам к В-ДНК, но сильнее закручена вокруг спиральной оси: на виток спирали приходится 9–9,3 пар оснований, которые отклоняются на –8° от перпендикуляра к оси спирали. Как и в В-ДНК, преобладающей конформацией остатков сахара является С2'-*эндо*. Ось спирали смещена в сторону *малого желобка*, в результате чего большой желобок оказывается несколько более мелким, а малый — более глубоким. Переходить в С-форму могут не только природные ДНК, но и синтетические полинуклеотиды с определенной последовательностью оснований.

Н. Г. Долинина

С-цепь. См. *кодирующая цепь*.

D

dA. См. *2'-дезоксиаденозин*.

Dam. См. *ДНК метилирование*.

dG. См. 2'-дезоксигуанозин.

DHU-плечо. Дигидроуридиловая петля в молекуле транспортной РНК, которая имеет конформацию «клеверного листа».

Dicer. Эукариотическая эндонуклеаза, специфичная к двуцепочечной РНК. Расщепление приводит к образованию РНК-дуплексов длиной от 21 до 26 п. н. с выступающими динуклеотидными 3'-концами. D. участвует в процессе созревания малых интерферирующих РНК из двуцепочечных РНК и миРНК из пре-миРНК (см. РНК-интерференция).

Nicolas Piganeau

Drosha. Эукариотическая эндонуклеаза, специфичная к двуцепочечной РНК и содержащая два tandemно расположенных домена РНКазы III. Образуется двухнуклеотидные выступы на 3'-концах в сайте расщепления. Этот фермент участвует в процессе созревания пре-миРНК из при-миРНК (см. ми-РНК).

Nicolas Piganeau

D-ДНК. Одна из форм ДНК, принадлежащая к В-семейству. Образуется только ДНК, содержащей участки с чередующейся динуклеотидной последовательностью d(AT)_n, и ДНК фага T2, которую отличает высокая степень модификации оснований. Природные ДНК не образуют двойные спирали в D-форме. По сравнению с В-ДНК эта спиральная форма закручена значительно сильнее; на виток спирали приходится всего восемь пар оснований, и соответственно угол спирального вращения между ними составляет 45°. Ось спирали проходит через малый желобок и смещена на -1,8 Å от центра пары, а угол наклона пар оснований относительно перпендикуляра к оси достигает -16° в отличие от +20° для А-ДНК. Большой желобок становится более мелким, чем у В- и С-ДНК, а малый желобок — очень глубоким и узким, представляя удобную полость для размещения молекул воды и катионов, которые могут образовывать поперечные мостики, стабилизирующие D-форму. В отличие от кооперативного перехода от В- к А-форме, конформационный переход от В- к D-ДНК происходит постепенно, что свидетельствует об отсутствии энергетического барьера при изменении вторичной структуры внутри В-семейства.

Н. Г. Долинная

D-петля. 1. Дигидроуридиловая петля в молекуле транспортной РНК.
2. Петля смещения.

E

EGS. См. внешняя гидовая последовательность.

EST. См. маркерная экспрессирующаяся последовательность.

ex vivo перенос генов. В генной терапии термин относится к процедуре переноса гена в изъятые из организма пациента клетки, которые куль-

тивируют и модифицируют в условиях *in vitro*, а затем возвращают в организм. Такой подход позволяет провести более эффективную оценку успешности переноса и экспрессии целевого гена (см. *гена экспрессия*), чем при переносе *in vivo*. См. *гена перенос*.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Е-ДНК. Специфическая *конформация* молекулы ДНК, не содержащей остатков *гуанина* и потому наблюдаемой лишь в условиях *in vitro*. Образует правозакрученную спираль (см. *правосторонняя ДНК*), содержащую 7,5 остатков на *виток спирали*.

Sabine Müller

Е-сайт. См. *рибосома*.

F

FISH. От англ. *fluorecence in situ hybridization* — флуоресцентная *in situ* гибридизация (см. *in situ гибридизация*).

f-Met-тРНК. См. *формилметионил-тРНК, рибосома*.

FRET. От англ. *Förster fluorescence resonance energy transfer* (*флуоресцентный резонансный перенос энергии Фёрстера*). См. *флуоресцентная спектроскопия нуклеиновых кислот*.

G

G. См. *гуанин, однобуквенный код*.

GAAA-тетрапетли рецептор. Структурный мотив РНК, состоящий из 11 нуклеотидов и обеспечивающий специфический *сайт связывания* для *тетрапетель* последовательности GAAA.



gag гены. *gag* — от англ. «group-specific antigen» (группоспецифичный антиген); относится к *генам*, кодирующим основные структурные белки ретровирусов. Белки Gag — быстро эволюционирующие структурные компоненты ретровирусов и *ретротранспозонов с длинными концевыми повторами*, важные для образования вирусных частиц при размножении вирусов. Недавние исследования *генома* человека выявили в нем 85 *gag*-подобных ге-

нов, которые кодируют около 100 «одомашненных» белков Gag с различными функциями.

Mauro Santos

гар-гены. *Гены*, мутации в которых вызывают прерывание сегментации в эмбриональном развитии. У *Drosophila* переднезадняя полярность яйцеклетки определяет переднезаднюю полярность всех последующих стадий развития. Материнские гены, экспрессирующиеся в яичниках матери, образуют *матричные РНК*, которые накапливаются в различных частях яйцеклетки. Эти мРНК кодируют регуляторные белки (Bicoid, Hunchback, Nanos и Caudal), которые при диффузии образуют градиенты в переднезаднем направлении и влияют на уровень экспрессии определенных генов в сформировавшейся зиготе. Зиготические гены, регулируемые этими материнскими факторами, называются гар-генами. К примерам их забавных названий относятся *hunchback* («горбун»), *krüppel* («калека»), *giant* («великан»), *tailless* («бесхвостый»), *knirps* («малыш»).

Mauro Santos

ГС-АТ правило. Гуанин всегда образует пару с цитозином. Аденин всегда образует пару с тиминном в двойной спирали ДНК. См. *Чаргаффа правило*.

ГС-состав. Содержание гуанина и цитозина выражают в процентах. Этот параметр относится к содержанию пар оснований G-C в двуцепочечной ДНК или РНК. Мольная доля АТ (в %) в сумме с мольной долей ГС дает 100% для любой двуцепочечной нуклеиновой кислоты. Пара G-C стабилизируется тремя водородными связями. Вследствие этого связь ГС сильнее и более устойчива к денатурации (например, при термической денатурации) по сравнению со связью АТ. Следовательно, плавление нуклеиновой кислоты, обогащенной парами G-C, требует большего количества энергии, чем плавление АТ-обогащенной нуклеиновой кислоты. Помимо температуры плавления ГС-состав также определяет плотность, вращательную упругость и гибкость двойной спирали. Чем больше G-C-пар содержит нуклеиновая кислота, тем она плотнее и жестче. Напротив, высокое содержание АТ (см. АТ-состав) коррелирует с низкой температурой плавления, высокой гибкостью и более низкой плотностью нуклеиновой кислоты. Измерение температуры плавления двойной спирали методом УФ-спектроскопии позволяет оценить ГС-состав двуцепочечных нуклеиновых кислот. С другой стороны, различие в плотности нуклеиновых кислот можно использовать для выделения или разделения различных фракций в градиенте плотности CsCl, например для разделения сателлитной ДНК и хромосомной ДНК. Генетики используют ГС-состав для характеристики генома любого организма или любой ДНК или РНК. В таксономии этот параметр может быть использован для классификации организмов. В масштабах протяженных геномных последовательностей различные гены могут быть описаны по своему ГС-составу по сравнению с остальным геномом. Экзоны генов чаще бывают ГС-богатыми, в то время как интроны обычно обогащены А и Т. В экспериментах с использованием полимеразной цепной реакции ГС-состав в праймерах важен для определения их температуры отжига на матрице.

Valeska Dombos

гается при 30 мкМ GlcN6P. Интересно, что скорость вырезания в растворе трис-буфера достигает значений 10^{-3} мин $^{-1}$. Это позволяет предположить, что трис может замещать GlcN6P при активации рибозима. Тем не менее рибозим различает наиболее близкие метаболические соединения, такие как глюкозамин (GlcN), который запускает разрезание РНК с пониженной скоростью ($3 \cdot 10^{-2}$ мин $^{-1}$) и меньшей аффинностью (половина максимальной скорости достигается при 5 мМ GlcN или выше).

Несмотря на то что механизм активации *glmS*-рибозима его лигандом до сих пор не выяснен, на основании экспериментальных данных можно предположить, что GlcN6P — кофермент, а не аллостерический эффектор. Это означает, что он напрямую или косвенно включен в химическую реакцию, а не влияет на активность рибозима посредством изменения его структуры.

Rüdiger Welz

glmS рибозим. См. *GlcN6P-рибонепереключитель*.

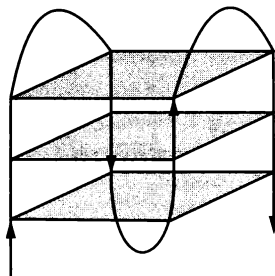
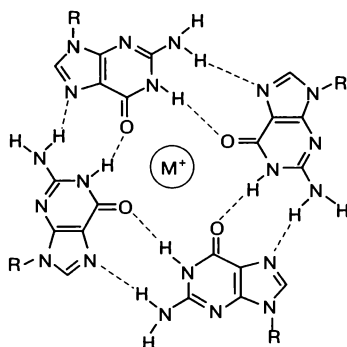
G-бокс. *цис*-Элемент (CACGTG) в *промоторах* многих *генов*, влияющий на развитие, гормональный ответ и устойчивость к грибным патогенам у растений.

G-ДНК (G₄-ДНК). Неканоническая четырехцепочечная ДНК, образованная G-богатыми последовательностями, в которых остатки гуанозина сгруппированы в повторяющиеся тракты олиго(dG). Они образуют кор G-квадруплекса, который представляет собой несколько *G-тетрад*, находящихся на расстоянии 3,3 Å, и внешних петель, образованных нуклеотидами, локализованными между трактами олиго(dG).

Sabine Müller

G-квадруплекс. Неканоническая форма нуклеиновой кислоты, которая представляет собой четырехцепочечную G-богатую спираль ДНК или РНК. G-квадруплекс с правосторонней спиральной закруткой стабилизируется стэкинг-взаимодействиями между *G-тетрадами*, в которых четыре гуанина из разных цепей образуют плоскую структуру, удерживаемую системой водородных связей между функциональными группами, расположенными на *уотсон-криковской* и *хугстиновской сторонах* оснований. Для образования устойчивой структуры необходимо минимум две G-тетрады.

Matthäus Janczyk, Sabine Müller



G-тетрада. Плоская структура, образуемая четырьмя гуаниновыми основаниями из разных цепей *G-квадруплекса*, которая удерживается системой водородных связей между функциональными группами, расположенными на *уотсон-криковской* и *хугстиновской сторонах* оснований.

Н. Г. Долиная

Н

His-оперон. *Оперон*, содержащий все *гены*, которые необходимы для биосинтеза гистидина. Транскрибируется под контролем единственного *промотора*, локализованного на 300 п. н. *выше* первого гена. Область, соответствующая нетранслируемому 5'-концевому региону *транскрипта*, называется *his*-лидерным участком и обладает типичными признаками Т-бокса для осуществления механизма *аттенюации* транскрипции. У *Bacillus subtilis* этот механизм позволяет повышение уровня активности оперона в 10–30 раз. У *Escherichia coli* за счет комбинирования контроля *инициации* и *элонгации* в ходе *транскрипции* достигается повышение активности *his*-оперона в 6000 раз. *Инициация транскрипции* осуществляется под контролем ppGpp, эффектором точного ответа, а элонгация регулируется за счет аттенюации. Кроме того, посттрансляционная регуляция происходит в процессинге *матричной РНК*. Активность первого фермента в опероне (HisG) может быть повышена или ингибирована несколькими элементами.

Beatrix Süss

hox-гены. *Гомеозисные гены*, содержащие *гомеобокс*, в настоящее время для краткости называют *hox*-генами.

HUGO. От англ. Human Genome Mapping Organization (Организация по картированию генома человека). См. *проект «Геном человека»*.

Hut-оперон. *Оперон* *hutPHUIGM* в геноме *Bacillus subtilis* (*hut* — от англ. «histidine utilization», утилизация гистидина) кодирует четыре фермента, которые ответственны за деградацию гистидина до аммиака, L-глутамата и формамида — гистидиназу *hutH*, уриказу *hutU*, имидазолонпропионат-аминогидролазу *hutI* и формимино-L-глутаматформиминогидролазу *hutG*). Последний *ген* оперона, *hutM*, кодирует предполагаемую гистидинпермеазу. Экспрессия оперона регулируется за счет индукции гистидином и репрессии углеродсодержащими катаболитами. Гистидинзависимая индукция контролируется *антитерминацией* транскрипции на участке со структурой *стебель—петля* между генами *hutP* и *hutH*, а также позитивно регулирующим белком *hutP*, который кодируется первой *открытой рамкой считывания* оперона.

Beatrix Süss

Н-ДНК. Внутримолекулярная трехцепочечная структура (тройная спираль), образуемая гомопуриновыми/гомопиримидиновыми последовательностями с зеркально-симметричными повторами в *сверхспирализованной ДНК*. В экспериментах *in vitro* были идентифицированы два основных структурных мотива триплексообразования, которые различаются ориента-

цией третьей цепи. Она может располагаться в большом желобке уотсон-криковского дуплекса параллельно или антипараллельно гомопуриновой цепи, присоединяясь водородными связями к хугстиновской стороне пуриновых оснований. Параллельный триплекс, образованный богатой пиримидинами третьей цепью, стабилизируется изогометричными триплетами $C^+ \cdot G-C$ и $T \cdot A-T$ (- и * обозначают уотсон-криковское и хугстиновское спаривание соответственно; см. *взаимодействие азотистых оснований*). Поскольку цитозины в третьей цепи должны быть протонированы, стабильность тройной спирали зависит от pH. Антипараллельная ориентация характерна для третьей цепи, обогащенной пуринами. Она связывается с гомопуриновой последовательностью дуплекса-мишени, образуя pH-независимые и неизогометричные триплеты $G \cdot G-C$ и $A \cdot A-T$ (- и * соответственно обозначают уотсон-криковское и обратное хугстиновское спаривания). В антипараллельный триплекс могут быть также включены триплеты $T \cdot A-T$, стабилизированные обращенными хугстиновскими парами. Хотя специфические взаимодействия при образовании триплексов нуклеиновых кислот играют более заметную роль, чем при образовании двойной спирали из комплементарных цепей, триплекс в целом менее стабилен, чем дуплекс. Кинетические исследования показали, что межмолекулярные *тройные спирали* образуются очень медленно, с константой скорости $\sim 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$, что примерно на три порядка медленнее, чем ДНК-дуплексы. *Олигонуклеотиды*, способные с высокой специфичностью узнавать уникальные гомопуриновые/гомопиримидиновые последовательности *геномной ДНК* и образовывать с ними трехспиральные комплексы, перспективны для использования в антигенной терапии (см. *триплекс-образующие олигонуклеотиды*).

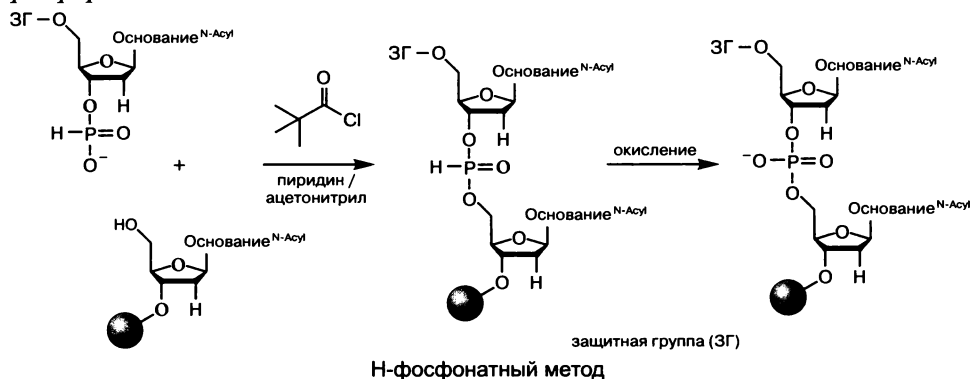
Формирование Н-ДНК происходит при перегруппировке фрагментов природных двойных спиралей таким образом, что половина гомопиримидиновой цепи зеркального повтора образует стабилизированный хугстиновскими парами внутримолекулярный триплекс с другой половиной повтора. При этом «лишняя» половина гомопуриновой цепи остается неспаренной и может селективно расщепляться ферментами и химическими реагентами, специфичными к одноцепочечным ДНК. В частности, повышенная чувствительность к нуклеазе S1 была использована как диагностический маркер образования Н-формы встроенными в плазмиду длинными гомопуриновыми/гомопиримидиновыми последовательностями в условиях *сверхспирализации ДНК* и при повышенной кислотности среды. С помощью подобных моделей было показано, что переход из конформации Н-ДНК, содержащей триплеты $C^+ \cdot G-C$ (пиримидиновый мотив), к конформации, содержащей триплеты $G \cdot G-C$ (пуриновый мотив), облегчается в присутствии ионов магния. Нуклеотидные последовательности, способные складываться в Н-форму, найдены во всех эукариотических геномах. Образование Н-ДНК *in vivo* было доказано с помощью моноклональных антител, полученных к этой неканонической структуре, а также путем идентификации одноцепочечных областей в геномной ДНК. Н-ДНК локализована в промоторных участках многих эукариотических генов, включая гистоновые, *гены теплового шока* и каналов проводимости ионов натрия, в центромерных районах, в *горячих точках рекомбинации*. Полагают, что Н-ДНК может влиять на процессы геномной регуляции, вызывая паузы в работе полимераз во время

репликации и транскрипции, участвовать в регуляции гомологичной рекомбинации ДНК и сборке хромосом. Как и *Z*-ДНК, Н-форма поглощает энергию отрицательной сверхспирализации, модулируя локальную структуру ДНК и влияя на глобальную топологию хроматиновых доменов.

Н. Г. Долинная

Н-фосфонат. Обозначение строительного блока нуклеозидов, который используется при синтезе олигонуклеотидов (см. *олигонуклеотидов синтез*) *Н-фосфонатным методом*.

Н-фосфонатный метод. Метод синтеза олигонуклеотидов (см. *олигонуклеотидов синтез*), основанный на строительных блоках из соответствующим образом защищенных нуклеозид-3'-О-(Н-фосфонатов). Активация достигается благодаря пространственно затрудненному ацилхлориду, который связывает Н-фосфонат с первичной гидроксильной группой нуклеозида, расположенного на носителе. Образующийся Н-фосфонатный диэфир не подвержен дальнейшему фосфорилированию, так что цепочку нуклеотидов можно удлинять без предшествующего окисления. Окисление всех фосфорных центров выполняется одновременно на заключительном этапе синтеза. Это открывает удобные альтернативные возможности синтеза химически модифицированных нуклеотидов. Однако часто протекает побочная реакция димеризации Н-фосфонатов, что серьезно затрудняет контроль. Из-за несколько меньших выходов этот метод используется не столь широко, как *фосфорамидитный метод*.



I

IEP. См. *кодируемые интронами белки*.

IGS. См. *внутренняя гидовая последовательность*.

in situ гибридизация. Метод детектирования молекул *нуклеиновых кислот* путем *гибридизации с комплементарными олигонуклеотидами*. Этот метод позволяет точно локализовать и идентифицировать клетки и субклеточные структуры, содержащие специфическую последовательность нуклеотидов (см. *нуклеотидов последовательность*). Процедура включает в себя гибри-

дизацию между специфической *нуклеиновой кислотой-зондом* и мишенью в срезе ткани, препарате фиксированных клеток или другом подготовленном биологическом объекте. Для успешной гибридизации требуется достаточно много условий. Последовательность не должна быть слишком длинной, чтобы избежать гибридизации с нецелевыми мишенями. Однако длинная последовательность снижает время гибридизации. Для *денатурации* требуется температура 94 °С; температура гибридизации зависит от T_m и необходимой точности. Низкая температура позволяет избежать *неспаренных оснований*, а при слишком высокой температуре гибридизации не проходит. К другим важным факторам относятся рН и концентрация ионов.

Matthäus Janczyk

***in situ* ОТ-ПЦР.** См. *in situ* полимеразная цепная реакция.

***in situ* полимеразная цепная реакция (ПЦР).** Разработана как модификация метода *in situ* гибридизации с повышенной чувствительностью (до примерно 20 копий *матричной РНК* на клетку). *In situ* ПЦР (она же внутриклеточная ПЦР или производный метод *in situ* ОТ-ПЦР) представляет собой метод *амплификации* перед проведением *in situ* гибридизации; при этом все процессы происходят внутри клеток. При проведении ПЦР с мечеными нуклеотидами отпадает необходимость гибридизации. По аналогии с *обратной транскрипцией* — *полимеразной цепной реакцией* (ОТ-ПЦР), *in situ* ПЦР включает две стадии: вначале происходит *транскрипция* мРНК в *кДНК* на *обратной транскриптазе*, а затем ПЦР с *кДНК*. До проведения процедуры необходимо зафиксировать клетки и повысить проницаемость их мембран, чтобы сохранить клеточную морфологию и обеспечить проникновение реагентов ПЦР для амплификации внутриклеточных мРНК. Реакцию можно проводить в пробирках или на предметных стеклах. Клетки затем обрабатывают реакционной смесью для ПЦР, и происходит амплификация. Образующаяся ДНК может быть использована для различных экспериментов по *in situ* гибридизации. Ее использовали для детектирования *однокопийных последовательностей* в клеточных препаратах или низкокопийной ДНК и РНК в срезах тканей. На практике ПЦР применяют при выявлении вирусной или провирусной ДНК, а также идентификации *однокопийных генов* у человека.

David Loakes

***in vitro* отбор нуклеиновых кислот.** См. *SELEX*.

***in vitro* транскрипция.** Внеклеточная *транскрипция*, используемая с целью получить *транскрипт* с использованием специально приготовленных клеточных экстрактов и специфических векторов транскрипции. Эти векторы содержат промоторы для *РНК-полимераз*, фланкирующие полилинкеры. Любая *чужеродная ДНК*, встроенная в один из полилинкеров, будет транскрибирована под контролем *промотора*. Происходит накопление транскрипта до высоких концентраций. Простые методики, связанные с транскрипцией РНК на матрице ДНК с использованием РНК-полимеразы в присутствии соответствующего реакционного буфера, также называются методом стоковой транскрипции (см. *стоковой транскрипции метод*).

Stéphanie Vauléon

***in vitro* трансляция.** Внеклеточная *трансляция*, используемая для получения белков на матрице выделенных и очищенных *матричных РНК* (мРНК). Препарат мРНК смешивают с клеточным экстрактом (например, экстрактом клеток *Escherichia coli* для трансляции прокариотических мРНК или лизатом ретикулоцитов кролика для работы с мРНК эукариот). Эти экстракты очищены от эндогенных мРНК, но содержат все необходимые для трансляции компоненты — субъединицы рибосом, молекулы всех *транспортных РНК*, аминоацил-тРНК-синтетазы, а также требующиеся при *инициации*, *транслокации* и *элонгации* белки и источники энергии.

Stéphanie Vauléon

***in vitro* эволюция нуклеиновых кислот.** Эволюция *in vitro* имитирует дарвиновскую эволюцию с тем ограничением, что «выживание наиболее приспособленного» происходит на уровне отдельных молекул.

Начальный пул может содержать до 10¹⁵ различных последовательностей ДНК или РНК, полученных путем химического синтеза (см. *олигонуклеотидов синтез*) или транскрипции *in vitro*. Все молекулы содержат определенную последовательность, необходимую для их репликации, и области, которые либо имеют фиксированную длину и случайную последовательность, либо основаны на определенной последовательности с искусственно введенными мутациями с любой желаемой частотой. Затем пул подвергают произвольному давлению отбора. «Выжившие» последовательности затем амплифицируются и переносятся в последующие пулы для повторных раундов отбора и *амплификации*.

Sabine Müller

***in vitro*.** От лат. «в стекле». Термин описывает реакции, протекающие в лабораторных сосудах, а не в клетке.

***in vivo* перенос генов.** В *генной терапии* перенос терапевтического *гена* напрямую в тело пациента (системно или местно), без процедуры выделения клеток из тела. См. *гена перенос*.

***in vivo* структурное картирование РНК.** Специфичные к структуре химические зонды (см. *нуклеиновая кислота-зонд*) представляют собой уникальный инструмент для картирования структуры РНК (см. *РНК структура*) *in vivo* при различных условиях выращивания клеток. Использование зондов ограничено их неспособностью проникать через клеточную стенку и мембрану из-за их размера и/или заряда. Широкое применение для зондирования РНК *in vivo* стало возможным с использованием диметилсульфата и расщепления, индуцированного свинцом(II).

Pascale Romby, Pierre Fechter

***in vivo*.** От лат. «в живом». Термин описывает реакции, происходящие в клетке, и, следовательно, все внутриклеточные процессы.

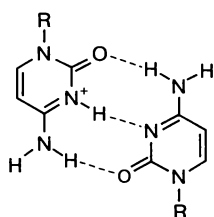
IRES. См. *внутренний сайт связывания рибосомы*.

***Ir*-гены (гены иммунного ответа;** от англ. immune response). Гены, участвующие в контроле реакции антительного ответа.

I-гены. Митохондриальные *гены*, которые составляют значительную часть митохондриального *генома*; в настоящее время мутации в этих генах связывают с риском развития заболеваний, обусловленных дефектами в дыхательной цепи.

Mauro Santos

i-ДНК. Четырехспиральная интеркаляционная ДНК, образованная богатыми *цитозином* последовательностями и стабилизированная неканоническими полупротонированными парами $C\equiv C^+$; причем остатки цитозина в этих парах принадлежат параллельно-ориентированным цепям. Образуется за счет взаимной интеркаляции двух параллельных дуплексов во взаимно-антипараллельной ориентации; при этом чередующиеся неканонические пары $C\equiv C^+$ лежат в разных плоскостях. На поверхности i-ДНК имеются два



R = рибоза

больших и два малых желобка, а остатки *дезоксирибозы* принимают $C3'$ -*эндо*-конформацию. Из-за наличия полупротонированных *пар оснований* стабильность i-ДНК оказывается рН-зависимой с максимумом при рН, близком к pK_a цитозина. В природе этот структурный мотив обнаруживается в теломерной и центромерной ДНК человека (см. *теломера*, *центромера*). Некоторые белки специфически связываются с С-богатыми теломерными фрагментами ДНК, предположительно путем узнавания

структуры i-ДНК. Богатые цитозином последовательности РНК также способны образовывать подобные четырехцепочечные структуры, но менее стабильные, чем ДНК-аналоги.

Valeska Dombos, Н.Г. Долинная

К

K_M значение. *Константа Михаэлиса* K_M характеризует специфичность фермента к субстрату. Чем ниже значение константы, тем выше специфичность. Согласно уравнению Михаэлиса—Ментен (см. *Михаэлиса—Ментен уравнение*), каталитическая активность (скорость образования продукта) повышается с увеличением концентрации субстрата. Формально скорость реакции (характеризует активность фермента), составляющая половину от максимальной, достигается при концентрации субстрата, равной значению K_M (см. K_M *определение*, *Михаэлиса—Ментен модель*).

Christian Herrmann

K_M определение. K_M определяется из зависимости скорости образования продукта v от концентрации субстрата c_s (см. *Михаэлиса—Ментен модель*). График в координатах v от c_s — гипербола; с помощью *уравнения Михаэлиса—Ментен* можно определить даже по нелинейному графику значение K_M . Кроме того, преобразуя уравнения *Михаэлиса—Ментен*, можно построить удобные линейные *графики Лайнуивера—Берка* и *Иди—Хофсти*.

Экспериментально скорость образования продукта измеряют при разных концентрациях субстрата, которые должны охватывать один (а лучше два) порядка величины и, что более важно, среди них должны быть значения большие и меньшие, чем K_M . Так как скорость ферментативной реакции уменьшается при расходовании субстрата, измерение скорости следует проводить только в первые 10–20% оборота субстрата (см. *начальная скорость*). Концентрацию фермента обычно во всех экспериментах берут одинаковую; ее можно подобрать в соответствии с длительностью эксперимента. Точное знание концентрации фермента для определения значения K_M не столь важно.

По разным причинам обычно оказывается невозможно измерить скорость вблизи значения K_M или больше его (например, скорость становится очень высокой или требуются слишком большие концентрации субстрата). Тем не менее при низких концентрациях субстрата (много ниже K_M) уравнение Михаэлиса–Ментен можно аппроксимировать как $v = c_S \cdot c_E k_{cat} / K_M$, и тогда отношение k_{cat} / K_M представляет собой наклон линейного графика зависимости скорости от концентрации субстрата. Отношение k_{cat} / K_M можно рассматривать как *константу скорости* второго порядка. Хотя при этих условиях ни K_M , ни k_{cat} по отдельности определить не удастся, численное значение отношения k_{cat} / K_M тоже полезно — это каталитическая эффективность фермента соответствующему субстрату (чем выше k_{cat} и ниже K_M , тем выше эффективность). Поскольку это значение еще и позволяет сравнить конкурирующие субстраты, отношение k_{cat} / K_M также называют константой специфичности.

Christian Herrmann

К-поворот. См. *кинк-поворот, мотив*.

L

***lacZ*, ген.** Первый из генов *Lac-оперона*, кодирует β-галактозидазу. Этот фермент расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу. Фермент не обладает строгой специфичностью к лактозе и может использовать в качестве субстрата простые галактозиды, например 2-нитрофенил-β-D-галактопиранозид (ONPG). Ген *lacZ* широко используется как *репортерный ген* для изучения активности *промоторов* в различных тканях или на разных стадиях развития путем присоединения его к промоторной области интересующего гена в ходе транскрипционного или трансляционного слияния. Фенотипическая экспрессия легко детектируется при гидролизе бесцветного ONPG в галактозу с образованием окрашенного (желтого) продукта — *о*-нитрофенола.

Beatrix Süß

Лас-оператор. См. *Лас-оперон*.

Лас-оперон. *Оперон*, содержащий все *гены*, которые необходимы для транспорта и метаболизма лактозы у *Escherichia coli* и некоторых других энтеробактерий. В его составе есть три структурных гена: *lacZ*, *lacY* и

lacA. Ген *lacZ* кодирует β -галактозидазу (LacZ) — внутриклеточный фермент, который расщепляет дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу. Ген *lacY* кодирует β -галактозидпермеазу (LacY) — связанный с мембраной транспортный белок, который закачивает лактозу в клетку. Ген *lacA* кодирует β -галактозидтрансацилазу (LacA) — фермент, который переносит ацетильную группу с ацетил-СoА на β -галактозиды. Для катаболизма лактозы необходимы только гены *lacZ* и *lacY*.

Для развития регуляторного ответа на лактозу требуется внутриклеточный белок, называемый лактозным *репрессором* LacI. Ген *lacI*, кодирующий этот белок, расположен рядом с *lac*-опероном и всегда экспрессируется под контролем собственного *промотора* (характеризуется конститутивной экспрессией). Если лактозы в среде нет, репрессор в виде тетрамера тесно связывается с короткой последовательностью ДНК *ниже* промотора рядом с началом гена *lacZ* — *lac-оператором*. Связывание репрессора с оператором влияет на успешность связывания *РНК-полимеразы* с промотором, и потому кодирующие LacZ и LacY *матричные РНК* синтезируются в очень малых количествах. Если рост клеток происходит в присутствии лактозы, один из ее метаболитов (аллолактоза) связывается с репрессором. Это приводит к изменениям в его конформации, и в результате репрессор утрачивает способность связываться с оператором, что позволяет РНК-полимеразе транскрибировать *lac*-оперон и накапливать высокие концентрации кодируемых белков. Экспрессия *lac*-оперона также обнаруживает катаболитную зависимость. Когда падает уровень глюкозы, вторичный мессенджер цАМФ связывается с репрессорным белком Сrp, который затем активируется и присоединяется к *сайту связывания сrp*, играя роль *активатора* оперона.

Beatrix Süß

Лас-промотор. См. *Lac-оперон*.

Лас-репрессор. См. *Lac-оперон*.

LDA. См. *лигирование в ходе амплификации*.

L-нуклеозиды и L-нуклеотиды. См. *шпигельмер*.

L-РНК. См. *шпигельмер*.

М

MADS-бокс-гены. Семейство *генов*, кодирующих *транскрипционные факторы*, которые содержат MADS-домен. Эти гены в основном участвуют в регуляции процессов развития, в частности морфогенеза цветка у растений.

Mauro Santos

MFE-структура. Структура молекулы нуклеиновой кислоты с минимальной свободной энергией (MFE), получаемая по алгоритмам предсказания вторичной структуры (см. *РНК, вторичной структуры предсказание*).

Sabine Müller

N

N. См. *азотистое основание, однобуквенный код.*

NAIM. См. *интерференционное картирование с аналогами нуклеотидов.*

N-конформация. Конформация неплоского пятичленного фуранозного кольца, которая характеризуется фазовым углом *псевдовращения* в диапазоне $0^\circ \leq P \leq 36^\circ$ (северная (от англ. north) часть цикла псевдовращения). В двуцепочечной *A-форме РНК* или А-ДНК остатки *рибозы* или 2'-дезоксирибозы, соответственно имеют в основном N-конформацию, или C3'-эндо-конформацию.

Klaus Weisz

N-формилметиониновая тРНК. См. *формилметионил-тРНК.*

O

onc-ген. См. *онкоген.*

oriC. *Ориджин* в хромосоме *Escherichia coli*.

P

p53, ген. Один из генов-*супрессоров опухолевого роста* в эукариотических клетках. Кодирован активатор транскрипции p53 — белок-супрессор опухолевого роста, также известный как «страж генома». Этот белок играет важную роль в блокировании роста, репарации (см. *ДНК репарация*) и апоптозе. В нормальных клетках содержание белка p53 невысокое, но повреждение ДНК (см. *ДНК повреждение*) может приводить к повышению уровня экспрессии соответствующего гена. Вследствие этого происходит остановка клеточного цикла, и таким образом предотвращается репликация поврежденной ДНК. Белок p53 активирует транскрипцию генов белков, участвующих в репарации. Белком p53 также может быть запущен апоптоз (программируемая клеточная смерть) как последнее средство избежать пролиферации клеток, содержащих аномальную ДНК.

Gemma Marfany, Mauro Santos

PAC. См. *бактериальная искусственная хромосома.*

P-сайт. Пептидилтрансферазный сайт, в котором *пептидил-тРНК* связана с большой субъединицей *рибосомы* в ходе *трансляции*.

P-элемент. Тип *транспозона*, описанный у *Drosophila melanogaster*, известный как причина гибридного дисгенеза. Это явление заключается в высокой частоте возникновения *мутаций* в половых клетках дрозофил, если самцы, несущие P-элемент (P-линии или P-цитотипы), скрещиваются с самками, у которых этого элемента нет (M-линии или M-цитотипы).

Mauro Santos

R

gam-мутация. От англ. *ribosome ambiguity mutation* (мутация двусмысленности рибосомы). Позволяет осуществить вовлечение неверных *транспортных РНК* в процесс *трансляции*.

RecA. Основной белок, участвующий в *гомологичной рекомбинации* у *Escherichia coli*, с доменом, обнаруженным во всех прокариотических и эукариотических клетках. Одно из уникальных свойств RecA — способность его мономера образовывать нуклеофиламент на молекуле ДНК, который затем способен активно искать область гомологии в ДНК, тем самым приводя к физическому обмену между участками ДНК в ходе *рекомбинации*. Помимо этого, одна из форм этого белка, активированный RecA (RecA*), играет роль копро-теазы в автокаталитическом преобразовании некоторых белков, участвующих в SOS-ответе на повреждения ДНК (см. *ДНК повреждение*) у *E. coli*.

Gemma Marfany

Rfam. База данных семейств РНК. Обширное собрание *последовательностей* семейств *некодирующих РНК*. Содержит данные относительно консервативных РНК (*рибосомных РНК*, *рибозимов*, *рибопереключателей*, *микроРНК*) и доступен в сети Интернет ([http:// www.sanger.ac.uk/Software/Rfam/](http://www.sanger.ac.uk/Software/Rfam/)).

Rüdiger Welz

RFM-элемент. *Аптамерная* часть *ФМН-рибопереключателя* в 5'-не-транслируемой области прокариотических *генов*.

RISC (РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга). Эффектор пути *РНК-интерференции*. К его основным компонентам относятся белок Argonaute, *малая интерферирующая РНК* или *микро-РНК*.

RITS (РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга транскрипции). Эффектор транскрипционного сайленсинга *генов* (см. *гена сайленсинг*), вариант пути *РНК-интерференции*.

Nicolas Piganeau

RRE-РНК (Rev-ответа элемент). Структурный мотив *РНК* вируса иммунодефицита человека длиной примерно 250 *нуклеотидов*. Среди содержащихся в его составе структур шпилька IIВ обеспечивает *сайт связывания*, который с высоким сродством связывается с вирусным белком Rev. Как и в случае *TAR-РНК*, РНК-белковые взаимодействия с участием RRE в значительной степени определяются аргинин-обогащенным участком. Это взаимодействие важно для жизненного цикла ВИЧ, поскольку именно оно позволяет осуществить экспорт в цитоплазму вирусных *матричных РНК*, ответственных за образование структурных и дополнительных белков.

Jörn Wolf

RRF. См. *фактор рециркуляции рибосомы*.

г-белки. Белки рибосомы (см. *рибосома*).

г-петля. См. *петля замещения*.

S

S1 нуклеаза. *Нуклеаза*, специфичная к одиночной цепи и выделяемая из ростовой среды *Aspergillus oryzae*. Расщепляет РНК и ДНК эндо- и экзонуклеолитически. Часто используется для «подравнивания» концов *кДНК*, образующейся при *обратной транскрипции*.

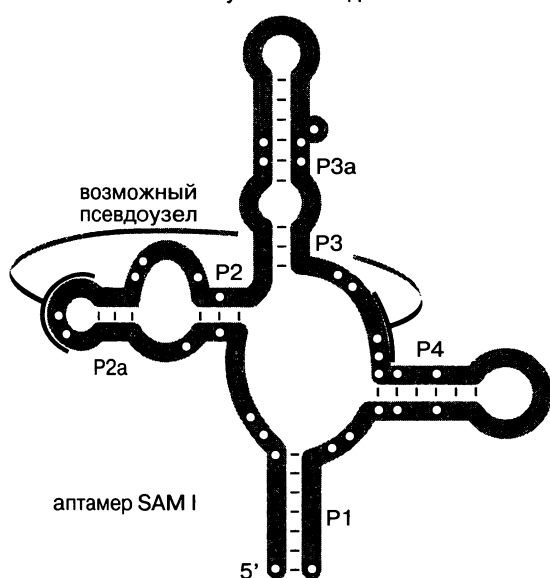
Uli Hahn

S1-картирование. Биохимический метод, основанный на *гибридизации* и позволяющий идентифицировать специфическую последовательность в смеси различных РНК (например, полученной из биологического образца). Сегмент молекулы ДНК, комплементарный анализируемой последовательности РНК, добавляют в реакционную смесь и оставляют для гибридизации. Все неспаренные области затем расщепляют *S1-нуклеазой*, которая специфична к одноцепочечным областям. *РНК–ДНК-гибриды*, оставшиеся после *инкубирования*, выделяют, визуализируют и анализируют.

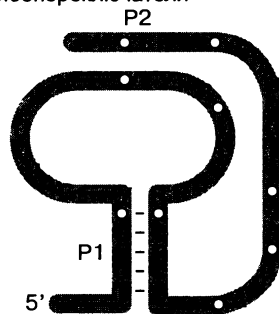
Jörn Wolf

SAM (S-аденозилметиониновый) рибопереключател. Строго консервативный домен *РНК*, называемый S-боксом, часто обнаруживается в *5'-нетранслируемой области матричной РНК* грамположительных бактерий. Этот домен казался частью рибопереключател SAM, который регулирует экспрессию *генов*, участвующих в метаболизме серы и биосинтезе метионина, цистеина и SAM. Поиск других консервативных РНК-элементов методами биоинформатики (см. *Rfam*) выявил наличие другого

Консенсусная последовательность аптамера SAM-рибопереключател

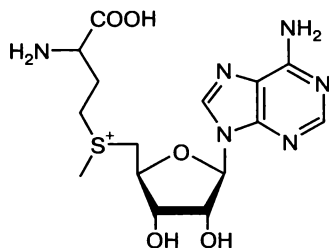


аптамер SAM I



аптамер SAM II

○ любой нуклеотид
— различающаяся вставка



S-аденозилметионин (SAM)

SAM-рибопереклещателя у грамoтpицательных бактерий, который получил название SAM II. Как и SAM I, он расположен *выше* от генов, связанных с биосинтезом SAM и метионина, и регулирует экспрессию на уровне транскрипции. Из филогенетических данных по этим двум типам аптамеров могут быть получены две отчетливые структуры РНК. Большой аптамер SAM I образует *четырёхстороннее соединение* с мнимым *K-поворотом* и элементами *псевдоузла*, в то время как структура меньшего SAM-II основана на взаимодействии простой *шпильки* и *псевдоузла*. Разная аффинность SAM объясняется различием размеров и сложным устройством аптамеров, а также величинами *констант диссоциации* — порядка наномолей для аптамеров SAM I и порядка микромолей для SAM II. Однако оба аптамера строго специфичны к SAM и различают его даже при концентрации, в 100 раз меньшей, чем у похожих метаболитов, таких как S-аденозилгомоцистеин и S-аденозилцистеин, которые отличаются от SAM всего лишь одной метильной или метиленовой группой соответственно.

Из того факта, что в разных организмах возникли многочисленные регуляторные структуры РНК, чувствительные к одному и тому же метаболиту, можно сделать различные выводы. Так, это позволяет предположить, что РНК обладает сложной химической структурой и, подобно белкам, может приспособляться к выполнению различных клеточных функций. Кроме того, можно представить, что рибопереклещатели SAM эволюционировали независимо и, следовательно, моложе первых клеточных форм жизни. Это может означать, что рибопереклещатели — не просто остатки *РНК-мира*, но до сих пор используются как эффективный способ контроля экспрессии генов.

Rüdiger Welz

SAT-хромосома. Сателлитная *хромосома*. Несет *выпепливание* на теломерном конце и содержит фермент *sine acido nucleinico*. Играет жизненно важную роль в образовании ядрышка после завершения клеточного деления.

Mauro Santos

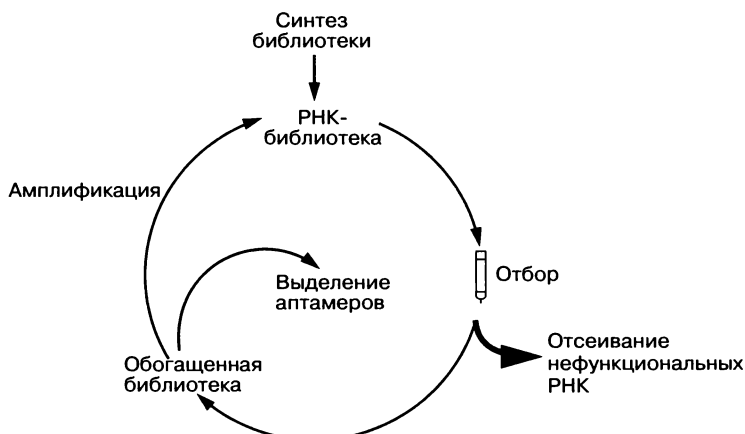
SCOR. База данных по структуре, функциям, третичным взаимодействиям и их взаимосвязи для молекул РНК (<http://scor.llbl.gov/scor.html>).

Scorpion-праймеры. Содержат самокомплементарную структуру типа *стебель—петля*, включающую флуорофор (см. *флуоресцентный праймер*, *флуоресцентное мечение*) на одном конце и гаситель на другом. У структуры «стебель—петля» та же последовательность, что и у области *матрицы*, примыкающей к *сайту связывания праймера* в зонде. Праймер, комплементарный предназначенной для *амплификации* области матрицы, присоединен к структуре стебель—петля (зонду). Часто праймер прикреплен к зонду через линкер, не образующий водородных связей (например, гексаэтиленгликоль). В ходе *полимеразной цепной реакции* происходит удлинение праймера, и в присутствии этой вновь синтезированной цепи зонд, который теперь комплементарен новой цепи, гибридизирует с ней. Как только зонд образует дуплекс с целевой последовательностью, происходит разделение флуорофора и гасителя, в результате чего наблюдается возрастание интенсивности флуоресценции (см. *FRET*).

David Loakes

SELEX. Акроним от Systematic evolution of ligands by exponential enrichment (систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения). Представляет собой вариант отбора *in vitro* (см. *in vitro* отбор) и связан с многократным отбором *аптамеров* из комбинаторных библиотек *нуклеиновых кислот* (см. *аптамеров отбор*). Процесс SELEX отбирает аптамеры на основе связывания между мишенью и молекулой *нуклеиновой кислоты* и основан на стандартных молекулярно-биологических методиках. Процесс состоит из следующих этапов: (а) подготовка библиотеки; (б) отбор; (в) *амплификация*; (г) отбор аптамеров. На этапе (а) осуществляют синтез обширной библиотеки (или пула). Каждая молекула в составе библиотеки (типичный размер которой составляет около 10^{15} различных компонентов) имеет уникальную последовательность *нуклеотидов*, которая в принципе способна принимать уникальную трехмерную форму. Лишь немногие из этих молекул (аптамеры) принимают форму, которая комплементарна молекуле-мишени. Этап отбора направлен на поиск тех молекул, которые связываются с мишенью с наибольшим сродством. Библиотеку инкубируют с мишенью, в результате чего молекулы либо связываются с ней, либо остаются свободными в растворе. Существует несколько методов физического отделения комплексов «аптамер—мишень» от несвязанных молекул в смеси. Несвязанные молекулы отсеивают, а связавшиеся с мишенью молекулы высвобождают и ферментативно размножают, чтобы получить новую библиотеку, которая теперь будет обогащена способными к связыванию с мишенью молекулами. Эту обогащенную библиотеку подвергают новому циклу отбора и связывания. В типичном случае после 5–15 циклов состав библиотеки от 10^{15} молекул сводится к всего нескольким молекулам, обнаруживающим способность к наиболее прочному связыванию. Индивидуальные молекулы этого пула разделяют, определяют их последовательность и оценивают их *сродство к связыванию* и специфичность, а затем проводят сравнение.

SELEX применим к библиотекам ДНК, РНК или модифицированных нуклеиновых кислот — принципиальным условием является способность последних к ферментативному размножению. Существует несколько модификаций метода, которые также позволяют проводить отбор *рибозимов* и аллостерически регулируемых рибозимов (см. *аллостерические рибозимы*).



С использованием SELEX возможно подобрать аптамер с высоким сродством практически к любому лиганду от небольших органических молекул до пептидов, белков, клеточных поверхностей или срезов тканей. В условиях *in vivo* SELEX проводили в живых животных. Процесс может быть осуществлен вручную или автоматизирован.

Andres Jäschke

SINE. См. *короткий рассеянный повторенный элемент*.

7S К-РНК. *Малая ядерная РНК* длиной 331 нуклеотид. Синтезируется *РНК-полимеразой* III под контролем внешнего *промотора*. *Геном* человека содержит единственный функциональный *ген* 7S К-РНК в гаплоидном геноме, но в нем присутствуют несколько тысяч различных нефункциональных последовательностей *псевдогенов* с неизвестной функцией. Клетки млекопитающих содержат около 100 копий этих РНК. Хотя у позвоночных РНК достаточно консервативны, у высших беспозвоночных можно обнаружить значительные различия в последовательности 7S К-РНК. Однако у низших эукариот 7S К-РНК не обнаружены. В отличие от других стабильных молекул РНК эта РНК не входит в состав стабильных *рибонуклеопротеинов*. Была показана кратковременная связь 7S К-РНК с фактором *элонгации транскрипции* b (pTEFb), образованная связывающим белком гексимом. У низших эукариот этот белок также отсутствует. Предполагается, что 7S К-РНК играет роль негативного регулятора элонгации транскрипции у позвоночных и высших беспозвоночных.

Bernd-Joachim Benecke

7S L-РНК. Образует РНК-компонент *частицы узнавания сигнала* (SRP). Эта частица специфически взаимодействует с наиболее гидрофобными остатками N-концевой сигнальной последовательности секретируемых и лизосомных белков. За счет взаимодействия с образующимся белком SRP опосредует перенос полипептидной цепи внутрь эндоплазматического ретикулула. Длина 7S L-РНК млекопитающих составляет 299 нуклеотидов, он синтезируется *РНК-полимеразой* III. Единственный функциональный *ген* в гаплоидном *геноме* находится под контролем раздельного *промотора*, часть которого расположена *выше* сайта начала *транскрипции*, а часть *ниже*. Около 50% РНК обнаруживает высокую гомологию или полную идентичность многократно повторенной последовательности *РНК-гена* Alu у млекопитающих. Помимо 7S L-РНК белок SRP содержит шесть небольших полипептидов (p9, p14, p19, p54, p68 и p72), некоторые из них (p9/p14 и p68/p72) связываются с РНК в виде *гетеродимера*.

Bernd-Joachim Benecke

SNP. См. *однонуклеотидные полиморфизмы*.

sgp-РНК. См. *частица узнавания сигнала*, 7S L-РНК.

SR-белки (SRP). Обогащенные серином и аргинином регуляторные белки, участвующие в *альтернативном сплайсинге*. Образуют семейство из примерно 10 различных белков с молекулярной массой от 20 до 70 кДа. Эти

белки содержат два функциональных домена. Рибонуклеопротеиновый домен (см. *рибонуклеопротеин*) содержит РНК-распознающий мотив (см. *РНК-связывающий белок*) и образует *сайт связывания* РНК. RS-домен представляет собой кластер остатков аргинина и серина и может быть фосфорилирован специфическими *киназами*. SR-белки связываются с экзонными и/или интронными энхансерами (или сайленсерами) *сплайсинга*; это важные инструменты реакции альтернативного сплайсинга.

Bernd-Joachim Benecke

SSB. Белки, связывающие одноцепочечную ДНК; См. *одноцепочечный разрыв*.

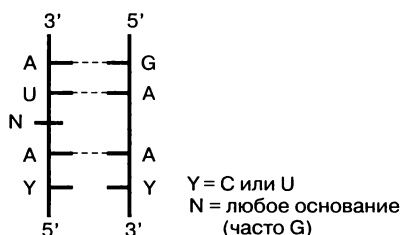
S-аденозилметиониновый рибопереключателъ. См. *SAM рибопереключателъ*.

S-бокс. См. *SAM (S-аденозилметиониновый) рибопереключателъ*.

S-конформация. Конформация пятичленного фуранозного кольца, характеризующаяся фазовым углом *псевдовращения P* в диапазоне $144^\circ \leq P \leq 190^\circ$ (южная (от англ. south) часть цикла псевдовращения). В двуцепочечной молекуле *В-ДНК* остатки *дезоксирибозы* находятся в *S-конформации*, или *C2'-эндо-конформации*.

Klaus Weisz

S-поворот. Распространенный мотив в структуре РНК (также называемый мотивом петли E), который характеризуется наличием ряда *неканонических пар оснований*, приводящих к резкому изгибу в спиралях РНК. S-мотивы служат для стабилизации *внутренних петель* и *соединительных петель* в молекулах *рибосомных РНК*.



Sabine Müller

Т

Т. См. *тимин, однобуквенный код*.

Тас-промотор. Созданный *in vitro промотор*, содержащий -10 -элемент *Лас-промотора* и -35 -элемент *Тгр-промотора*. В микробиологии Тас-промотор часто используют для достижения высокого уровня экспрессии рекомбинантных белков в клетках *Escherichia coli*. Наличие дополнительной области *Лас-оперона* делает возможной регуляцию изопропил- β -D-тиогалактопиранозидом.

Irene Drude

ТАФ. Субъединицы эукариотического *транскрипционного фактора* TFIID, который содействует *ТАТА-связывающему белку* в связывании ДНК и привлекает остальные факторы к комплексу *транскрипции*.

Franz Narberhaus

TaqMan-пробы. Метод, основанный на двойном мечении и гидролизе (см. *нуклеиновая кислота-зонд*) и использующий 5'-экзонуклеазную активность *Taq-ДНК-полимеразы* (см. *экзонуклеаза*) для определения количества целевых последовательностей в образце. Зонд состоит из 18–22 *нуклеотидов*, меченных флуорофором на 5'-конце и несущих гаситель на 3'-конце (см. *олигонуклеотидов мечение*). Зонд, комплементарный целевой последовательности, добавляют в реакционную смесь при проведении *полимеразной цепной реакции* (ПЦР). Когда зонд связывается с *матрицей*, флуорофор и гаситель оказываются сближенными, и отмечается низкий уровень флуоресценции (полного гашения не происходит, поэтому есть фоновая флуоресценция). В ходе катализируемого полимеразой удлинения 5'-экзонуклеазная активность полимеразы приводит к расщеплению зонда, в результате чего происходит разобщение флуорофора и гасителя. Как следствие, интенсивность флуоресценции репортерного красителя возрастает (см. *FRET*). Процесс повторяется в каждом цикле и не мешает накоплению продукта ПЦР.

David Loakes

Taq-ДНК-полимераза. ДНК-зависимая ДНК-полимераза из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*. Из-за своей термостабильности *Taq*-полимераза часто используется в *полимеразной цепной реакции* (ПЦР). Температурный оптимум для этого фермента составляет 72 °С. Он способен амплифицировать 1 *т. п. н.* ДНК за 30 с. Один из недостатков *Taq*-полимеразы — отсутствие *проверочной активности*, поскольку у нее нет свойств 3'-экзонуклеазы. За один цикл репликации в молекуле ДНК возникает около $2 \cdot 10^{-4}$ ошибок на *основание*. Кроме того, *Taq*-полимераза добавляет лишний остаток *аденина* на 3'-конце, в результате чего продукты полимеразной цепной реакции образуются с адениновыми *выступами*. Как следствие этой особенности, полученные при амплификации *Taq*-полимеразой фрагменты ДНК чрезвычайно удобны для *клонирования* в *векторы* с тимидиновыми выступами (см. *тимидин*).

Irene Drude

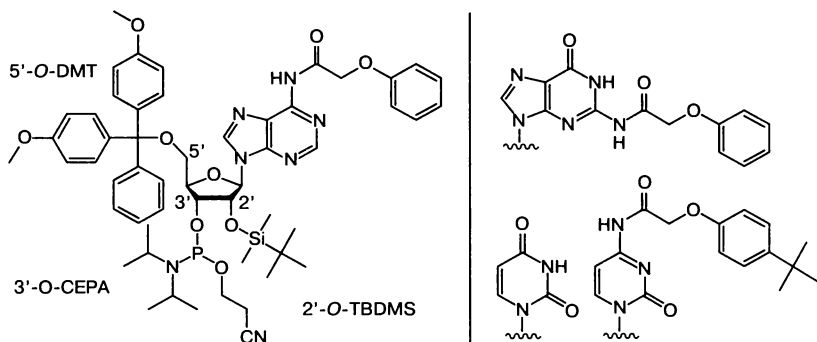
TAR-РНК. Структурный мотив РНК, необходимый для *репликации* вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Служит *сайтом узнавания* для многих *лигандов*, например аргинина, аргининамида, *аминогликозидов* и других соединений белковой и небелковой природы. В геноме ВИЧ 59-нуклеотидная последовательность TAR обнаруживается на 5'-конце во всех образующихся *транскриптах* и обладает двумя характеристическими особенностями. Ее участок *вытесливания* взаимодействует с обогащенными аргинином и лизином областями белка, называемого tat (*trans activator protein*). Второй специфический участок, область *петли*, участвует в активации *транскрипции* (см. *RRE-РНК*).

Jörn Wolf

ТАТА-бокс. Консервативная АТ-обогащенная последовательность длиной около 25 п. н. *выше* сайта начала *транскрипции* эукариотических *генов*, транскрибируемых *РНК-полимеразой II*.

ТАТА-связывающий белок (ТВР). Субъединица эукариотического транскрипционного фактора TFIID, который связывается с *ТАТА-боксом*.

TBDMS-метод. Используется в химическом твердофазном синтезе *олигорибонуклеотидов*, назван по защитной *трет*-бутилдиметилсилильной (TBDMS) группе на 2'-гидроксиде нуклеозида. Этот метод разработан в 1980-х гг. на основе *фосфорамидитного* метода связывания соответствующим образом защищенных *нуклеозидных* блоков. Стратегия защиты предполагает наличие двух ортогональных защитных групп: лабильной в кислотах 4,4'-диметокситритильной группы на 5'-атоме кислорода и неустойчивой к фторид-ионам силанильной группы на 2'-атоме кислорода. 3'-Атом кислорода связан с 2-цианэтокси-(N,N-диизопропиламино)фосфинильным остатком, который обычно используется в автоматизированном твердофазном синтезе ДНК (см. *олигонуклеотидов синтез*). Изначально для защиты *оснований* использовались: N⁶-бензоил для *аденозина*, N⁴-бензоил или ацетил для *цитидина* и N²-изобутирил для *гуанозина*. Улучшенные варианты защиты для аминогрупп, такие как N-феноксиацетил или N-трет-бутилфеноксиацетил, дают возможность снимать защиту с РНК в очень мягких условиях. Использование на стадии связывания потенциальных активаторов, таких как 5-(бензилтио)-1Н-тетразол, увеличивает его эффективность и скорость. Эти усовершенствования способствовали тому, что метод TBDMS сохранил свое место и до сих пор широко используется в мире, уступая только недавно разработанным методам *TOM* и *ACE*. Ниже приведены структуры TBDMS-нуклеозидфосфорамидитов.



Синтез олигонуклеотидов проходит с выходом более 98,5% и скоростью, незначительно меньшей, чем в других упомянутых выше методах. После сборки цепи отделение последовательности от твердой подложки и удаление ацильных групп, *защищающих основания* и *фосфодиэфирные* связи, осуществляется в щелочной среде в условиях нуклеотидной атаки, желателно в смеси концентрированного раствора аммиака и 8 М раствора метиламина в этаноле в соотношении 1:1. При использовании метиламина важно, чтобы цитидин не был защищен N⁴-бензоилом, в противном случае наблюда-

ется замещение у атома углерода в положении 4. Отщепление остающихся TBDMS-групп, защищающих 2'-кислород, желательно осуществлять с использованием триэтиламин-трис(гидрофторида) в N-метилпирролидоне.

Ronald Micura

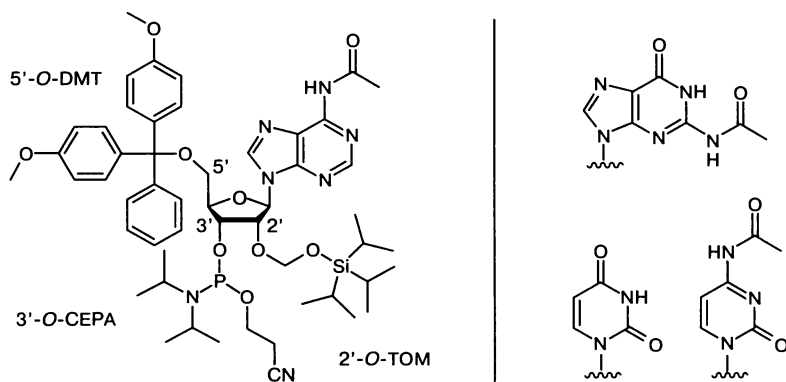
TFO. См. *триплекс-образующие олигонуклеотиды*.

TGS. См. *транскрипционный сайленсинг генов*.

Ti-плазмида. Стабильная *эписома* в клетке *Agrobacterium*, T-область которой содержит *гены*, ответственные за индукцию роста опухоли (корончатого галла) у инфицированных растений.

T_m . См. *температурное плавление, температура плавления*.

ТОМ-метод. Используется в химическом твердофазном синтезе олигорибонуклеотидов и назван по [(триизопропилсилил)окси]метильной (ТОМ) группе, защищающей 2'-гидроксил нуклеозида. Этот метод впервые был применен в 1998 г., он похож на *фосфорамидитный метод* в том, что касается связывания соответствующим образом защищенных нуклеозидов, и был разработан в предположении, что стерически менее нагруженная защита 2'-кислорода должна привести к повышению эффективности синтеза РНК. Стратегия защиты предусматривает использование двух ортогональных *защитных групп* — неустойчивой в кислотах 4,4'-диметокситритильной группы на 5'-О и неустойчивой к фторид-ионам силанильной группы на 2'-О. Атом кислорода в 3'-положении рибозы связан с 2-цианэтокси-(N,N-диизопропиламино)фосфинильным остатком, который обычно используется в стандартных методах синтеза ДНК и *TBDMS-методе* синтеза РНК (см. *олигонуклеотидов синтез*). Ниже приведены химические структуры ТОМ-нуклеозидфосфорамидитов.



Сборка олигонуклеотидов осуществляется с выходом более 99% и скоростью синтеза 1 нуклеотид за 2 мин. После сборки отделение последовательности от твердой подложки и отщепление ацетильных *защитных групп* от нуклеотида и *фосфодиэфирной связи* проводят в щелочной среде в условиях нуклеофильной атаки в системе $\text{MeNH}_2/\text{вода}/\text{этанол}$, затем удаляют оставшиеся группы 2'-ТОМ с помощью фторида тетрабутиламмо-

ния (ТВАФ). Последний этап с использованием ТВАФ может проводиться в тетрагидрофуране, содержащем до 20% воды. Это открывает возможности для большого разнообразия модификаций РНК, которые нестабильны в содержащих фторид-ионы растворах, например O⁶-трихлорэтилгуанозин-модифицированная РНК. Полное отщепление TBDMS-групп, напротив, происходит только в отсутствие воды и требует высушивания раствора ТВАФ.

В коммерческих синтетических аппаратах метод ТОМ позволяет провести рутинный синтез олигорибонуклеотидов до 80 оснований длиной. Полученные с помощью него олигорибонуклеотиды без дополнительной обработки являются целостными, очень чистыми и биологически активными. Метод ТОМ позволяет производить миллиграммы РНК чистотой выше 90%; метод был успешно коммерциализован (Xeragon Inc.). Дополнительным преимуществом метода является то, что он легко совместим с разнообразными способами мечения нуклеотидов и встраивания маркерных участков, разработанных для синтеза ДНК и *TBDMS-метода* синтеза РНК.

Ronald Micura

ТРР-рибопереключателъ. См. *тиаминпирофосфатный (ТРР) рибопереключателъ*.

tra-гены. *Гены*, несущие информацию, которая необходима для конъюгационного переноса *Ti-плазмиды* между клетками *Agrobacterium*.

ТФС-плечо. См. *риботимидиловая петля*.

ТФС-стебель—петля. См. *риботимидиловая петля*.

Т-ДНК (переносимая ДНК). Часть *Ti-плазмиды* в вирулентных штаммах *Agrobacterium tumefaciens*. При инфицировании растительной клетки эта часть ДНК переносится в нее и стабильно интегрируется в хозяйский *геном*, что сопровождается ее постоянной экспрессией и приводит к опухолевому росту.

Sabine Müller

Т-петля . *Риботимидиловая петля* в молекуле *транспортной РНК*.

Т-плечо. *Риботимидиловая петля* в молекуле *транспортной РНК*.

U

U. Урацил. См. *однобуквенный код*.

URF (НРС). Неопознанная рамка считывания (см. *открытая рамка считывания*).

3'-UTR. 3'-Нетранслируемая область.

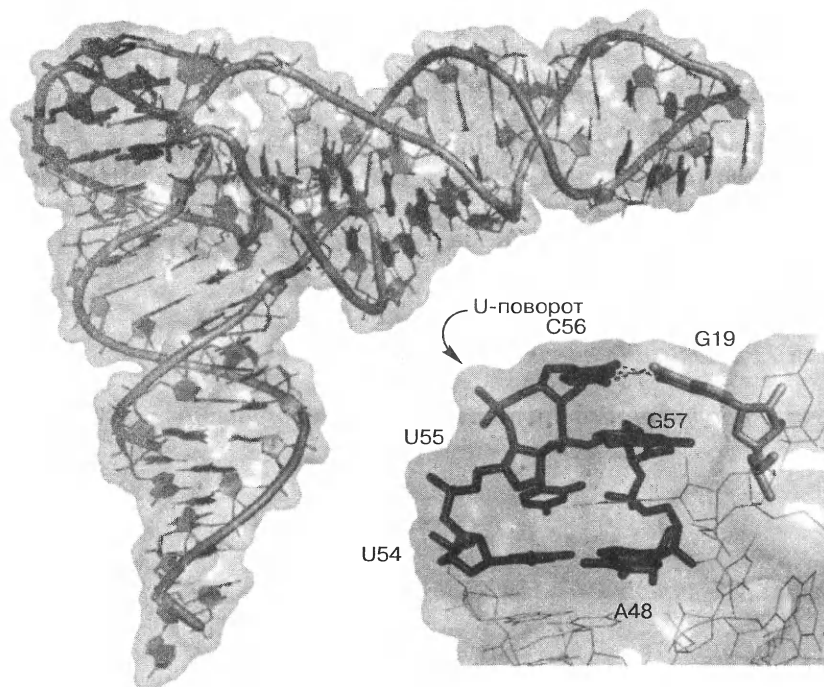
5'-UTR. См. 5'-нетранслируемая область.

U-мяРНК. Обогащенная уридиловой кислотой *малая ядерная РНК* (мяРНК, 60–215 нуклеотидов). Когда эти мяРНК были впервые идентифицированы и охарактеризованы, оказалось, что они содержат значительно больше остатков урацила, чем другие стабильные молекулы РНК, известные в то время. Сейчас термин относится к двум группам РНК. Одна из них включает мяРНК, которые участвуют в сплайсинге пре-мРНК, т. е. сплайсосомные РНК. Вторая состоит из большого числа малых ядрышковых РНК, вовлеченных в процесс созревания рибосомных РНК (см. РНК процессинг). Помимо этих двух групп еще одним представителем U-мяРНК является U7-РНК, принимающая участие в 3'-концевой модификации неполиаденилированных мРНК *гистонов*.

Bernd-Joachim Benecke

U-мяРНП. *Рибонуклеопротеин*, состоящий из *U-мяРНК* и белков сплайсосомы (см. *сплайсосомный РНП*).

U-поворот. Широко распространенный и хорошо охарактеризованный мотив структуры *РНК*, участвующий в образовании *третичной структуры*. Впервые обнаружен в молекуле фенилаланиновой *транспортной РНК* (тРНК^{Phe}), также характерен для кристаллической структуры *активного центра молотоголового рибозима*.



См. рис. II на цветной вклейке

Этот стабильный структурный элемент делает возможной резкую смену направления цепи и может замыкать шпильки РНК. Из-за того что этот мотив выставляет расположенные на 3'-стороне поворота *нуклеотиды* в сторону раствора, он может быть частью третичных взаимодействий на больших расстояниях. В типичном случае последовательность U-поворота имеет вид 5'-UNR-3', она замкнута парами YY, YA или GA. Как было выявлено при сравнительном анализе последовательностей, U-поворот представляет собой чрезвычайно распространенный мотив. В наборе последовательностей *рибосомных РНК* (библиотека последовательностей более чем 7000 видов) U-поворот идентифицирован 33 раза.

Harald Schwalbe

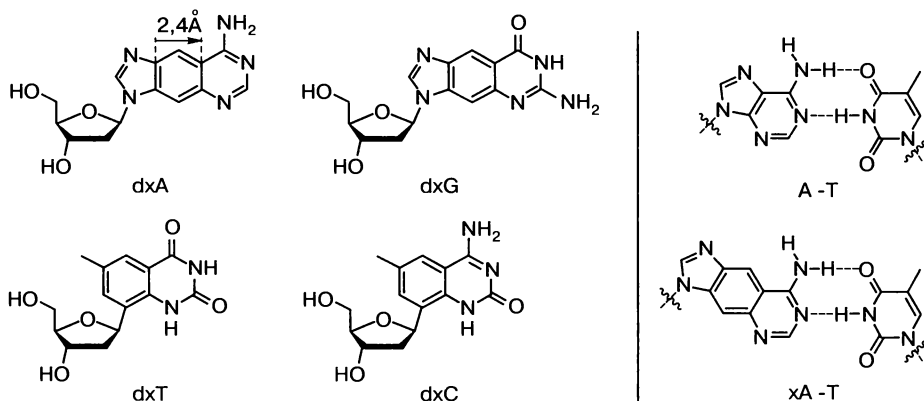
V

VS-рибозим. См. *рибозим сателлита Варкуд*.

V-плечо. См. *вариабельная петля*.

X

хДНК (расширенная ДНК). Искусственная система генного кодирования, аналогичная ДНК, в которой, однако, все пары оснований заменены новыми парами, имеющими геометрию, увеличивающую объем. Увеличенные основания хДНК связываются с нормальными основаниями, но их уотсон-криковские связи удлинняются до 2,4 Å (это ширина бензольного кольца, см. рисунок). Когда основания хДНК связываются с дезоксирибозой, полученные расширенные нуклеотиды называют dxA и dxG (бензопурины) и dxC и dxT (бензопиримидины).



Нуклеозиды хДНК с расширенными основаниями. Справа показана природная пара оснований (*вверху*) и расширенная (*внизу*)

Как и природная последовательность ДНК (каждая позиция занята А, Т, С или G), структура хДНК поддерживается уотсон-криковскими водородными связями (см. *уотсон-криковская пара оснований*) и стерической комплементарностью, что позволяет сохранять стабильность и избирательность. Связывание происходит по правилу пурин — пиримидин. При этом в хДНК модифицированные (бензо-) пиримидины образуют пары с пуринами, а бензопурины — с пиримидинами. Это приводит к образованию восьми возможных кодирующих пар оснований, тем самым возникает больше возможностей для хранения информации, чем в природной системе из четырех оснований. Теоретически функциональная генетическая система, основанная на хДНК, может быть независима от природной генетической системы. Последовательность пар оснований с увеличенными размерами может объединяться в полностью расширенные, правозакрученные, антипараллельные дуплексы, структурно сходные с природной В-формой ДНК (см. *В-ДНК*). Однако данные дуплексы хДНК имеют увеличенный диаметр (13 Å вместо 10 Å), более широкие большую и малую бороздки и меньшую закрученность спирали (около 12 пар оснований на виток). В связи с этим спирали хДНК более термостабильны, чем природная спираль аналогичной последовательности. Это вызвано усилением межплоскостного взаимодействия оснований хДНК благодаря увеличению суммарной площади ароматических (гетероциклических) групп молекулы. Увеличение размеров также наделяет основания хДНК способностью флуоресцировать, в то время как это свойство практически отсутствует у оснований природной ДНК.

хДНК-аналоги оснований способны селективно соединяться со своими природными уотсон-криковскими «партнерами» и образовывать с ними пары (т. е. хА предпочитает образовывать пару с Т в большей степени, чем с С, G и А); таким образом сохраняется возможность избирательного кодирования *генетической информации*. Способность хДНК хранить информацию так же, как сходная природная ДНК, конструктивно демонстрирует значение соответствующей геометрии пар оснований и однородной спиральной структуры в эволюции природной генетической системы. Кроме того, наблюдаемое отсутствие несоответствий в парах оснований и уникальная способность к флуоресценции хДНК делают их перспективным инструментом для детектирования нуклеиновых кислот.

Andrew T. Krueger, Eric T. Kool

Х-хромосома. Одна из двух *хромосом*, определяющих пол у многих видов животных вместе с *Y-хромосомой*. Такой тип определения пола обычно обозначается как XX/XY. Например, у самок млекопитающих две Х-хромосомы, и такой пол называется гомогаметным, а у самцов одна Х- и одна Y-хромосома, и их пол — гетерогаметный. У некоторых насекомых и нематод самки имеют две Х-хромосомы, а самцы — только одну Х-хромосому и не имеют никаких других половых хромосом. Такая система называется XX/X0. У других животных, таких как птицы и бабочки, самки обладают гетерогаметным полом, а самцы — гомогаметным. Такая система называется ZW/ZZ. Характерной особенностью систем XX/XY и ZW/ZZ является соотношение самцов и самок 1:1.

Генетические заболевания, вызываемые *мутациями* в *генах*, локализованных в X-хромосоме, называются X-сцепленными. Наиболее известный пример — наследование гемофилии в родословной королевы Виктории и некоторых ее потомков. Среди них дочери — принцесса Алиса (жена эрцгерцога Людвига IV Гессен-Дармштадского) и принцесса Беатриса (жена принца Генри Морица Баттенберга), сын принц Леопольд, который умер в возрасте 31 года от кровотечения после падения; внуки принцесса Аликс (позднее императрица Александра, жена русского императора Николая II), принцесса Алиса (жена Александра, принца Александра фон Тек) и принцесса Виктория Евгения Баттенберг (жена короля Испании Альфонса XIII); внуки принц Леопольд Баттенберг (умер в возрасте 33 лет, предположительно от кровотечения после хирургической операции) и принц Мориц Баттенбергский (погиб в возрасте 23 лет в битве на Ипре). В настоящее время в королевских семьях Англии и Испании гемофилия не наследуется. Поскольку мутация, вызывающая гемофилию, рецессивна и ее частота невелика, у женщин (XX) нормальная свертываемость крови, так как обычно у них есть нормальный аллель в одной из X-хромосом. А в Y-хромосоме отсутствует ген, который мог бы подавить вызывающую заболевание мутацию, и мужчины (XY), унаследовавшие X-хромосому с данной мутацией от своей матери, страдают гемофилией.

Mauro Santos

Y

YAC-библиотека. Библиотека человеческой геномной ДНК (или иногда геномной ДНК мыши), клонированной в искусственные дрожжевые хромосомы.

Y-хромосома. Одна из двух *хромосом*, определяющих пол у многих видов животных (см. *X-хромосома*). У человека Y-хромосома содержит лишь 78 *генов* и большая часть ее ДНК — гетерохроматин. Это стандартная ситуация для большинства видов, т. е. Y-хромосома содержит намного меньше генов, чем любая другая хромосома. У людей и других приматов в Y-хромосоме находится SRY (от англ. sex-determining region on Y — область Y-хромосомы, определяющая пол), который кодирует фактор, обуславливающий развитие яичек.

Mauro Santos

Z

Z-ДНК. Левозакрученная форма двойной спирали. Z-ДНК может быть образована нуклеотидными последовательностями, содержащими чередующиеся *пуриновые* и *пиримидиновые основания*. При этом стабильность Z-формы уменьшается в следующем порядке: $d(GC)_n > d(GT/AC)_n \gg d(AT)_n$. Впервые

существование Z-формы предположили на основании оптических исследований. Спектр кругового дихроизма полинуклеотида, в котором чередовались остатки dG и dC, был практически инвертирован в растворе с очень высокой концентрацией соли ($>2,5$ M NaCl), что указывало на изменение знака спирали (см. *спектроскопия кругового дихроизма*). При физиологических условиях линейная ДНК способна образовать Z-форму только если остатки цитозина в последовательности $d(GC)_n$ метилированы в положении 5. Данные рентгеноструктурного анализа монокристаллов гексануклеотида $d(GC)_3$, подтвердили образование левозакрученной двойной спирали с антипараллельной ориентацией цепей, на один виток которой приходится 12 *уотсон-криковских пар оснований*. В отличие от В-ДНК, где повторяющимся элементом спирали является одна нуклеотидная пара, в Z-ДНК таким структурным элементом служат две пары нуклеотидов с dC в *анти-конформации* и dG — в необычной для правых спиралей *син-конформации*. Кроме того, в чередующихся dG и dC различаются конформации остатков сахара и фосфатных групп. Сильно меняется угол поворота пар оснований друг относительно друга, составляя -45° для последовательности $d(GpC)$ и -15° для последовательности $d(CpG)$, а также геометрия стэкинг-взаимодействий оснований. В результате Z-ДНК имеет только один узкий желобок, соответствующий *малому желобку* В-ДНК. *Сахарофосфатный остов* левозакрученной спирали имеет зигзагообразный вид, давший название Z-ДНК этой неканонической форме. Кооперативный переход повторяющейся пурин-пиримидиновой последовательности в Z-форму наблюдается при увеличении ионной силы раствора и сопровождается поворотом оснований на 180° . При определенных условиях В- и Z-формы могут сосуществовать в одном ДНК-дуплексе. На стыке обеих форм несколько пар оснований деформированы и частично раскрыты, что представляет существенный энергетический барьер для перехода участка двойной спирали в левозакрученную Z-конформацию. *In vivo* ее стабильность повышается за счет энергии отрицательной *сверхспирализации ДНК*, которая генерируется в процессе транскрипции. Эффект стабилизации Z-формы объясняется тем, что изменение направления закручивания спирали на некотором участке ДНК с правого на левый снимает часть сверхвитков, способствуя уменьшению топологического стресса. Причем степень релаксации сверхспирализованной ДНК при образовании Z-формы последовательностью $d(GC)_n$ вдвое выше той, которая наблюдается при образовании *крестообразной структуры* этой же последовательностью.

Показано, что Z-ДНК может существовать *in vivo* и у прокариот и у эукариот. Для обнаружения того, какие участки генома находятся в Z-конформации были, в частности, использованы моно- и поликлональные антитела, полученные к этой неканонической форме; ведь Z-ДНК, в отличие от В-ДНК, является высокоиммуногенной. Антитела, узнающие Z-форму, фиксировали на ДНК с помощью облучения лазером при 266 нм (см. *ультрафиолетовое лазерное облучение*). Z-ДНК локализована главным образом в регуляторных областях генома и ассоциирована с высокой транскрипционной активностью; репликация ДНК мало влияет на ее образование. Хотя Z-форма существует в живой клетке лишь очень короткое время, она играет важную роль в регуляции генной экспрессии. Полагают, что

ее образование в 5'-положениях от промотора снижает избыточное напряжение отрицательной сверхспирализации, которая образуется позади движущейся вдоль двойной спирали ДНК молекулы РНК-полимеразы. Кроме того, образование Z-ДНК может облегчать гомологичную рекомбинацию, смягчая топологические проблемы, влияя на организацию и динамику хромосомных доменов. Выяснению биологической роли Z-формы способствовало открытие белков (белковых доменов), которые узнают эту структуру и эффективно связываются с ней. Z-ДНК связывающие домены найдены в ассоциированном с опухолями белке DLM-1 и в белке редактирования — аденозиндезаминазе двухцепочечной РНК. Стабилизация Z-формы этим ферментом может блокировать дальнейшую транскрипцию гена до тех пор, пока редактирование РНК не будет завершено. Связывание с Z-ДНК является характерной особенностью продукта гена E31 в ДНК-содержащих коксвирусах, что необходимо для проявления биологической активности E3L (белок, не связывающийся с Z-формой, не патогенен. Однако мутация, которая приводит к появлению Z-ДНК-связывающего домена, делает вирус летальным).

Н. Г. Долинная

А

aaPC (aaRS). См. *аминоацил-тРНК-синтетаза*.

aa-тРНК. См. *аминоацил-тРНК*.

Автомат на основе дезоксирибозимов. Схемы, базирующиеся на логических вентилях на основе *дезоксирибозимов*, которые разработаны для формирования осмысленного ответа на последовательность начальных запросов. Опубликованы данные о двух играющих в крестики-нолики автоматах: MAYA и MAYA-II. В этих автоматах логические вентили расположены в виде ячеек, образующих поле для игры в крестики-нолики (3×3). Ходы человека кодируются введением *олигонуклеотидов*, которые добавляются во все ячейки. Добавление исходного условия запускает в ответ цикл в одной ячейке (но не в других); этот ответ — ход автомата. MAYA состоит из 23 логических вентилях и играет в симметричные крестики-нолики, анализируя восемь возможных исходных ходов и кодирует 19 разных способов развития игры. MAYA-II играет в обычную игру и состоит из 128 логических вентилях, кодирующих 76 вариантов развития игры (см. автомат Шапиро—Бененсона—Ротемунда).

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

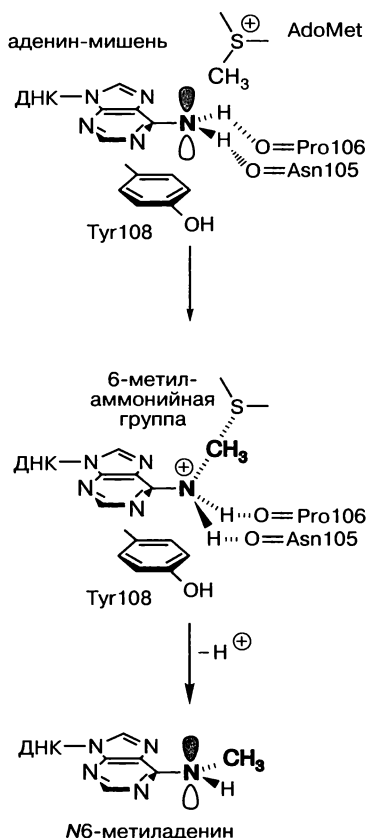
Автомат Шапиро—Бененсона—Ротемунда. Такие автоматы воплощают математическую модель выбора: простого «компьютера», который переключается между двумя состояниями. Он обрабатывает последовательности из символов (цепочки) по одному символу за шаг, при этом последующее состояние определяется настоящим состоянием и новым символом. «Ввод» представляет собой *двухцепочечную ДНК* (дцДНК), кодирующую строку.

Входящий (крайний левый) символ дцДНК частично преобразуется в *липкий конец*, чье смещение относительно символа отражает состояние автомата. Последовательные расщепления, производимые в этой молекуле *эндонуклеазами рестрикции* (например, *FokI*) по правилам «расщепления» (перехода) молекулами, и есть вычисление. Разрезаемая молекула включает в себя *сайт связывания FokI*, удаленный на необходимое расстояние от липкого конца. Последний связывается с липким концом заданной молекулы-«ввода» и позволяет ферменту образовать новый липкий конец в пределах следующего символа, тем самым переключая состояние. Принимая, что каждой комбинации из состояния и символа, возникающей в ходе вычисления, соответствует некая разрезаемая молекула, автомат повторяет процесс до тех пор, пока не обработаются все введенные символы. Каскад формирует уникальную молекулу, которая отражает конечное состояние автомата. Более совершенные автоматы способны анализировать введенные *олигонуклеотиды*, которые могут взаимодействовать (блокировать или активировать) с сайтами рестрикции и могут производить новые олигонуклеотиды с помощью расщепления, используя вычисления произвольных булевых функций.

Yaakov Benenson

Адаптерная гипотеза. См. *транспортная РНК, гипотеза качания.*

Аденин(Н6)-ДНК-метилтрансфераза. Вместе с цитозин(Н4)-ДНК-метилтрансферазой осуществляют метилирование не входящих в ароматический цикл (экзоциклических) аминогрупп в *азотистых основаниях*; и относятся к группе N-ДНК-метилтрансфераз. Они катализируют перенос метильной группы с кофактора S-аденозил-L-метионина (AdoMet, см. *ДНК-метилтрансфераза*) на аминогруппу при С6 молекулы *аденина* или при С4 молекулы *цитозина* в специфических последовательностях ДНК. При сравнении последовательностей N-ДНК-метилтрансфераз выявлены девять консервативных мотивов, которые соответствуют девяти структурным мотивам в молекулах С-ДНК-метилтрансфераз (см. *цитозин(С5)-ДНК-метилтрансферазы*). В зависимости от порядка расположения консервативных мотивов и положения варибельного домена эти ферменты можно разделить на α -, β - и γ -N-ДНК-метилтрансферазы. Трехмерная структура фермента в комплексе с ДНК описана для аденин(Н6)-ДНК-метилтрансфераз *M.TaqI* и *Dam* из бактериофага Т4. Показано, что эти ферменты выворачивают целевые остатки аденина из спирали ДНК и захватывают их своими *активными сайтами* (см. *оснований выворачивание*). В активном сайте метилтрансферазы *M. TaqI* аденин вступает в тесный π -стэкинг (взаимодействие «плоскость к плоскости») с консервативным остатком *Tyr108*, а аминогруппа при С6 образует две слабые водородные связи с карбонильными группами остатков консервативных аминокислот *Asn105* и *Pro106* (так называемый *N/D/SPPY/F-мотив* N-ДНК-метилтрансфераз). Аминогруппа оказывается рядом с активированной метильной группой кофактора AdoMet; перенос метильной группы на *p*-орбиталь N6, имеющего sp^2 -гибридизацию, должен приводить к изменению гибридизации на sp^3 . Возникающая в результате тетраэдрическая 6-метиламмониевая группа будет стабилизирована катион- π -взаимодействием с *Tyr108* и прочными водородными связями с карбонильными группами остатков *Asn105* и *Pro106*.



Аденин(Н6)-ДНК-метилтрансфераза: механизм каталитического действия N-ДНК-метилтрансфераз на примере M. TaqI

В дальнейшем депротонирование 6-метиламмониевой группы возвращает sp^2 -гибридизацию N6, в результате чего образуется N6-метиладенин.

Elmar Weinhold

Аденин. Одно из четырех природных азотистых оснований в ДНК и РНК.

Аденина арабинозид. См. арабинонуклеозиды.

Аденина ксилозид. См. ксилонуклеозиды.

Адениновый рибопереключателъ. Сходен по структуре и функции с гуаниновым рибопереключателем. Поэтому оба класса обычно называют пуриновыми рибопереключателами.

Аденозин. Природный структурный элемент РНК (см. нуклеозиды).

Аденозиндифосфат (АДФ). См. аденозинфосфаты, нуклеозидфосфаты.

Аденозинмонофосфат (АМФ). См. аденозинфосфаты, нуклеозидфосфаты.

Аденозинтрифосфат. См. *аденозинфосфаты, нуклеозидфосфаты.*

Аденозинфосфаты. Помимо роли структурных компонентов в нуклеиновых кислотах А. представляют собой основные запасные вещества и переносчики энергии в клетке. *АТФ* — промежуточный продукт всех клеточных процессов, которые приводят к запасанию энергии в форме химических соединений. Его биосинтез происходит в ходе фосфорилирования *АДФ* путем переноса фосфата либо от макроэргических (высокоэнергетических) фосфатов, либо от креатинина, либо с других *нуклеозидтрифосфатов* (см. *нуклеозидфосфаты*). Энергия, запасенная в форме *АТФ*, используется для синтеза макромолекул, а также для активации различных соединений и метаболитов. Кроме этого, в ряде клеточных процессов А. играют роль регуляторов обмена, например в гликолизе или цикле Кребса. В живых организмах *АМФ*, *АДФ* и *АТФ* существуют в равновесии, причем физиологические концентрации *АДФ* и *АТФ* составляют около 10^{-3} моль/л.

Sabine Müller

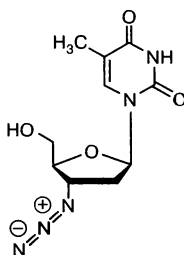
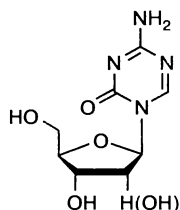
АДФ. См. *аденозиндифосфат, аденозинфосфаты, нуклеозидфосфаты.*

5-Азациитидин (5-АС). Аналог *цитидина*, который используют для изучения *метилования ДНК*. При включении в молекулу ДНК 5-АС изменяет закономерности метилирования. Из-за наличия атома азота в положении 5 остатка цитозина ферментативное присоединение метильной группы по этому положению невозможно. Ингибирование метилтрансфераз приводит к недостаточному метилированию соответствующей последовательности ДНК и *активации гена*, поскольку многие гены «выключаются» путем метилирования цитозина, особенно в *промоторных последовательностях*.

Sabine Müller

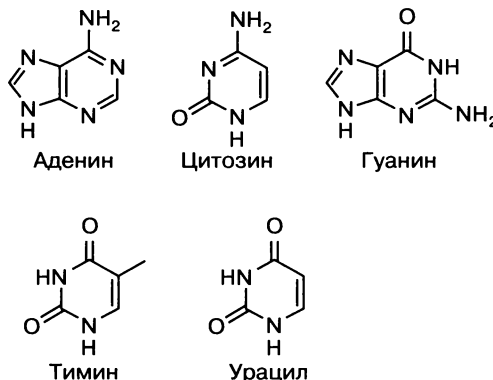
Азидотимидин (зидовудин). Аналог тимидина, в котором гидроксильная группа в $C3'$ -положении замещена азидогруппой. Азидотимидин — противоретровирусный препарат, который ингибирует активность обратной транскриптазы. Азидная группа повышает липофильное сродство А., поэтому он легко проникает через мембраны клеток путем диффузии. Эффективная форма А. — 5'-трифосфат, который образуется под действием клеточных ферментов.

Bettina Appel



Азотистые основания. Гетероциклические азотсодержащие основания, входящие в состав *нуклеозидов*. В молекуле ДНК *аденин*, *цитозин*, *гуанин* и *тимин* присоединены *N-гликозидной связью* к атому С1 остатка *2'-дезоксирибозы*. В молекуле РНК А. о. ковалентно связаны с *рибозой*, а тимин заменен на *урацил*. Наряду с перечисленными главными А. о., существует ряд модифицированных оснований, например, в *транспортных РНК* и *рибосомных РНК*, где они играют важную роль в осуществлении соответствующих функций (см. *редкое основание*, *редкий нуклеотид*).

Sabine Müller



АК-плечо. См. *антикодонное плечо*, *транспортная РНК*.

Активатор. *ДНК-связывающий белок*, который повышает интенсивность транскрипции за счет облегчения взаимодействия между *РНК-полимеразой* и *промотором*.

Активная конформация. Структурная организация *каталитической РНК*, при которой возможно непосредственное осуществление этой молекулой специфической функции. По ходу реакции молекула РНК нуждается в ассоциации с субстратом для приобретения активной (способной к катализу) конформации (см. *модель индуцированного соответствия*). Например, РНК-связывающий модуль *РНКазы Р*, специфически взаимодействующий с *ССА-«хвостом» предшественника тРНК*, приобретает функционально активную структуру только после связывания с субстратом, которое в дальнейшем вызывает перегруппировку ионов металлов.

В формирование А. к. каталитических РНК вносят вклад три основных фактора: периферические структурные элементы РНК, участвующие в *контактах отдаленных участков третичной структуры*; ионы металлов; белковые кофакторы. В случае *молотоголового рибозима* недавно было показано, что в естественных условиях образуются контакты третичной структуры между петлями двух плеч их *Y-подобной структуры*. Эти контакты, по-видимому, поддерживают *укладку РНК* в состоянии, соответствующем (или близком) каталитически активной конформации. Важным следствием является существенно меньшая потребность в катионах Mg^{2+} для активного функционирования. Для стабилизации *каталитического ядра* и приобретения активной конформации крупные молекулы *рибозимов* используют

периферические структурные элементы, участвующие во взаимодействиях отдаленных участков третичной структуры. В некоторых интронах, подверженных *автосплайсингу*, взаимодействия отдаленных участков опосредованы белковыми кофакторами. Рибонуклеиновый компонент РНКазы Р нуждается в небольшом основном белке для стабилизации структуры каталитического ядра, которая приводит к формированию высокоаффинных *сайтов связывания* для ионов Mg^{2+} при ассоциации с субстратом и катализе. Этот белок, таким образом, снижает потребность фермента в Mg^{2+} .

Как и белковые ферменты, рибозимы претерпевают смену нескольких конформационных состояний в ходе функционального цикла. Например, значительное изменение конформации происходит, когда гуанозиновый кофактор интронов I группы заменяется 3'-концевым омега-G после первого этапа *трансэтерификации*. Рентгеноструктурный анализ рибозима *вируса гепатита дельта* в состояниях до и после расщепления показал, что значительное изменение конформации происходит после расщепления. Это превращение может быть интерпретировано как нарушение структуры активного сайта продукта, в ходе которого каталитический ион металла теряется, а каталитический остаток C75 перемещается таким образом, что обратная реакция (см. *лигирование*) становится неблагоприятной.

Обычно неизвестно, какую долю от общего количества молекул рибозима составляют молекулы в каталитически активной конформации. Электрофорез в полиакриламидном геле позволяет провести первичную оценку числа конформационных состояний и ответить на вопрос, является ли популяция рибозимов конформационно гетерогенной.

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Активного сайта химия. Природные *малые нуклеолитические рибозимы* (*молотоголовый рибозим*, *рибозим сателлита Варкуд*, *вирус гепатита дельта* (ВГД) и *шпильчатый рибозим*) катализируют сайт-специфический гидролиз *фосфодиэфира* с образованием 5'-гидроксила и 2',3'-циклического фосфата как продуктов расщепления. Они активируют нуклеофильные свойства 2'-гидроксила в расщепляющемся фосфодиэфире. Напротив, природные большие рибозимы (*интрон I группы*, *РНК-компонент РНКазы Р* интрона II группы) катализируют гидролиз фосфодиэфира или перенос фосфорильной группы (см. *трансэтерификация*) с образованием 5'-фосфатов и 3'-гидроксидов. Основная общая особенность их каталитического действия — предотвращение участия 2'-гидроксила в реакциях фосфодиэфира в роли нуклеофила.

В случае молотоголового рибозима ион двухвалентного металла предположительно образует внутрисферный контакт с немостиковым атомом кислорода в расщепляемом фосфодиэфире *pro-Rp*. Линейную зависимость логарифма скорости реакции от pH интерпретируют как свидетельство того, что гидроксид, связанный с тем же ионом металла, депротонирует 2'-гидроксил для нуклеофильной атаки. У геномного рибозима HDV N3-атом ключевого каталитического остатка C-75 проявляет основные свойства и депротонирует атакующий 2'-гидроксил. Гидратированный ион металла, расположенный рядом, проявляет кислотные свойства и служит

донором протона для 5'-оксоаниона уходящей группы. Для *шпилечного рибозима* каталитическая роль ионов двухвалентных металлов не была показана. Атом N1 (возможно, в протонированной форме) и 6-аминогруппа остатка A38 обеспечивают электростатическую стабилизацию *переходного состояния*.

Большие рибозимы осуществляют катализ, опосредованный ионом металла (с особой ролью двух или большего числа ионов магния) и сходный с активностью белковых фосфорилтрансфераз. Ионы металла активируют нуклеофил, стабилизируют переходное состояние или уходящую группу путем прямого координирования с мостиковыми и немостиковыми атомами кислорода фосфата, либо содействуют переносу протона на уходящий атом кислорода.

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Активный сайт. Обозначает некоторый набор структурных элементов и функциональных групп *каталитических РНК*, которые (а) непосредственно взаимодействуют с реакционноспособным фосфодиэфиром или фосфатом (или определяют его положение), (б) напрямую вовлечены в реакцию или (в) связываются с *лигандами*, участвующими в реакции, такими, например, как каталитические ионы металлов. А. с. может быть доступен для растворителя (как у *молотоголовых рибозимов*) или глубоко скрыт в молекуле, как в рибозиме *вируса гепатита дельта* (ВГД). У рибозимов известны различные модели строения активного сайта. Например, у рибозима ВГД структура А. с. сформирована в виде вложенного *двойного псевдоузла*, где пять спиральных сегментов образуют два протяженных стэкированных (см. *оснований стэкинг*) спиральных участка, объединенных за счет нескольких пересечений цепей. В *шпилечном рибозиме* А. с. образуется путем параллельной стыковки двух неправильных спиралей и двух стопок спиралей полностью спаренных оснований *четырёхстороннего соединения*. *Интроны I группы* свернуты в компактную глобулярную структуру за счет объединения трех главных доменов (P4/5/6, P3/7/8/9, P1/2/10), а большие сегменты консервативного *каталитического ядра* экранированы от растворителя. А. с. *интрона I группы* образуется при возникновении контактов между элементами P1, P3, P4, P6, P7, J4/5 и J8/7.

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Активный центр. Термины «активный центр» и «*активный сайт*» часто используют как синонимы. Однако понятие «активный центр» может описывать более обширный регион, чем «активный сайт». Например, активный центр *интрона I группы* состоит из элементов P1, P3, P4, P6, P7, J4/5 и J8/7, но лишь *функциональные группы* в этих структурных элементах образуют активный сайт. «*Каталитическое ядро*» — это минимальный архитектурный элемент, необходимый для осуществления *катализа*; оно больше «активного центра», поскольку в ядро обычно входят элементы РНК, которые поддерживают активный центр (например, P4/5/6, P3/7/8/9 и P1/2/10 в интронах I группы).

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Акцепторное плечо. Петля L-подобной трехмерной структуры *транспортной РНК* (тРНК), предназначенная для связывания с аминокислотой и содержащая консервативный *ССА-«хвост»* на 3'-конце. Образуется за счет *торцевого стэкинга* дигидроуриловой петли (см. *ДГУ-петля*) и акцепторных спиралей РНК молекулы тРНК в конформации клеверного листа. *Антикодоновая петля* формирует вторую ветвь.

Stefan Vörtler

Акцепторный конец. Консервативный одноцепочечный *ССА-«хвост»* транспортной РНК на конце акцепторного плеча.

Акцепторный стебель. См. акцепторное плечо.

Алгоритмическая самоорганизация. Обобщение механизмов роста кристаллов, которое рассматривает закономерности образования сложных форм из смеси молекул нескольких видов. Молекулы моделируются как плитки Ванга, которые представляют собой геометрические фигуры (например, квадраты), стороны которых помечаются для обозначения специфических связей и взаимодействий. Плитки можно добавить к структуре-затравке, если они соответствуют достаточно большому числу сторон. Большие и сложные структуры можно построить с использованием небольшого числа типов плиток с учетом соответствующих правил. В принципе, плитки Ванга можно создать на основе правильно построенных молекул белков (или других соединений), но к настоящему моменту в демонстрационных экспериментах используют плитки Ванга на основе ДНК. Построены алгоритмические кристаллы на основе конфигурации треугольника Серпинского, двоичной системы счисления и при прямом копировании информации. Актуальными являются задачи уменьшения частоты ошибок и зарождения ростовых процессов на структурах-затравках.

Erik Winfree

Алкилирующий агент. См. *ДНК алкилирующий агент*.

Алкилтрансфераза. Фермент, осуществляющий перенос алкильной группы (см. *метилтрансфераза*).

Аллель. Одна из двух (или большего числа) альтернативных форм *гена*, расположенных в соответствующем районе (локусе) *гомологичных хромосом*.

Аллостерическая активация. Изменение конформации биомолекулы, вызванное взаимодействием с низкомолекулярным компонентом. Аллостерические эффекты играют важную роль в регуляции ферментативной активности. Обычно домен, связывающийся с *лигандом*, расположен в отдалении от каталитического центра. Сконструированы многочисленные *аллостерические рибозимы*. Активность этих *рибозимов* зависит от присутствия соответствующего лиганда, который связывается с аллостерическим доменом рибозима и усиливает (позитивная регуляция) или ослабляет (негативная регуляция) его активность.

С А. а. связана также регуляция активности генов на уровне *матричной РНК*. Связывание метаболитов со специфическими сайтами в *5'-нетранслируемой области* определенных мРНК может вызывать конформационные из-

менения, которые в свою очередь приводят к преждевременной *терминации транскрипции* или *ингибированию трансляции* (см. *рибопереключитель*).

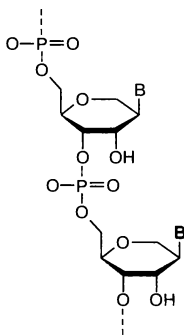
Sabine Müller

Аллостерические рибозимы (аптазимы). Рибозимы, которые могут регулироваться аллостерическими кофакторами. А. р. состоит из мотива РНК, обладающего высоким сродством к специфическому лиганду (см. аптамер), и каталитического мотива. Мотивы соединены через связующий модуль, который способен реагировать на связывание лиганда и передавать информацию о нем на каталитическую часть, тем самым выполняя активацию. А. р. могут быть сконструированы путем комбинирования предварительно подобранного аптамера с известным рибозимом, например с *молотоголовым рибозимом* или *шпильчатым рибозимом*. Альтернативные А. р. можно выбрать из случайной библиотеки РНК. Для этого синтетическую библиотеку РНК следует проанализировать на предмет активных форм в присутствии (или в отсутствие) специфического лиганда. См. *аллостерическая активация*, *in vitro эволюция нуклеиновых кислот*, *рибозим*.

Sabine Müller

Аллостерия. См. *аллостерическая активация*, *аллостерический рибозим*.

Алтритолнуклеиновая кислота (АНК). Аналог РНК на основе фосфорилированного D-алтритолового остова. Азотистое основание связано с 2-(S)-атомом углеводного компонента.



Альтернативный сплайсинг. Способ получения различных зрелых молекул *матричных РНК* (мРНК) с одного *первичного транскрипта*. Этот механизм был впервые открыт у вирусов и, как предполагалось, был связан с ограниченным объемом их генетического материала. В настоящее время пути А. с. открыты у большинства эукариот. Возможность получения более одного функционального продукта с одной *пре-мРНК* — наиболее вероятное объяснение сравнительно невысокой сложности геномов многоклеточных организмов (удивительно, например, но число функциональных *генов* у млекопитающих очень небольшое — около 30 000). Наряду с *регуляцией транскрипции* А. с. составляет важную основу дифференциальной *экспрессии генов* при дифференциации клеток и в ходе процессов развития, например определения пола. А. с. может заключаться в том, что *интроны* вырезаются по различным сайтам (и сохраняется разное число *экзонов*) в молекуле

пре-мРНК. Кроме того, может происходить альтернативное установление сайтов инициации и терминации синтеза белка, т. е. *стартового кодона* и *стоп-кодона*. Хотя детали механизма А. с. подлежат уточнению, было показано, что в него вовлечены как интронные, так и экзонные регуляторные элементы. Эти элементы могут выступать в роли энхансеров или сайленсеров сплайсинга. На уровне белков обширное семейство *SR-белков* (богатых серином и аргинином) участвует в выборе сайта сплайсинга. По-видимому, SR-белки являются функциональными антагонистами семейства главных *гетерогенных ядерных рибонуклеопротеинов* (гяРНП). Альтернативный сплайсинг может выражаться в виде (а) пропуска экзонов, (б) альтернативного выбора 3'-сайта сплайсинга, (в) альтернативного выбора 5'-сайта сплайсинга и (г) *сохранения интронов*. Хотя большой и малый классы сайтов альтернативного сплайсинга несовместимы друг с другом, были описаны редкие случаи структуры «интрон в интроне». Такая структура предполагает, что интрон большого класса фланкирован *АТАС-сайтами сплайсинга*; сплайсинг протекает по одному из двух альтернативных путей.

Bernd-Joachim Benecke

Амбер-кодон. *Стоп-кодон* UAG, которому соответствует специфическая *супрессорная транспортная РНК* амбер-типа. Название «амбер» (Am) первоначально было использовано для обозначения мутации лабораторного штамма, которая оказалась *нонсенс-мутацией*. Это название напоминает о вкладе в работу одного из участников проекта, аспиранта Харриса Бернштейна (нем. *Bernstein* соответствует англ. *amber* — янтарь).

Stefan Vörtler

Амбер-мутация. Одна из *нонсенс-мутаций*.

Аминоацилирование. Активация аминокислот, предназначенных для синтеза белка, путем образования эфирной связи между карбоксильной группой аминокислоты и 2'- или 3'-гидроксилом терминальной *рибозы транспортной РНК* (см. *аминоацил-тРНК*, *аминоацил-тРНК-синтетаза*).

Stefan Vörtler

Аминоацил-тРНК. Продукт реакции *аминоацилирования*, катализируемой *аминоацил-тРНК-синтетазами*, которые активируют аминокислоты для *трансляции* путем их этерификации терминальной *рибозой* соответствующей *транспортной РНК*. Образование сложноэфирной связи на 2'- или 3'-гидроксигруппе зависит от класса синтетазы. Оба типа эфиров высокоэнергетические (около 30 кДж/моль) и реакционноспособные, с чем связан короткий период их полужизни. Наряду с гидролизом и аминолизом с участием соседней α -аминогруппы происходит обратимая трансефирфикация 2'- и 3'-гидроксигрупп, так как все *рибосомные* аминоацил-тРНК ацилированы по 3'-положению. Стабильность эфиров существенно возрастает, после того как α -аминогруппа связывается (как в *пептидил-тРНК*) или экранируется, связываясь с *фактором элонгации* EF-Tu/EF1 α . По этой причине успешность биосинтеза белка зависит от быстрого связывания аминоацил-тРНК с многочисленными факторами элонгации — наиболее распространенные белки в цитозоле (5–10% общего содержания белка).

Активированные аминокислоты, кроме того, являются предшественниками в биосинтезе порфирина у растений и фотосинтезирующих бактерий (глутаминовая тРНК^{Glu}), а также в синтезе бактериальных пептидогликанов (глициновая тРНК^{Gly}).

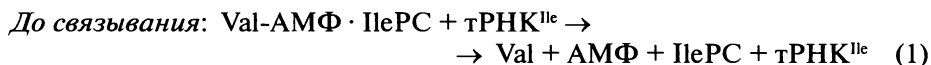
Stefan Vörtler

Аминоацил-тРНК-связывающий сайт (А-сайт). Сайт связывания для *аминоацил-тРНК* в *рибосоме* (см. *трансляция*).

Аминогликозиды. Антибиотики, часто используемые при лечении менингита и муковисцидоза. А. не усваиваются пищеварительной системой, поэтому требуют внутривенного или внутримышечного введения. Связывание А. с 30S-субъединицей бактериальной *рибосомы* ингибирует перенос *пептидил-тРНК* с А-сайта на Р-сайт и может вызвать неверную расшифровку *матричной РНК*. Это ведет к подавлению синтеза белка и прекращению роста бактерий.

Bettina Appel

Аминокислоты сайт связывания. Реакционный центр в молекуле *аминоацил-тРНК-синтетазы* (aaРС), ответственный за специфическое связывание и активацию одной из 20 канонических аминокислот, входящих в состав белков. В 1954 г. Полинг обнаружил, что невозможно различить структурные изомеры (валин и изолейцин) или аминокислоты, различающиеся только метильной группой (треонин и серин или цистеин), только на основании сродства к связыванию. Энергетика связывания очень сходна, однако aaРС вынуждена распознавать такие различия. В природе существует несколько последовательных реакций для обеспечения высокой селективности. (а) Механизм «двойного сита» исключает связывание со слишком крупными или стерически несоответствующими аминокислотами — меньшие по размеру и энергии аминокислоты отвергаются из-за слишком малой энергии связывания. (б) Дополнительный проверочный тест оценивает как аденилаты аминокислот, так и аминоацилированные *транспортные РНК* (тРНК) и удаляет неверно связанные аминокислоты. Эти механизмы проверки до и после связывания (уравнения 1 и 2 соответственно) функционируют в разной степени для разных aaРС. Классический пример — различие валина и изолейцина изолейцин-тРНК-синтетазой:



Значительный интерес биотехнологов вызывает возможность активации и включения неприродных аминокислот в белки путем расширения *генетического кода*. Чтобы избежать взаимодействия с нормальной системой *расшифровки*, один из трех *стоп-кодонов* обычно перестраивают для кодирования *супрессорной тРНК*. В процессе расшифровки *рибосома* не контролирует правильность присоединения аминокислоты к тРНК (см. *аминоацил-тРНК-синтетаза*, *трансляция*). Интенсивные разработки проводились в двух направлениях. (а) Выделение или конструирование aaРС, способных распознавать и активировать искусственно синтезированные

ные аминокислоты (это действительно трудно, поскольку основная задача этих ферментов — правильная активация соответствующей аминокислоты). (б) Создание ранее не существовавших тРНК, которые бы не взаимодействовали с естественной системой аминоацилирования в данном организме. Присутствие любой дополнительной тРНК не имеет смысла, если она не является субстратом для эндогенных ааРС. Перспективно использование пары ааРС/тРНК дрожжевого или архейного происхождения в прокариотической клетке, так как они неспособны к взаимному распознаванию гетерологичных молекул. Несколько таких систем ортогонального аминоацилирования были созданы в ходе масштабных работ с применением методов белковой и клеточной инженерии. Альтернативный способ химического аминоацилирования и дополнения системы трансляции аминокислот супрессорными тРНК также используется, но ограничен нестабильностью аминокислотной связи, что снижает эффективность и выход.

Способность молекул РНК напрямую связывать аминокислоты была в течение длительного времени предметом обсуждения в свете концепции *мира РНК*, *адаптерной гипотезы* и происхождения *генетического кода*. Искусственные *аптамеры* и *рибозимы* с функциями аминоацилирования обладают такой способностью, равно как и природные системы *рибонепереклюателей* в матричной РНК, связанные с регуляцией метаболизма. Сейчас активно проводятся статистический анализ известных РНК-связывающих мотивов и анализ соответствия *кодонов* определенных аминокислот. Результаты этих исследований могут пролить свет на стереохимическое происхождение *генетического кода*: *кодон* оказывался в соответствии с определенной аминокислотой, поскольку наиболее эффективно участвовал в ее связывании.

Stefan Vörtlér

2-Аминопурин. Флуоресцирующий аналог *аденина*. Образует комплементарную *пару* с *урацилом*, которая пространственно сходна с природной парой А—У. Флуоресценция 2-аминопурина имеет высокую интенсивность, если основание расположено в гибкой части молекулы, и ослаблена в случае включения аналога в более структурированное окружение. В связи с этим 2-аминопурин используют для изучения структурной динамики нуклеиновых кислот, в особенности *ассоциации* и *диссоциации* цепей, а также третичной структуры (см. *флуоресцентная микроскопия нуклеиновых кислот*).

Sabine Müller

Ампликон. ДНК-продукт, синтезированный путем *амплификации* (например, амплифицированный фрагмент ДНК, в том числе *гена*), или же фрагмент ДНК, размноженный путем клонирования, но обычно — последовательность, полученная в ходе *полимеразной цепной реакции* или *лигазной цепной реакции*.

David Loakes

Амплификация по механизму катящегося кольца. Высокочувствительный метод амплификации *плазмид* и других *кольцевых ДНК* в разных средах (в клетке, на твердой фазе и т. д.). В линейной модификации

единственный *праймер* комплементарно связывается с целевой *кольцевой ДНК*, и *ДНК-полимераза* синтезирует сотни конкатемеризованных копий в минуту. С использованием двух праймеров, один из которых связывается с *минус-цепью*, а другой — с *плюс-цепью* ДНК, может быть достигнут экспоненциальный рост числа копий целевой ДНК (до 10^9 копий за 90 мин; см. *репликация по механизму катящегося кольца*).

Jörn Wolf

Амплификация. Получение множественных копий последовательности ДНК, начиная с одного или нескольких фрагментов. Процесс А. может протекать *in vivo* при копировании *плазмиды* в бактериальной клетке или в культуре (см. *клонирование*), а также *in vitro* в ходе *полимеразной цепной реакции* (ПЦР). А., осуществляемая большинством *полимераз* (ДНК- и РНК-), обычно линейна, т. е. в ходе каждого раунда репликации образуется одна копия. В ходе ПЦР-амплификации целевой последовательности рост числа копий носит экспоненциальный характер.

David Loakes

АМФ. См. *аденозинмонофосфат, аденозинфосфаты, нуклеозидфосфаты*.

Анализ клонов. Оценка *клонов*. В зависимости от контекста позитивно отобранные при скрининге библиотек клоны представляют собой фаговые бляшки или клоны *плазмид*.

Аналог переходного состояния. Молекула, которая имитирует *переходное состояние* реакции.

Аналоги нуклеозидов и нуклеотидов. Любые производные природных *нуклеозидов* или *нуклеотидов*. В клинической практике аналоги нуклеозидов представляют собой синтетические соединения, которые распознаются как нуклеозиды клеточными системами (см. *5-фторуридин, азидотимидин, редкое основание, аналоги нуклеиновых кислот*).

Sabine Müller

Аналоги нуклеотидов. см. *аналоги нуклеозидов и нуклеотидов*.

АНК. См. *алтритолнуклеиновая кислота*.

Антибиотики. Вещества, которые затрудняют рост микроорганизмов. Часть А. взаимодействуют с ДНК или РНК, тем самым подавляя важные этапы метаболизма *нуклеиновых кислот* (см. *антрациклины, взаимодействие рибосомы с антибиотиками*).

Sabine Müller

Антикодон. Одноцепочечная тринуклеотидная последовательность (положения 34, 35 и 36) в дистальной части *антикодонного плеча* L-образной *транспортной РНК*. Быстрое формирование короткого дуплексного участка с соответствующим *комплементарным кодоном матричной РНК* в *А-сайте* рибосомы — необходимое начальное условие для *расшифровки генетического кода* в ходе *трансляции*.

Stefan Vörtler

Антикодоновая петля. Одноцепочечный петлевидный участок в дистальной части *антикодонового плеча транспортной РНК*, содержащий три-нуклеотидный *антикодон*. А. п. содержит семь нуклеотидов в положениях 32–38, краями связана с двойной спиралью стебля и включает инвариантный U33, обуславливающий *уридиновый поворот в фосфатном остове*. Все это способствует расположению оснований антикодона в оптимальном соответствии комплементарной области мРНК.

Stefan Vörtler

Антикодоновое плечо. Одна из ветвей L-образной трехмерной структуры *транспортной РНК*, несущая на конце *антикодон*, который предназначен для взаимодействия с *матричной РНК* в 30S-субъединице *рибосомы*. Образована торцевым стэкингом двуцепочечных риботимидиловой ТЧС и антикодоновой спиралей тРНК в конформации «клеверного листа». Вторую ветвь образует *акцепторное плечо*.

Stefan Vörtler

Анти-конформация. Определенное взаимное расположение гетероциклического основания и фуранозного остатка, возникающее при вращении основания вокруг гликозидной связи C1–N. Из двух предпочтительных конформаций (*син*- и *анти*-) *анти*-конформация наиболее энергетически выгодна, так как основание не нависает над фуранозным кольцом. Континуум поворотных изомеров, соответствующих *анти*-конформации, можно соотнести со значениями торсионного угла поворота вокруг гликозидной связи κ , или χ , ($\sim 150^\circ \div -100^\circ$). В растворе нуклеозидов между *анти*- и *син*-конформациями наблюдается быстрый равновесный переход; в пиримидиновых нуклеозидах преобладает *анти*-конформации, а в пуриновых нуклеозидах равно вероятны обе конформации. В канонических двуспиральных ДНК и РНК реализуется только *анти*-конформация. См. *гликозидный торсионный угол*.

Klaus Weisz

Антипараллельная ориентация. Взаимная ориентация цепей в *двуцепочечных* нуклеиновых кислот (НК), принадлежащих В-, А- и Z-семействам. При А. о. двух цепей их 5'-3'-*фосфодиэфирные связи* направлены в разные стороны, а псевдоось 2-го порядка, связывающая гликозидные связи в парах оснований, лежит в плоскости пар. Некоторые цепи трех- и четырехспиральных ДНК, образованных гомопуринов/гомопиримидиновыми последовательностями или трактами олиго(dG), также могут находиться в А. о.

Н. Г. Долинная

Антисмысловая РНК. РНК, которые важны для контроля биологических процессов на клеточном уровне, образуются при экспрессии клеточных и вирусных генов и *транскрипции некодирующих РНК*. А. Р. — одна из многих форм существования *нуклеиновых кислот*. А. Р. может иметь вид протяженных фрагментов или коротких *антисмысловых олигонуклеотидов*, комплементарных по нуклеотидной последовательности регулируемому *транскрипту*. Таким образом, А.Р. представляет собой форму *антисмысловых препаратов*, которая может быть получена при транскрипции *in vitro* РНК-полимеразами (например, РНК-полимеразой фага T7), а затем до-

ставлена в клетку, либо получена в ходе транскрипции непосредственно в клетках. Во втором случае *антисмысловая цепь* транскрибируется клеточными полимеразами с рекомбинантных *антисмысловых генов*, которые должны быть внедрены в целевые клетки и ткани с использованием методик *внедрения генов при генной терапии*. Антисмысловые гены могут находиться под контролем конститутивных *промоторов*, обеспечивающих стабильную экспрессию А. Р. Применительно к вирусной РНК-мишени этот подход получил название «внутриклеточной иммунизации». С целью временного корректирования нарушений активности экспрессии клеточных генов используют *индуцибельные промоторы*. Этот метод временного подавления экспрессии мишени с помощью А. Р. широко используют при изучении функции генов.

Georg Sczakiel

Антисмысловая стратегия. *Матричные РНК* (мРНК) переносят *генетическую информацию* (с ДНК на белок — в «смысловом» направлении). *Олигонуклеотиды* с последовательностью, комплементарной определенной мРНК, могут быть использованы для связывания этой мРНК (т. е. с антисмысловой последовательностью) и предотвращения ее *трансляции*. Исходно для блокирования трансляции использовали *антисмысловые олигонуклеотиды*, но в широком смысле к А. с. относят и последние разработки, такие как *рибозимные технологии* или *РНК-интерференция*. Для обозначения этих методик также часто используется термин «(посттранскрипционный) *сайленсинг генов*».

Антисмысловые агенты связываются с РНК-мишенью посредством *уотсон-криковских взаимодействий*. Поскольку последовательность минимум в 16 нуклеотидов в человеческом геноме статистически уникальна, можно ожидать, что связывание олигонуклеотидов такой длины будет весьма специфичным. Таким образом, А. с. обладают высокой точностью даже в случаях, когда низкомолекулярные реагенты недостаточно специфичны из-за сходства в строении родственных белков.

А. с. широко используются в области функциональной геномики. В настоящее время полная нуклеотидная последовательность генома человека доступна, однако точная функция многих *генов* и кодируемых ими белков неизвестна. А. с. позволяют применить подходы обратной генетики для определения роли генов путем специфического ингибирования их экспрессии. Полученный в результате *фенотип* дает возможность выявить функции утраченного белка. А. с. может дополнять анализ с использованием нокаутных животных. По сравнению с последними они более адресные, быстрые, экономически выгодные и могут быть применены даже в случаях, когда утрата изучаемого гена имеет летальный эффект в ходе эмбрионального развития.

Помимо этого, представляется многообещающим использование А. с. в терапии заболеваний, вызванных экспрессией нарушенных генов. *Антисмысловые олигонуклеотиды, рибозимы и малые интерферирующие РНК* были апробированы в клинических испытаниях для лечения широкого круга патологий, в том числе вирусных инфекций, воспалительных и онкологических заболеваний.

Jens Kurreck

Антисмысловая цепь. Некодирующая цепь *двухпочечной ДНК*, которая служит *матрицей* для синтеза *матричной РНК* в ходе *транскрипции* (см. *антисмысловый ген*).

Антисмысловой(ые) ген(ы). Последовательность, при экспрессии которой образуется РНК, комплементарная *матричной РНК* целевого *гена*. А. г. эффективно блокируют экспрессию соответствующих «смысловых» генов и усиливают стратегии инактивации, основанные на *РНК-интерференции*.

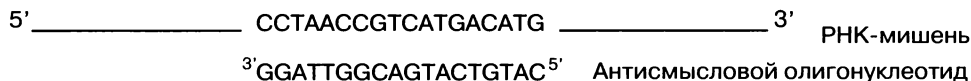
Mauro Santos

Антисмысловой препарат. *Антисмысловой олигонуклеотид*, используемый как терапевтический агент при лечении различных патологий, например онкологических заболеваний или вирусных инфекций. Первый А. п., витравен, был одобрен Комиссией по продуктам питания и лекарственным средствам США для лечения цитомегаловирусного ретинита.

Irene Drude

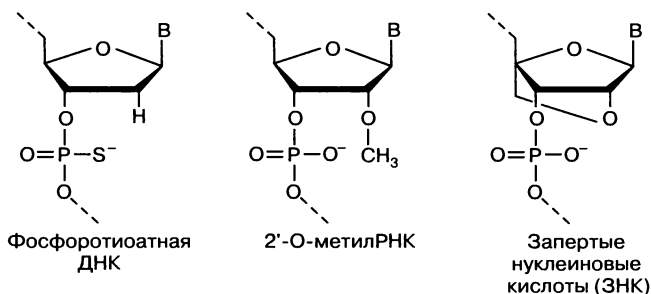
Антисмысловые олигонуклеотиды (ASON). Олигомеры ДНК (15–20 нуклеотидов), связывающиеся с целевой комплементарной РНК посредством *уотсон-криковских взаимодействий*. Их потенциал в сиквенс-специфическом ингибировании экспрессии *генов* изучают с конца 1970-х гг. А. о. гибридизуются с *целевой РНК* и активируют клеточную эндонуклеазу (*РНКазу Н*), которая распознает *ДНК–РНК-гибриды* и расщепляет РНК-компонент *гетеродуплекса*. В результате не происходит синтеза белка, кодируемого целевой мРНК. Еще один механизм, при помощи которого А. о. ингибируют *трансляцию*, — пространственное блокирование *рибосомы*. Кроме того, А. о. могут быть нацелены на сайты *сплайсинга*, изменяя ход сплайсинга *пре-мРНК*.

Так как природные олигонуклеотиды ДНК быстро деградируют в природных системах, А. о. нуждаются в защите от нуклеолитической деградации путем введения *модифицированных нуклеотидов*. Наиболее широко используемые строительные элементы при синтезе А. о. — фосфоротиоаты (тиофосфаты), в которых один из немоستيковых атомов кислорода заменен на атом серы. *Фосфоротиоатсодержащие нуклеотиды* стабильны и способны активировать РНКазу Н, но характеризуются сравнительно низким сродством к целевой РНК и токсическим эффектом, обусловленным неспецифическим связыванием с определенными белками. Было разработано второе поколение модифицированных нуклеотидов, содержащих алкильную группу в 2'-положении рибозы (например, 2'-О-метилРНК). В течение последних лет были предложены сотни новых модификаций, расширяющих возможность применения А. о. (в том числе *запертые нуклеиновые кислоты*). Химическая модификация *рибозы* обычно приводит к потере способности А. о. активировать РНКазу Н. В качестве альтернативной меры были предложены формы А. о. с модифицированными нуклеотидами в конце-



вых положениях для защиты от экзонуклеаз и фосфоротиоатсодержащими нуклеотидами в основной части последовательности (с целью активации РНКазы Н и расщепления целевой РНК). Еще одной важной задачей для усовершенствования использования А. о. *in vivo* является разработка эффективных способов доставки А. о. в клетки ткани-мишени.

Jens Kurreck

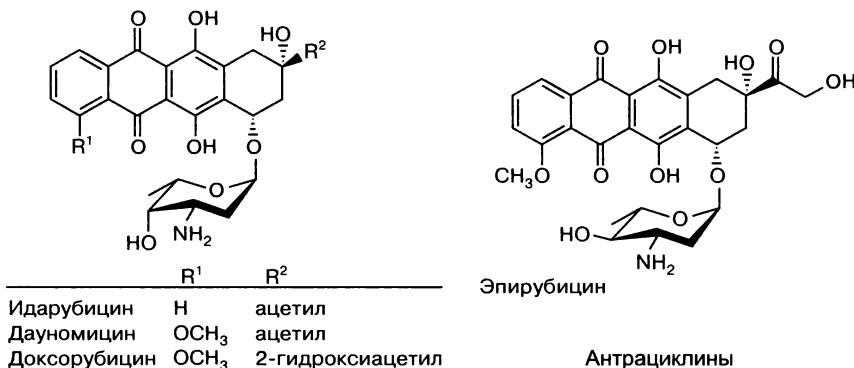


Антитерминация. Механизм контроля транскрипции у бактерий, связанный с предотвращением *терминации* в специфическом терминаторном сайте, которое позволяет *РНК-полимеразе* транскрибировать нижележащие *гены*. Транскрипция высокоорганизованных *некодирующих генов* (таких, как гены рибосомных и транспортных РНК) затрудняет синтез РНК со смежных рамок считывания. Поэтому РНК-полимераза нуждается в дополнительных белках, так называемых факторах антитерминации (Nus-белки фага λ , рибосомный белок S10 *Escherichia coli*), которые предотвращают паузы в ее работе.

Beatrix Süss

Антрациклины. Группа антибиотиков, используемых при химиотерапии широкого спектра опухолей (например, лейкемии или рака легких). А. ингибируют *репликацию ДНК* путем *интеркаляции* и образования стабильного комплекса с ядрышковой ДНК. Ароматический D-цикл взаимодействует с *большим желобком* спирали ДНК, в то время как А-цикл входит в *малый желобок*. Аминосахар может образовывать *водородные связи* с ДНК, этот процесс интенсивнее протекает в водном растворе.

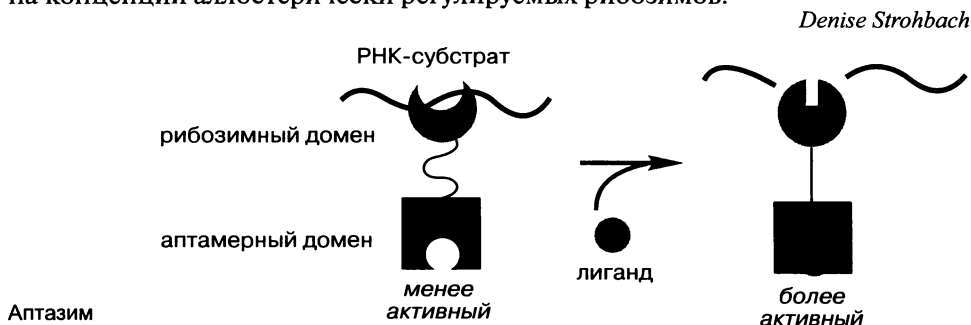
Bettina Appel



Апиримидиновый сайт. Вариант сайта, лишенного основания.

Аптазимы. *Рибозимы*, активность которых контролируется внешним лигандом (см. *аллостерический рибозим*). В целом А. состоят из двух доменов: домена-*аптамера*, специфически связывающегося с лигандом (также носящего название эффектора), и рибозимного домена, катализирующего расщепление в зависимости от связывания. Активность А. может регулироваться в двух направлениях: связывание с лигандом может приводить как к стабилизации, так и к дестабилизации рибозимного домена. В результате возможна как позитивная, так и негативная регуляция рибозимной активности.

В качестве лигандов могут выступать *олигонуклеотиды*, *нуклеотиды*, *аминокислоты*, *белки*, *небольшие органические молекулы* и даже *ионы металлов*. Разнообразие *биосенсоров* на основе нуклеиновых кислот основано на концепции аллостерически регулируемых рибозимов.



Аптамеров отбор. Процедура отбора *аптамеров*, вариант процесса *SELEX*. Алгоритм отбора позволяет выделять аптамеры на основании связывания между мишенью и молекулами *нуклеиновой кислоты* и опирается на стандартные молекулярно-биологические методы. Цикл отбора включает в себя: (а) подготовку библиотеки, (б) отбор, (в) амплификацию и (г) выделение аптамера. На этапе (а) синтезируют обширную библиотеку (или *пул последовательностей*). Каждая молекула в библиотеке (обычно библиотека содержит до 10^{15} компонентов) представляет собой уникальную последовательность и в принципе способна сформировать уникальную трехмерную структуру. Только небольшая часть этих молекул (аптамеры) образует форму, комплементарную молекуле-мишени. Этап отбора направлен на поиск молекул с наибольшим сродством к интересующей мишени. Библиотеку инкубируют с мишенью; в результате этого потенциальные аптамеры связываются с мишенью или остаются в растворе свободными. Существует несколько методов физического разделения комплексов «аптамер—мишень» и несвязанных молекул в растворе. Наиболее распространенные варианты этапа отбора — использование иммобилизованных или биотинилированных мишеней, связывание РНК-белковых комплексов на фильтре, хроматографическое или электрофоретическое разделение. Несвязанные молекулы отделяют, а связанные с мишенями аптамеры очищают и ферментативно амплифицируют с целью получения новой библиотеки. Эта библиотека обогащена эффективно связывающимися формами, и ее можно использовать для

нового раунда отбора и связывания. Обычно после 5–15 циклов библиотека уменьшается с 10^{15} молекул до небольшого числа форм с высоким сродством к мишени. Отдельные формы изолируют из окончательного пула, определяют их нуклеотидную последовательность, измеряют и сравнивают сродство и специфичность.

Аптамеры получают на основе библиотек ДНК, РНК и модифицированных нуклеиновых кислот. Существуют различные варианты методик отбора. Можно найти высокоаффинные аптамеры практически к любой мишени, от небольших органических молекул до пептидов, белков, клеточных поверхностей и срезов тканей. Отбор аптамеров может проводиться вручную или автоматизированно.

Andres Jäschke

Аптамеры. От лат. *aptus* — соответствовать. А. — макромолекулы на основе ДНК, РНК или модифицированных нуклеиновых кислот (см. *модифицированная ДНК, модифицированная РНК*), которые прочно связываются со специфической молекулой-мишенью. Их свойства определяются *нуклеотидной последовательностью*; размер большинства А. — 15–60 нуклеотидов. Олигонуклеотидная цепь способна к внутримолекулярным взаимодействиям, придающим молекуле сложную трехмерную форму, которая делает возможным прочное связывание с поверхностью молекулы-мишени. *Индукцированное соответствие* и адаптивное связывание играют важную роль во взаимодействии А. с их мишенями. Так как множество всех возможных нуклеотидных последовательностей обладает чрезвычайно высоким разнообразием трехмерных структур, А. могут быть получены для широкого круга мишеней, включающих большинство белков и множество низкомолекулярных соединений.

А. обычно выделяют с помощью алгоритма *SELEX* (см. *аптамеров отбор*). А. позволяют разделять близкородственные (но не идентичные) молекулы, а также различные функциональные и конформационные состояния одной и той же макромолекулы. Помимо выраженной специфичности, А. обладают высоким сродством к своим мишеням, обычно в интервале от пиколярных до нанолярных количеств. Хотя А. достаточно химически стабильны, для использования в условиях *in vivo* с целью повышения их устойчивости к ферментативной деградации или улучшения фармакокинетики требуется их модификация.

А. обладают колоссальным потенциалом как средство адресной молекулярной терапии. Кроме того, они используются для подтверждения мишени при разработке лекарственных препаратов, скрининга низкомолекулярных соединений, разработки сенсоров (см. *репортерный рибозим, РНК-сенсор*) и аффинного разделения смесей.

В природе аптамерные домены были описаны как компоненты системы *рибопереклюателей*.

Термин «аптамер» иногда используют для обозначения высокоаффинных белковых лигандов (белковые А.).

Andres Jäschke

Апуриновый сайт. Вариант *сайта*, лишённого основания.

Арабиноза. Моносахарид из группы пентоз ($C_5H_{10}O_5$; 150,13 г/моль). Существует в двух энантиомерных конформациях: D(–)-арабиноза и L(+)-арабиноза.

Арабинозиды. См. *арабинонуклеозиды*.

Арабинозный оперон (*ara*). Контролирует метаболизм L-арабинозы у *Escherichia coli*. Три структурных гена *araB*, *araA* и *araD* образуют *оперон araBAD* и кодируют ферменты, которые превращают *арабинозу* в ксилулозо-5-фосфат, который может быть метаболизирован в пентозофосфатном пути. Промотор *pBAD* регулируется арабинозосвязывающим белком AraC. *Ген araC* транскрибируется с оперона *araBAD* по нескольким схемам.

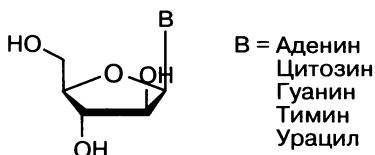
В зависимости от внутриклеточной концентрации арабинозы белок AraC может выступать в роли как *репрессора*, так и *активатора*. В отсутствие арабинозы димер AraC одновременно связывается с двумя сайтами — остатками 63 (*araI*₁) и 279 (*araO*₂) до сайта начала транскрипции оперона *araBAD*. В результате молекула ДНК между этими сайтами образует петлю, и доступ *РНК-полимеразы* к промотору *pBAD* блокируется. AraC также играет роль авторегулятора и предотвращает *транскрипцию* на уровне собственного *промотора* с помощью описанного выше механизма.

В присутствии *арабинозы* связывание сахара приводит к изменению конформации AraC, который при этом превращается в активатор и связывается с *araI*₁ (–63) и *araI*₂ (–43). Транскрипция оперона *araBAD* требует дополнительного связывания комплекса cAMP-CRP (CAP) с AraC (в положении –92), тем самым гарантируется, что арабиноза используется только в отсутствие более эффективного источника углерода — глюкозы.

На основе промотора *pBAD* была сконструирована целая серия векторов экспрессии. *Плазмиды*, содержащие ген *araC* и промотор *pBAD*, непосредственно примыкающий к *полилинкеру*, можно использовать для клонирования целевого гена. Экспрессию гена, встроенного в плазмиду, можно контролировать добавлением глюкозы (репрессия) или арабинозы (индукция).

Franz Narberhaus

Арабинонуклеозиды. Структурные аналоги *рибонуклеозидов*, в которых *рибоза* заменена *арабинозой*.



1-β-D-Арабинофуранозиладенин. См. *арабинонуклеозиды*.

1-β-D-Арабинофуранозилгуанин. См. *арабинонуклеозиды*.

1-β-D-Арабинофуранозилтимин. См. *арабинонуклеозиды*.

1-β-D-Арабинофуранозилурацил. См. *арабинонуклеозиды*.

1-β-D-Арабинофуранозилцитозин. См. *арабинонуклеозиды*.

Аргонавт. См. *Argonaute*.

А-сайт. См. *аминоацил-тРНК-связывающий сайт*.

АСМ. Атомно-силовая микроскопия (см. *сканирующая силовая микроскопия*).

Ассимиляция одной цепи. Замещение одной цепи дуплекса *ДНК* молекулой гомологичной *одноцепочечной ДНК*. Ассимиляция одноцепочечной *ДНК* со встраиванием в уже существующий дуплекс имеет большое значение для репарации (см. *ДНК репарация*) и *рекомбинации*. Этот процесс обычно протекает с участием многих белков.

Slawomir Gwiazda

Ассоциирование. Применительно к *нуклеиновым кислотам А.*, как правило, относят к образованию *вторичной* или *третичной структуры*, например к формированию дуплекса при *гибридизации* двух одиночных цепей *нуклеиновой кислоты* или *взаимодействию* элементов *вторичной структуры* (межпетлевое взаимодействие, стыковка доменов). Кроме того, любая молекула, связывающаяся с *нуклеиновой кислотой*, ассоциирует с ней.

А-стебель. Акцепторная петля *транспортной РНК*.

Атака «в линию». Описание взаимного расположения реагирующих групп в ходе *катализа*, осуществляемого небольшими *рибозимами*. В соответствии с механизмом S_N2 2'-гидроксильная группа, расщепляющийся фосфат и уходящая 5'-гидроксильная группа расположены на одной линии.

Denise Strohbach

Атомно-силовая микроскопия. См. *сканирующая силовая микроскопия*.

Аттенюатор. См. *аттенюация*.

Аттенюация трансляции. Механизм *аттенюации* с участием высокоорганизованной лидерной последовательности *РНК*, используемый в отношении *генов*, которые кодируют ферменты биосинтеза аминокислот (например, Тгг-оперон). В присутствии лимитирующих количеств соответствующей аминокислоты синтез лидерного пептида приводит к остановке *рибосомы* в лидерной области в ожидании триптофановых *транспортных РНК*. Это обстоятельство дает возможность образоваться антитерминаторной шпильке (см. *антитерминация*) и продолжить *транскрипцию*, катализируемую *РНК-полимеразой*.

Beatrix Süss

Аттенюация. Регуляция широкого круга бактериальных *оперонов* путем контролируемой *терминации транскрипции* в сайте, расположенном перед первым структурным *геном*. В классическом виде А. происходит, когда *РНК-транскрипт выше оперона* обладает способностью образовывать две взаимоисключающие структуры *РНК-укладки*, одна из которых носит название терминатора, вторая — антитерминатора. Если образуется терминаторная

шпилька, транскрипция прекращается. Аналогично, если происходит сворачивание антитерминаторной структуры, происходит блокирование образования терминатора и транскрипция оперона продолжается. Механизмы выбора между двумя укладками РНК (терминатором и антитерминатором) достаточно разнообразны: прямое взаимодействие РНК и лиганда (см. *рибобпереключатели*), участие несвязанной с аминокислотой молекулы тРНК (см. *транскрипционная аттенуация*) или остановившихся рибосом (см. *трансляционная аттенуация*). *Антитерминация* отличается от А. тем, что в случае первой изменение транскрипционного комплекса (а не структуры РНК) понижает эффективность расположенных *ниже* терминаторов (см. *трансляционный контроль*).

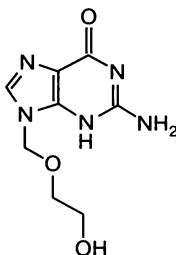
Beatrix Süss

АТФ. См. *аденозинтрифосфат, аденозинфосфаты, нуклеозидфосфаты*.

Аутосома. *Хромосома*, наличие, число копий и структура которой не зависят от пола данного эукариотического организма.

Ацикловир. Аналог *гуанина*, в котором у атома азота в положении 9 находится гидроксиэтоксиметильный заместитель. Это противовирусный препарат, который в первую очередь используется для лечения вируса простого герпеса. Вирусная тимидинкиназа избирательно превращает А. в его монофосфат; монофосфат ацикловира фосфорилируется до активной трифосфатной формы (ацикловир-GTP) киназой клетки-хозяина.

Bettina Appel



Б

Бактериальная искусственная хромосома. Кольцевой *вектор* для клонирования в *E. coli*, созданный на основе природной *плазмиды* — F-фактора. Основными отличительными чертами Б. и. х. являются большой размер вставки (до 200 т. п. н.) и однокопийность, благодаря которой значительно повышается стабильность наследования даже таких протяженных участков. Эти особенности определили выбор Б. и. х. как одного из основных инструментов проекта «Геном человека» и последующих геномных проектов. Кроме того, Б. и. х. оказались очень полезны при изучении дальнедействующих регуляторных элементов эукариотических геномов (см. при выполнении геномных проектов. Близким аналогом Б. и. х. является искусственная хромосома P1 — также кольцевой вектор для клонирования в *E. coli*, но созданный на основе бактериофага P1.

Белка биосинтез. См. *трансляция*.

Белки теплового шока (БТШ; HSP). См. *тепловой шок*.

Белки, связывающие одиночную цепь. Белки, которые специфически узнают и связывают одноцепочечные районы молекул ДНК и РНК (см. *ДНК-связывающие белки, РНК-связывающие белки*).

Бера закон. См. *Ламберта—Бера закон*.

Бера—Ламберта закон. См. *Ламберта—Бера закон*.

Бинарный вектор. Генетическая конструкция, способная к размножению в бактериальной клетке-хозяине (*Agrobacterium*), предназначенная для переноса *генов* в растительную клетку с участием генетических факторов, расположенных во второй постоянной плазмиде.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Биомолекула. Молекула вещества, обычно присутствующего в живых организмах. Б. классифицируют на четыре группы: небольшие молекулы (например, углеводы, дисахариды, витамины, гормоны, липиды, фосфолипиды), мономеры (например, *нуклеотиды*, фосфаты, моносахариды, аминокислоты), полимеры (см. *биополимер*; например, ДНК, РНК, полисахариды, пептиды, белки) и макромолекулы (например, прионы).

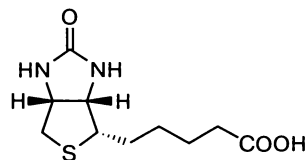
Bettina Appel

Биополимер. Молекула, состоящая из сходных биомолекулярных единиц (*нуклеотидов*, аминокислот, сахаридов), связанных между собой, часто в ходе поликонденсации. К Б. относятся ДНК, РНК, белки, пептиды и полисахариды. Б. могут быть выделены из биологических систем (например, микроорганизмов) или синтезированы искусственно из исходных биоматериалов. Некоторые Б. используют как альтернативу традиционному пластику из нефтепродуктов (например, сополимеры на основе крахмала и полиэтилена), так как они обладают лучшими экологическими характеристиками. Некоторые Б. применяют в качестве материалов для хранения и передачи информации (см. *ДНК-нанотехнологии*).

Bettina Appel

Биотин. Витамин Н или витамин В7. Б. способен очень прочно связываться с белком авидином (или стрептавидином), образуя одну из самых стабильных (среди известных) связей между белком и низкомолекулярным *лигандом*. Взаимодействие между Б. и авидином эффективно используют в аффинной хроматографии, в ходе которой молекулы, содержащие биотиновую метку, выделяют из раствора путем инкубации с твердофазным компонентом, содержащим стрептавидин. Б. легко включается в *нуклеиновые кислоты* (см. *олигонуклеотидов мечение*).

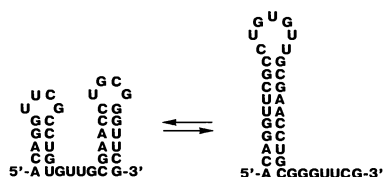
Snorri Th. Sigurdsson



Биотинилирование. См. *биотиновое мечение*.

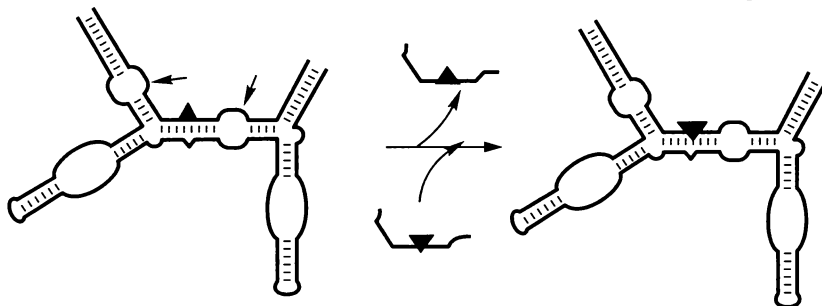
Биотиновое мечение. Включение *биотина* в ДНК и РНК (см. *олигонуклеотидов мечение*).

Бистабильная РНК. РНК с двумя альтернативными *вторичными структурами*, которые существуют в мономолекулярном термодинамическом равновесии.



Близнецовый рибозим. Молекула РНК, состоящая из двух *рибозимов*. Например, мобильные *интроны I группы* (см. *мобильные генетические элементы*), содержащие два рибозимных домена и хоуминговую эндонуклеазу (так называемая близнецоворибозимная организация интрона), могут путем *обратного сплайсинга* встраиваться в *рибосомную РНК малой субъединицы* бактерий и дрожжей. Другой тип Б.р. сконструирован методом инженерии РНК (см. *РНК инженерия*) на основе *шпильчатого рибозима*. Такие молекулы осуществляют контроль расщепления и *лигирования* двух цепей. Они опосредуют сайт-направленный обмен фрагментов РНК и потому являются ценным инструментом репарации РНК (см. *РНК репарация*) в *генной терапии*.

Sabine Müller, Stéphanie Vauléon



Блот-анализ (перенос). Перенос ДНК, РНК или белков на мембрану (например, нитроцеллюлозную, поливинилфторидную или нейлоновую) посредством давления, капиллярной силы или в электрическом поле.

В молекулярной биологии и генетике техника Б. используется для специфического распознавания и определения количества искомого фрагмента ДНК или РНК путем *гибридизации* с ДНК- или РНК-зондом известной *последовательности*. Распознавание целевого белка осуществляется при связывании со специфическими антителами. Во многих случаях смесь анализируемых молекул разделяют *гель-электрофорезом* и затем переносят путем Б. на мембрану. Возможен также прямой перенос образцов на мембрану. Визуализация фрагментов ДНК или РНК осуществляется с использованием меченого ДНК- или РНК-зонда (см. *мечение*) комплементарной последовательности. Обработка мембраны раствором, содержащим мече-

ный ДНК- или РНК-зонд, приводит к распознаванию и связыванию зонда с комплементарной последовательностью-мишенью за счет *уотсон-криковского взаимодействия* оснований. Несвязанный зонд может быть удален при многократной промывке соответствующим буфером. Предназначенные для анализа *олигонуклеотиды* можно визуализировать при специфическом *мечении* ДНК- или РНК-зонда. Детектирование осуществляется напрямую, если образец мечен радиоактивным изотопом (см. *радиоактивное мечение*), флуоресцентной меткой или антителами. В последнем случае зонд маркируют молекулами (дигоксигенин, *биотин*), которые распознаются специфическими антителами. К антителам, используемым для детектирования специфических молекул, как правило, пришит репортерный фермент, который в случае успешного связывания осуществляет хемотрюминисцентную или приводящую к образованию окрашенного продукта реакцию в мембране.

В зависимости от типа анализируемых молекул методы переноса подразделяются на *нозерн-блот* (РНК), *Саузерн-блот* (ДНК), *вестерн-блот* (белки), *блот колоний* или *плащечный блот*.

Irene Drude

Бляшек блот. Метод идентификации специфических рекомбинантных фагов, сходный с *блотом колоний*. Инфицирование бактерий фагами приводит к лизису клеток. На культуральном газоне инфицированные фагами колонии выглядят как светлые области, называемые бляшками. Для идентификации фагов может быть изготовлена реплика поверхности культуры путем отпечатывания фильтра на чашке. Затем фаги лизируются, ДНК денатурируют и закрепляют на фильтре. Детектирование искомым фрагментов ДНК может быть проведено путем *гибридизации с фрагментами меченой ДНК* или РНК известной *последовательности*. Сигнал на фильтре позволяет идентифицировать фаги, содержащие анализируемый фрагмент ДНК.

Irene Drude

Бляшек гибридизация. См. *бляшек блот*.

Бокс Прибнова. Известен также как бокс Прибнова—Шаллера. Область молекулы ДНК, с которой связывается РНК-полимераза перед инициацией транскрипции. Консенсусная последовательность бокса — ТАТААТ.

Mauro Santos

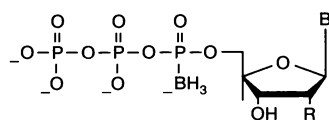
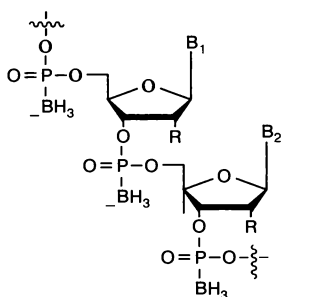
Большая субъединица рибосомы. См. *рибосома*.

Большой желобок. *Сахарофосфатные остовы* двух цепей ДНК, спаренные основания которых уложены стопкой внутри дуплексной структуры, образуют на поверхности двойной спирали стенки большого и *малого желобков*, которые обвиваются вокруг оси. Причиной того, что поверхность спирали не гладкая, как у цилиндра, является смещение центра *пар оснований* от оси спирали на некоторое расстояние (даже в *В-ДНК*). Кроме того, две гликозидные связи *уотсон-криковской пары* направлены в одну сторону. Ширина и глубина желобков зависят от угла наклона пар оснований (см. *пар оснований наклон*) относительно оси спирали и от расстояния между нуклеотидными остатками вдоль оси. На дне большого желобка располагаются атомы азота

и кислорода гетероциклических оснований, которые могут образовывать *водородные связи* с боковыми группами аминокислот белковых молекул и, таким образом, играть важную роль в белково-нуклеиновом узнавании. Характер расположения функциональных групп различен для разных видов пар оснований. В направлении от пурина к пиримидину пара А-Т экспонирует в большой желобок атом азота (акцептор водорода), аминогруппу (донор) и атом кислорода (еще один акцептор). В то же время пара G-С предоставляет для образования водородных связей те же группы, но в ином порядке: сначала атом азота (акцептор), затем кислорода (акцептор) и, наконец, аминогруппа (донор). Поскольку каждая пара оснований А-Т и G-С может быть инвертирована в Т-А и С-Г соответственно, они могут предоставить четыре различных комбинации чередования донорных и акцепторных групп. Таким образом, большой желобок несет информацию о последовательности *оснований* ДНК в форме, которая может быть прочитана другой биомолекулой. Большинство специфических взаимодействий между *нуклеиновыми кислотами* и белками реализуется в большом желобке.

Н. Г. Долинная

Боранонуклеиновая кислота. Искусственная нуклеиновая кислота, в которой один из немостиковых атомов кислорода в фосфатной группе замещен бораном. Впервые синтезирована Шоу с коллегами, которые занимались получением ДНК с замещенными атомами кислорода. В более поздних работах этот синтетический подход был расширен до



R = H, OH
B₁, B₂, B = A, C, G, T или U

рибонуклеозид-α-боранотрифосфатов. Твердофазный синтез этих производных ДНК был осуществлен с применением *H-фосфонатного метода*. Кроме того, включение борановой группы в ДНК и РНК возможно благодаря тому, что боранзамещенные *нуклеозидтрифосфаты* и *дНТФ* распознаются как субстраты соответствующими *полимеразами*. Изоэлектрические свойства близки к таковым у природных нуклеиновых кислот, конформационные свойства ДНК (торсионные углы, конформации углеводных остатков и т. д.) от введения борановой группы изменяются незначительно.

Способность к образованию пар оснований с высокими специфичностью и сродством в сочетании с устойчивостью к *нуклеазам* делают Б. к. ценным материалом в терапевтических целях, например для *РНК-интерференции*.

Jörn Wolf

5-Бромурацил (5-BrU). Аналог азотистого основания, замещающий тимин в молекуле ДНК, что приводит к *мутации*. Существует в виде двух таутомеров (см. *таутомерные основания*) с различной способностью к образованию пары. Кетоформа может образовывать комплементарные пары с *аденозином*, а енольная — с *гуанозином*. Эта особенность приводит к возникновению *точечных мутаций*. В экспериментах 5-BrU часто включают

в состав нуклеиновых кислот, предназначенных для кристаллизации, с целью усиления дифракции и ослабления анизотропии (см. *кристаллизация нуклеиновых кислот*).

Sabine Müller

Бэнд-шифт. Метод обнаружения *белков, связанных с ДНК*. Этот метод также называют торможением в геле, изменением подвижности в геле, анализом изменения электрофоретической подвижности (EMSA). Изменение положения полос наблюдается в том случае, когда образуется комплекс белка и фрагмента ДНК, так как комплекс белка и ДНК мигрирует через неденатурирующий полиакриламидный гель медленнее, чем свободная ДНК или двуцепочечные олигонуклеотиды. Преимущество изучения взаимодействия ДНК и белков с помощью электрофоретического метода заключается в возможности разделять комплексы различной стехиометрии и *конформации*. Другое важное достоинство этого метода — возможность использовать ДНК-связанный белок, полученный из ядерного или цельноклеточного экстракта как после очистки, так и без нее (в исходном виде). Метод торможения в геле можно использовать при качественной оценке специфичных к последовательности ДНК белков (белков, связывающихся с определенной последовательностью ДНК, например *транскрипционных факторов*) в исходных лизатах. Данный метод может применяться вместе с *мутагенезом* при идентификации важных для связывания последовательностей на регуляторном участке гена, расположенном *выше* него. Б.-ш. можно использовать и как количественный метод при определении термодинамических и кинетических параметров. Предел определения метода зависит от стабильности комплекса при миграции в геле. Специфичные к последовательности взаимодействия нестабильны, но их устойчивость повышается при добавлении *электрофоретического буфера* с низкой ионной силой. После входа в гель белковые комплексы быстро отделяются от свободной ДНК, а равновесие между связанной и свободной ДНК «замораживается». В геле комплекс можно стабилизировать благодаря связывающим эффектам самого геля: при диссоциации комплекса локальная концентрация веществ остается высокой, что вновь вызывает быстрое образование комплекса. Обычно с помощью этой методики удается изучать даже неустойчивые комплексы.

Tobias Restle

В

Ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Очень слабые межмолекулярные взаимодействия, которые возникают из-за поляризации молекул с превращением их в диполи. Короткоживущий диполь одного атома вызывает поляризацию другого атома, в результате чего между атомами возникает электростатическое притяжение. Поляризация возрастает с увеличением радиуса атома. Эти взаимодействия очень слабые и действуют лишь на очень малых расстояниях.

Matthäus Janczyk

Вариабельная петля. Структурный элемент молекулы *транспортной РНК*, расположенный между *антикодоновой петлей* и *риботимидиловой петлей* в структуре «клеверного листа» (см. «*клеверный лист*», *структура*). Как видно из названия, содержит переменное число нуклеотидных остатков (обозначаемое как «е») после 45-го *нуклеотида* в канонической 76-нуклеотидной молекуле тРНК. В. п. содержит от 4 до 24 нуклеотидов. У большинства тРНК (так называемых тРНК класса I) длина В. п. составляет 4–5 нуклеотидов; тРНК II класса содержат 10–24 нуклеотидов в составе В. п. Ко второй группе относятся тРНК^{Leu}, тРНК^{Ser} и тРНК^{Tyr} у эубактерий и в некоторых органеллах.

Stefan Vörtler

Вектор. Самореплицирующаяся молекула ДНК (например, *плазида* или вирус), несущая клонированный фрагмент ДНК (см. *клонирования вектор*).

Векторная ДНК. См. *вектор*.

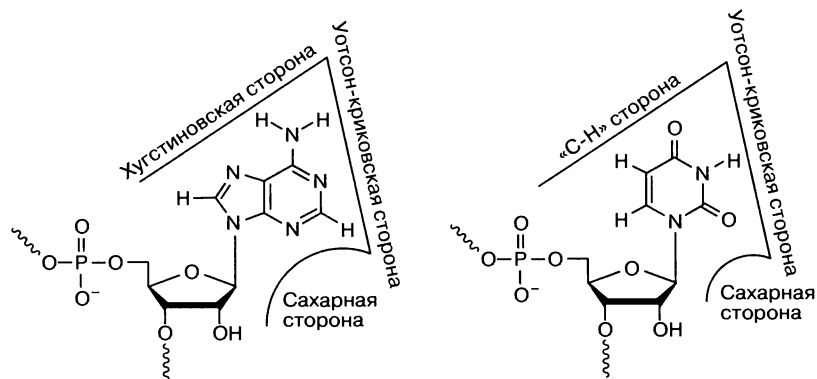
Взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне». Молекулы РНК способны принимать вид различных сложных структур. При этом *азотистые основания* участвуют в дальних РНК–РНК-взаимодействиях с образованием уотсон-криковских и не-уотсон-криковских пар оснований. Эрик Вестхоф с соавторами предложили номенклатуру и классификацию пар оснований в молекулах РНК на основе их геометрии, в особенности на том, какие стороны основания принимают участие во взаимодействии. Для этого в азотистом основании выделяют хугстиновскую сторону (для *пуриновых оснований*), «С-Н»-сторону (для *пиримидиновых оснований*), уотсон-криковскую сторону и сахарную сторону. Возможно формирование 12 семейств пар оснований «сторона к стороне» (см. табл.).

Таблица. Взаимодействия азотистых оснований «сторона к стороне»

Ориентация гликозидной связи*	Взаимодействующие стороны	Ориентация цепей
<i>цис</i>	уотсон-криковская/уотсон-криковская	антипараллельная
<i>транс</i>	уотсон-криковская/уотсон-криковская	параллельная
<i>цис</i>	уотсон-криковская/хугстиновская	параллельная
<i>транс</i>	уотсон-криковская/хугстиновская	антипараллельная
<i>цис</i>	уотсон-криковская/сахарная	антипараллельная
<i>транс</i>	уотсон-криковская/сахарная	параллельная
<i>цис</i>	хугстиновская/хугстиновская	антипараллельная
<i>транс</i>	хугстиновская/хугстиновская	параллельная
<i>цис</i>	хугстиновская/сахарная	параллельная
<i>транс</i>	хугстиновская/сахарная	антипараллельная
<i>цис</i>	сахарная/сахарная	антипараллельная
<i>транс</i>	сахарная/сахарная	параллельная

* Взаимное расположение *гликозидных связей* в парах оснований. Если в двойной спирали псевдоось 2-го порядка лежит в плоскости пары, то гликозидные связи находятся в *цис*-ориентации, а если перпендикулярно ей, то в *транс*-ориентации.

Sabine Müller



Взаимодействие белка с РНК. См. *взаимодействие РНК с белками*.

Взаимодействие ДНК с белками. Двух- и одноцепочечная ДНК распознается множеством клеточных и вирусных белков в зависимости (или независимо) от последовательности. К этим белкам относятся регуляторные белки (энхансерные белки, репрессоры транскрипции; см. *транскрипция*), *полимеразы*, ферменты *рестрикции*, *ДНК-метилтрансферазы*, а также многие белки, участвующие в *транспозиции* и *рекомбинации* ДНК. Методы изучения таких взаимодействий включают футпринтинг с использованием *ДНКазы I*, *бэнд-шифт* (также называемый методом изменения подвижности в геле), связывание с нитроцеллюлозным фильтром, метод поверхностного плазмонного резонанса, *сшивок образование* и *рентгеновскую кристаллографию*.

Georg Sczakiel

Взаимодействие между ионом металла и нуклеиновой кислотой. См. *взаимодействие нуклеиновых кислот с ионами металлов*.

Взаимодействие нуклеиновой кислоты с зондом. См. *ДНК-связывающие белки*, *взаимодействие ДНК с белками*, *взаимодействие РНК с белками*.

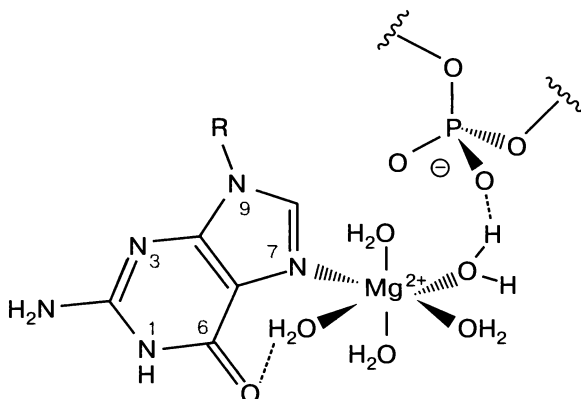
Взаимодействие нуклеиновых кислот с ионами металлов. Нуклеиновые кислоты несут большой отрицательный заряд благодаря *фосфодиэфирным группам остова* и поэтому всегда ассоциированы с катионами, главным образом ионами металлов. Кроме атомов кислорода фосфатных групп, множество возможных мест для координации ионов металлов предоставляют остатки нуклеозидов; наиболее важные координационные центры — N7 и карбонильные атомы кислорода *пуринов*. Однако ионы M^{n+} могут координироваться практически со всеми атомами N и O в нуклеиновых кислотах либо непосредственно (см. *внутренняя сфера*), либо через водородные связи координированных молекул воды (см. *внешняя сфера*). Преимущественный тип взаимодействия зависит от природы иона металла, его размера и предпочтения N или O в качестве донора, а также от геометрии расположения донорных атомов и размера *кармана связывания*. Большинство ионов металлов, ассоциированных с нуклеиновыми кислотами, например Na^+ , K^+

и Mg^{2+} , а также Mn^{2+} и Cd^{2+} , образуют кинетически лабильные связи, т. е. в них скорость обмена лигандов высокая. Однако лишь около 10% всех ионов M^{n+} , ассоциированных для компенсации заряда, расположены в координационных центрах, а подавляющее большинство ионов связаны с нуклеиновой кислотой непрочно. Аффинность специфично связанных ионов обычно находится в интервале $K = 10^2 - 10^4 \text{ M}^{-1}$, т. е. гораздо меньше, чем в случае белков.

В клетке из доступных свободных ионов наиболее часто встречаются Na^+ и K^+ , поэтому в основном именно они компенсируют заряд нуклеиновых кислот. Однако оба этих иона могут быть также специфично координированы. Прочно связанный Na^+ замещает молекулы воды в *хребте гидратации В-ДНК*. Ион K^+ стабилизирует квадруплексные структуры ДНК, состоящие из G и T/U; некоторые структурные мотивы в РНК (например, АА-платформы) координируются строго определенными ионами M^+ .

В *рибозимах*, как и любых других сложных РНК (например, в *транспортной РНК*), специфически связанные двухзарядные ионы нужны для стабилизации локальных структур, образования третичной структуры, а также собственно для катализа. В типичной реакции разрыва *фосфодиэфирной связи*, которую осуществляют *рибозимы*, Mg^{2+} может активировать нуклеофил (молекулу воды или группу 2'-ОН рибозы), электростатически влияя на основное состояние и стабилизируя *переходное состояние* или координируя уходящую группу, но в любом случае ускоряя реакцию. Часто для оптимального протекания реакции необходимо совместное действие нескольких ионов металла.

Локализация ионов металла критична для функций нуклеиновых кислот. Например, координирование двух ионов M^{2+} по α/β - и γ -положению мононуклеозид-5'-трифосфатов, таких как АТФ, приводит к отрыву терминальной γ -фосфатной группы (киназная активность), а координирование по α - и β/γ -положению катализирует перенос нуклеотида (полимеразная активность). Обычно *сайты связывания* РНК или ДНК более сложного строения проявляют высокую селективность в отношении конкретных ионов



N7 гуанина входит во внутреннюю координационную сферу иона Mg^{2+} , а O6 и кислород фосфатной группы — во внешнюю координационную сферу

Mn^{2+} , несмотря на небольшое число строительных блоков (4 нуклеотида по сравнению с 20 аминокислотами в белках). Высокие показатели по обеим характеристикам достигаются благодаря выбору последовательности и образованию правильных *карманов связывания*. Примерами могут служить *рибопереклюватели*, специфичные к Mg^{2+} , которые проявляют чувствительность к концентрации этого иона в цитоплазме; сильно ускоряющаяся в присутствии Mn^{2+} реакция саморасщепления *молотоголового рибозима*; *ДНКзимы*, отобранные по специфичности к одному из ионов металлов, например Pb^{2+} , что позволяет использовать их в дальнейшем в качестве сенсоров.

В природных системах не обнаружено кинетически инертной координации (т. е. с очень медленным обменом лигандов) ионов металлов с нуклеиновыми кислотами. Но некоторые наиболее распространенные противоопухолевые препараты для химиотерапии, например *цисплатин* и его аналоги, для выполнения своей функции, координируют положения N7 в двух последовательных *пуриновых основаниях* ДНК и тем самым ингибируют *репликацию*.

Roland K. O. Sigel

Взаимодействие рибосомы с антибиотиками. *Рибосома* — один из ключевых компонентов, обеспечивающих жизнеспособность клетки, поэтому она оказывается мишенью для многих *антибиотиков* различной природы. Они вызывают неверное декодирование, уменьшают необходимую для нормальной работы подвижность, вмешиваются в процесс связывания с субстратом в *декодирующем центре* и в *пептидилтрансферазном центре*, а также блокируют канал выхода белка. Так как рибосомы эволюционно достаточно консервативны, незначительные вариации в последовательности и/или структуре рибосом из различных царств открывают дорогу селективному действию лекарственных препаратов и, как следствие, их клиническому использованию. Например, по отношению к макролидам/кетотидам (семейство антибиотиков, которые блокируют продвижение белка по каналу рибосомы) сродство при их связывании определяет единственный *нуклеотид*, но характер связывания в целом зависит от конформации всего *кармана связывания*, поэтому связывание соединения еще ничего не говорит о его терапевтической эффективности.

Ada Yonath

Взаимодействие с ближайшим соседом. Стабильность *дуплекса* ДНК зависит от характера и ориентации соседних *пар оснований*. Стабильность *гибридов* ДНК–РНК и дуплексов ДНК–ДНК и РНК–РНК можно предсказать на основании относительной стабильности (ΔG°) каждого взаимодействия с ближайшим соседом. Эти взаимодействия также учитывают при расчете температур *плавления олигонуклеотидных дуплексов*. Термодинамические вклады пар ближайших соседей можно использовать для оптимизации характеристик *олигонуклеотидов* в *ДНК-чипах*.

Bettina Appel

Виток спирали. См. *шаг спирали*.

Вложенная полимеразная цепная реакция. Вторым раунд *полимеразной цепной реакции* (ПЦР), в ходе которого *праймеры* расположены внутри по отношению к использованным в первом раунде, а первый продукт ПЦР используется как новая *матрица* для второго раунда. ПЦР представляет собой мощный инструмент для амплификации небольших количеств ДНК из сложных смесей. Однако, если нужная матрица имеет малую концентрацию в смеси ДНК-фрагментов, требуется проводить много циклов *амплификации* и использовать праймеры, которые могут связываться с другими локусами. Это зачастую приводит к амплификации посторонних или неверных последовательностей. Использование второго набора праймеров (вложенные праймеры), отжигающихся внутри первого продукта ПЦР, позволяет проводить дальнейшую амплификацию с образованием более короткого продукта, с более высокой чувствительностью и без потерь специфичности. Таким образом, любые нежелательные последовательности ДНК, амплифицированные в ходе первого раунда ПЦР, имеют меньше шансов амплифицироваться во втором раунде.

David Loakes

Вложенный двойной псевдоузел. Определенный тип структуры *псевдоузла* (например, в *рибозиме вируса гепатита дельта* или рибозиме Дильса—Альдера, см. *Дильса—Альдера рибозим*). Два спиральных параллельных сегмента взаимодействуют путем стэкинга и связаны несколькими сшивками.

Sabine Müller

Вложенный праймер. См. *вложенная полимеразная цепная реакция*.

Внешняя гидовая последовательность. См. *гидовая последовательность*.

Внешняя сфера. В комплексном соединении — частицы, связанные с комплексной частицей ионными или межмолекулярными связями, например водородными.

Внутренний сайт связывания рибосомы (IRES). Последовательность, которая может быть локализована в различных положениях на транскрипте матричной РНК; позволяет осуществить инициацию трансляции далеко от 5'-конца. Такие сайты обычно состоят из сотен нуклеотидов, которые способны ассоциироваться с некоторыми белками, участвующими в 5'-кэп-зависимой трансляции и благодаря этому узнаваемыми рибосомой. Обнаруживаются в эукариотических бицистронных транскриптах, в которых 5'-концевой ген транслируется по 5'-кэп-зависимому механизму, а ген под контролем В. с. с. р. может быть транслирован независимо от *кэпа* на 5'-конце. Часто встречаются в вирусных РНК. Данные о гомологии первичной и *вторичной структур* различных В. с. с. р. до настоящего времени не получены.

Jörn Wolf

Внутренняя гидовая последовательность (IGS). Последовательность РНК, которая связывается с *интронами* для образования *комплекса сплайсинга* и инициации сплайсинга (см. *гидовая последовательность*).

Внутренняя петля. По определению, В. п. образуются, если *нуклеотиды* одной из цепей *двойной спирали* не могут образовать *уотсон-криковские пары* или пары G-U с партнерами на второй цепи. Из-за искаженной геометрии спирали молекула РНК способна приобретать новые формы. Такие формы играют ключевую роль в процессе межмолекулярного узнавания. Помимо этого, внутренние *выпятивания* повышают подвижность доменов молекулы РНК из-за меньшей стабильности длинных спиральных отрезков.

В качестве общей закономерности в В. п. с равным количеством нуклеотидов каждая пара образует не-уотсон-криковские *водородные связи*, что приводит к искажению структуры А-спирали РНК (см. *А-форма РНК*), которое может проявляться в изменении расстояния Р-Р, искажении *закручивания спирали* и изгибании оси спирали.

Понижение стабильности тесно связано со структурными особенностями *петель*. Существует зависимость не только от термодинамических и конформационных особенностей нуклеотидов в самой петле, но и от последовательности. Неравное число оснований по обе стороны В. п. приводит к нарушению *стэкинга* между соседними нуклеотидами. Не занятые в *стэкинге* U-нуклеотиды часто оказываются выставленными в раствор. Примеры: домен Р4-Р6 *рибозимов группы I* и RRE-элемент вируса ВИЧ (см. *RRE-ДНК*).

В. п. могут функционировать как сайты для *третичных взаимодействий* и для РНК-белкового узнавания (см. *РНК-белковое взаимодействие*). В некоторых случаях они могут образоваться самопроизвольно, однако только если присутствуют элементы третичной структуры. Так, например, происходит с В. п. J6a/6b в рибозиме интронов группы I, который приобретает свою нативную форму только при наличии третичных взаимодействий с последующими А-нуклеотидами несколькими позициями *ниже* по той же цепи РНК (образование *АА-платформы*); в отсутствие этих взаимодействий образуется иная структура.

Boris Fürtig, Harald Schwalbe

Внутренняя сфера. Лиганды, связанные координационными взаимодействиями с центральным ионом металла.

Внутри рамки. Расположение в соответствии с используемой в естественных условиях *рамкой считывания гена*. Это состояние может быть нарушено в результате делеции или инсерции одного или нескольких *нуклеотидов*, которые приводят к *сдвигу рамки*.

Slawomir Gwiazda

Водородная связь. Особый тип взаимодействий между электроноизбыточным атомом-акцептором, имеющим неподеленную электронную пару, и атомом водорода, связанным с электроотрицательным атомом-донором. В В. с. часто участвуют фтор, кислород или азот. Группа СН также может выступать в роли донора при образовании В. с., особенно если атом углерода связан с несколькими электроотрицательными атомами, как в молекуле хлороформа CHCl_3 . Обычно В. с. прочнее, чем *ван-дер-ваальсовы взаимодействия*, но слабее, чем ковалентные и ионные связи. Хотя образование В. с. часто объясняют как электростатическое диполь-дипольное взаимодействие, она

также имеет определенные черты ковалентной связи. Это подтверждается ее направленностью, межатомным расстоянием, которое меньше суммы ван-дер-ваальсовых радиусов, и спин-спиновым взаимодействием между ядрами атомов, образующих В. с., методом *ядерного магнитного резонанса (ЯМР) спектроскопии*. Ковалентный характер связи выражен сильнее, когда акцептор связывается с атомом водорода при более электроотрицательном атоме-доноре. Образование В. с. между *азотистыми основаниями* — главный фактор, стабилизирующий *вторичную и третичную структуры* нуклеиновых кислот, а также обуславливающий связывание с различными *лигандами*.

Klaus Weisz

Водородной связи акцептор. См. *водородная связь*.

Водородной связи донор. См. *водородная связь*.

Вставка. Сегмент молекулы ДНК, встраиваемый в *вектор* путем *лигирования* (см. *инсерция, инсерционный элемент*).

Вставочная последовательность. Части, подлежащие удалению из предшественника мРНК (см. *пре-мРНК*) в ходе *сплайсинга* или из молекулы полипептида (*интроны* и интеин-кодирующие последовательности).

Вторая цепь. Цепь молекулы ДНК (см. *комплементарная ДНК*), которая комплементарна одноцепочечной РНК, называется В. ц.

Вторичная структура. Любая регулярная стабильная структура, которую принимают некоторые (или все) нуклеотидные остатки в молекуле нуклеиновой кислоты. Различные структурные формы ДНК обладают В. с.

Второго сайта мутация. См. *супрессорная мутация*.

Второй генетический код. См. *аминоацил-тРНК-синтетаза*.

Второй цепи синтез. Синтез цепи *комплементарной ДНК*, например, в ходе *репликации генома* ретровирусов.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

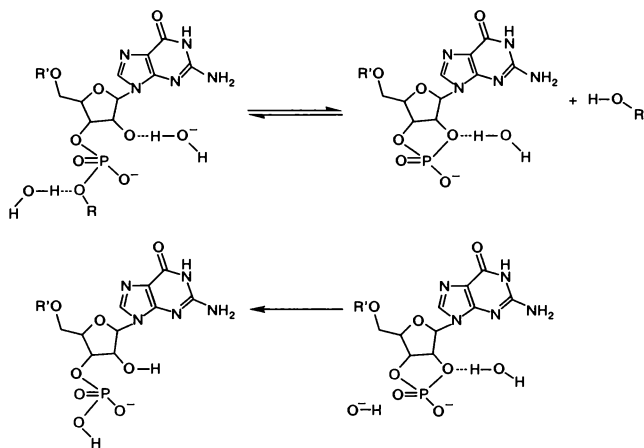
Выпетливание. Возникает в *двухцепочечных* молекулах *нуклеиновых кислот*, содержащих неспаренные *нуклеотиды*, которые формируют В. только на одной цепи. Одиночные *пиримидиновые В.* в основном внеспиральные, в то время как одиночные *пуриновые В.* имеют выраженную тенденцию к стэкинг-взаимодействиям внутри *двойной спирали* (см. *оснований стэкинг*). Это явление вписывается в представления о способностях одиночных *азотистых оснований* к стэкингу. Прочность стэкинга для одиночного основания падает в ряду $G > A > C > U$. Наличие нескольких неспаренных нуклеотидов приводит к изгибу спирали. Величина угла изгиба зависит от конкретной нуклеотидной последовательности, а также от присутствия двухвалентных катионов (например, Mg^{2+}), которые компенсируют силы отталкивания между отрицательно заряженными фосфатами *остова*. Элемент TAR (см. *TAR-РНК*) вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) представляет

собой одну из наиболее известных РНК, содержащих В. В этом случае В. состоит из двух или трех нуклеотидов в зависимости от типа ВИЧ. Эти особенности играют решающую роль в крайне важном взаимодействии с остатком аргинина белка ТАТ. В свободном состоянии неспаренные нуклеотиды расположены между двумя спиралями и не образуют *третичных взаимодействий* с нуклеотидами стебля. Эта конформация меняется при образовании комплекса ТАТ–ТАР, в котором нуклеотиды В. оказываются свободными. Формируется тройка оснований (см. *оснований тройка*) между выпетленным U и *парой оснований* А–U на верхнем стебле ТАР, в результате чего стабилизируется взаимодействие аргинина ТАТ с парой G–C и *фосфодиэфирным остовом* вдоль большого желобка.

Harald Schwalbe

Выравнивание. Сопоставление первичной структуры ДНК, РНК или белков для выявления сходных участков, которые могут быть следствием функциональных, эволюционных или структурных взаимосвязей. Это общая часть многих исследований в области молекулярной биологии и систематики, призванная обнаружить гомологичные участки. Существуют два основных типа алгоритмов В. — локальные и глобальные. Локальные алгоритмы (например, BLAST) пытаются выровнять только части последовательностей, часто избегая пропусков (брешей). Глобальные алгоритмы (например, CLUSTAL) выравнивают целые последовательности, обрабатывая также области брешей.

Mauro Santos



Высокоповторяющаяся ДНК. Последовательность *нуклеотидов*, многократно повторенная в *геноме*. Содержит короткие последовательности (5–100 п. н.), которые могут быть повторены до нескольких миллионов раз. Умеренно повторяющиеся последовательности ДНК повторяются только до 10 000 раз. Зачастую эти последовательности кластеризуются в особых областях хромосом.

Matthäus Janczyk

Выступ. Выступающий одноцепочечный конец ДНК (см. *нуклеотидный выступ*).

Выше (раньше) по последовательности. В сторону 5'-конца от определенного положения в молекуле нуклеиновой кислоты.

ВЭЖХ. Высокоэффективная жидкостная хроматография (см. *ионообменная хроматография, обращенно-фазовая хроматография*).

Г

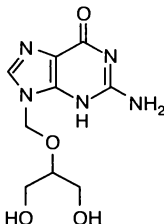
Газовая хроматография—масс-спектрометрия (ГХ-МС). Комбинированный метод анализа, используемый при структурных и количественных исследованиях небольших и летучих органических соединений. После выпаривания анализируемое вещество разделяют посредством газохроматографии (ГХ), ионизируют путем электронной или химической ионизации (см. *масс-спектрометрия: методы ионизации*) и анализируют масс-спектр (МС). Разделение веществ газовой хроматографией ограничивает использование этого метода летучими и неполярными соединениями с молекулярной массой менее 600 Да. В случае нуклеиновых кислот метод ГХ-МС, как правило, используется для качественного и количественного определения *алкилирования ДНК*, окислительного повреждения и *фотоаддуктов*. Приготовление образца обычно включает в себя ферментативное расщепление или гидролиз ДНК до свободных (модифицированных) *нуклеозидов* или *оснований* с последующим получением производных (обычно силилированных, т. е. содержащих группу R_3Si-) для увеличения летучести. См. *жидкостная хроматография—масс-спектрометрия, масс-спектрометрия: термины и определения, масс-спектрометрия в исследованиях ДНК*.

Andreas Springer

Гаметный импринтинг. См. *гаметический импринтинг, генный импринтинг*.

Ганцикловир. Синтетический аналог *2'-дезоксигуанозина*. Противовирусный препарат для лечения или профилактики цитомегаловирусных инфекций. Механизм действия связан с фосфорилированием Г. в аналог *дезоксигуанозинтрифосфата* (дГТФ). Последний конкурентно ингибирует встраивание дГТФ вирусной *ДНК-полимеразой*, что приводит к *терминации элонгации* вирусной ДНК.

Bettina Appel



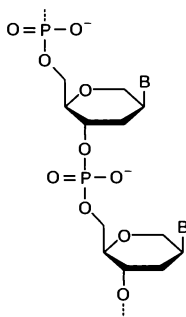
Гапмер. См. *антисмысловые олигонуклеотиды*.

гДНК. См. *геномная ДНК*.

ГДФ. Гуанозиндифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Гекситолнуклеиновая кислота (ГНК). *Нуклеиновая кислота*, в молекуле которой остаток сахара заменен на 1,5-ангидрогекситол. ГНК используются для изучения основных биологических регуляторных путей. Из-за высокого сродства к *комплементарной РНК* можно применять ГНК как источник потенциальных *антисмысловых олигонуклеотидов* в терапевтических целях.

Bettina Appel



Гель-фильтрация. Хроматографическая методика разделения молекул в зависимости от их размера. Часто используется для очистки *макромолекул*, например белков или нуклеиновых кислот. Сорбент колонок для Г. состоит из пористых гранул. Поры имеют определенный размер. Небольшие молекулы могут проникать через поры внутрь гранул, что замедляет их перемещение по колонке. Большие молекулы не могут проникать в поры гранул и проходят по колонке быстрее, чем небольшие. В отличие от других хроматографических методов, в течение всей процедуры подвижная фаза может оставаться той же. Однако она может отличаться, например, от буферного раствора в обрабатываемом образце, что позволяет провести быструю и несложную замену растворителя.

Slawomir Gwiazda

Гель-электрофорез. *Электрофорез* в гелевой матрице. Чаще всего используют полиакриламидный и агарозный гели (агар высокой степени очистки). Электрофорез в матрице препятствует простой диффузии разделяемых компонентов и позволяет фракционировать их не только по электрическому заряду молекул, но и по их форме и размерам. Из-за своего фосфатного *остова* молекулы нуклеиновых кислот заряжены отрицательно и переносятся в электрическом поле к положительному электроду. Молекулы небольшого размера мигрируют в геле быстрее, чем более крупные, и этот эффект можно дополнительно усилить, варьируя концентрацию геля. Для разделения коротких молекул РНК (50–200 нуклеотидов) обычно используют денатурирующий полиакриламидный гель-электрофорез (PAGE), используя мочевины как денатурирующий агент. Небольшие *двуцепочечные ДНК* также могут быть разделены с помощью PAGE, даже в нативных условиях. Для разделения молекул нуклеиновых кислот большего размера (например, *матричных РНК* или *плазмидной ДНК*) удобнее электрофорез в агарозном геле.

Valeska Dombos

Ген. Физическая и функциональная единица наследственности, передающая информацию от одного поколения к другому. В молекулярной биологии Г. — это последовательность ДНК, необходимая для синтеза молекулы функционального белка или РНК. Включает участки, предшествующие и следующие за кодирующим (лидер и трейлер), а также некодирующие промежуточные области (см. *интроны*), перемежающиеся с кодирующими сегментами (см. *экзоны*).

Beatrix Süß

Ген роста опухоли. См. *онкоген*.

Ген тРНК. *Ген*, который транскрибируется в *транспортную РНК*.

Ген устойчивости. *Ген*, участвующий в контроле устойчивости клетки к различным заболеваниям или действию антибиотиков. У бактерий устойчивость определяется генами в хромосоме или *плазмидах*. Устойчивость, связанная с плазмидными генами, часто основана на действии ферментов, которые инактивируют лекарственный препарат (например, хлорамфеникол), препятствуют его входу в клетку или способствуют его выведению (например, тетрациклины). *Мутации* в хромосомных генах часто приводят к изменению мишени действия *антибиотика* (например, стрептомицина). Поэтому молекулярные механизмы устойчивости к стрептомицину в основном связаны с *мутациями* в гене *rpsL*, который кодирует прокариотический рибосомный белок S12.

Annegret Wilde

Ген-«сирота». Ген, структура которого не имеет сходства с другими генами.

Гена активация. Включение системы *транскрипции гена* в ответ на специфический клеточный сигнал (см. *индукция экспрессии гена*).

Гена амплификация. Увеличение числа копий данного *гена*. При онкологических заболеваниях — увеличение числа копий определенных хромосомных генов, делающих клетки опухоли более конкурентоспособными или более устойчивыми к лекарствам.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Гена дупликация. Удвоение участка ДНК путем локальных изменений, приводящих к тандемной дупликации, более масштабных перестроек, вызывающих удвоение целой *хромосомы*, или изменений в масштабах целого генома, которые приводят к полиплоидизации (дупликация целого генома). 40 лет назад Сусумо Оно постулировал, что Г. д. — наиболее важный фактор в эволюции, хотя бы потому, что без дуплицированных генов был бы невозможен переход от одноклеточных к многоклеточным организмам.

Mauro Santos

Гена инактивация. Выключение системы *транскрипции* конкретного *гена* в ответ на специфический клеточный сигнал.

Гена картирование. Термин относится к определению положения *гена* на данной *хромосоме*. Существуют два типа картирования генов: генетическое

и физическое. Генетическое картирование берет начало с экспериментов Альфреда Стёртеванта, который построил первую генетическую карту у *Drosophila*. Такие карты также называют картами групп сцепления, так как они отражают тенденцию совместного (сцепленного) наследования аллелей двух и более локусов. Иными словами, карта групп сцепления показывает относительное расположение генов или генетических маркеров вида на каждой хромосоме. Физическое картирование использует более современные технологии для определения абсолютного положения гена на хромосоме. Если полная последовательность генома вида неизвестна, гены могут быть картированы методом гибридизации *in situ*.

Mauro Santos

Гена клонирование. Выделение и внедрение *гена* (фрагмента ДНК) в *вектор*, где он будет реплицирован.

Гена локализация. См. *гена картирование*.

Гена маркировка. Метод, который позволяет маркировать *ген* с целью его идентификации. Обычно включает в себя использование *мутационного* на основе известных *мобильных элементов*, которые произвольным образом внедряются в разные районы *генома*. Затем проводят отбор по интересующему *фенотипу* и идентифицируют измененный ген, отслеживая положения мобильного элемента. Еще одно название этой методики — маркировка транспозона (или «вытягивание за транспозон»). Под маркировкой белка понимают рекомбинантное присоединение эпитопа или пептида (создание слитых генов) *в рамке считывания* с целью легкого детектирования кодируемого целевым геном белка.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Гена мутация. Любое изменение нуклеотидной последовательности *гена*. Выделяют *точечные мутации*, при которых один *нуклеотид* заменяется на другой; *инсерции* (обычно связанные с *мобильными элементами*), когда в последовательность гена добавляются один или более нуклеотидов; *делеции*, когда два или более нуклеотидов удаляются. Наиболее распространенным типом точечных мутаций являются *транзиции*, при которых *пуриновое основание* заменяется на пуриновое ($A \leftrightarrow G$) или *пиримидиновое основание* на пиримидиновое ($C \leftrightarrow T$). Более редкие *трансверсии*, при которых пуриновое основание заменяется на пиримидиновое и наоборот. *Молчащие мутации* — это точечные мутации, которые не приводят к изменениям в аминокислотной последовательности кодируемого белка. Инсерции в кодирующей области могут вызывать сдвиг рамки считывания или изменять характер сплайсинга в матричной РНК. Делеции также могут изменять структуру рамки считывания.

Mauro Santos

Гена перенос. Внедрение *генов* в клетки. Для исследовательских целей гены часто переносят в бактериальные клетки или культуры эукариотических клеток. Часто применяют такие методы переноса, как электропорация и использование липидов в качестве носителей (липофекция). В случае терапев-

тического переноса генов в клетки человека существует принципиальное различие между внедрением генов в половые клетки (яйцеклетки и сперматозоиды) и генетической модификацией соматических клеток. В первом случае изменения, возникшие при переносе генов в половые клетки, могут быть переданы следующим поколениям, и по этическим соображениям такая модификация не разрешена. Напротив, коррекция в геноме соматических клеток ограничится только организмом пациента.

Для успешного переноса генов требуются специальные переносчики. В случае терапевтической модификации (см. *генная терапия*) часто используют вирусные *векторы*. В этих вирусах часть важных генов заменена целевыми генами, в результате чего модифицированные вирусы лишаются информации, необходимой для их *репликации*. В клинической практике применяют пять основных классов вирусов: онкоретровирусы, лентивирусы, аденовирусы, аденосателлитные вирусы (AAV) и вирус простого герпеса I типа. Онкоретровирусы и лентивирусы представляют собой два подкласса ретровирусов с РНК-геномом, которые в ходе *обратной транскрипции* создают ДНК-копию, затем интегрирующуюся в хозяйскую *хромосому* в форме провируса. Таким образом обеспечивается долговременная экспрессия целевого гена. Основная проблема, связанная с использованием ретровирусов, — это риск инсерционного *мутагенеза* из-за интеграции генетического материала в хозяйскую хромосому. Напротив, генетический материал других вирусов остается преимущественно в форме эписомы, что дает возможность временного синтеза желаемого белка. Разработанные недавно варианты AAV и аденовирусов позволяют осуществить более длительную экспрессию (см. *гена экспрессия*). Существенным недостатком аденовирусов является высокий иммуногенный потенциал, и это делает невозможным применение их в высоких дозах или повторное использование. Чтобы обойти проблему, были созданы аденовирусные векторы, нуждающиеся во вспомогательных компонентах и лишенные всех вирусных *кодирующих последовательностей* («робкие»), которые сконструированы так, что вызывают лишь незначительное раздражение и характеризуются стабильной экспрессией *трансгена*.

Чтобы избежать вызываемых вирусными векторами побочных реакций, разрабатывают также методы невирусного переноса генов. Эти методы подразумевают доставку *оголенной ДНК* или использование липидного переносчика. В настоящее время основным ограничением этих подходов оказывается их низкая эффективность. Инъекция ДНК с помощью «генной пушки» используется в основном в целях вакцинации.

Генная терапия может осуществляться *ex vivo* (вне тела) или *in vivo* (в теле). В случае первого подхода, который также называют *непрямым переносом генов*, клетки (например, кроветворные стволовые клетки) выделяют из организма пациента, трансдуцируют (обычно с использованием ретровирусного вектора) и обратно подсаживают в тело пациента. При переносе генов *in vivo* вектор инъецируют в кровоток пациента. Прямое воздействие вектора на ткань (например, опухоль) может быть классифицировано как перенос генов *in situ*.

Гена регуляция. Клеточный контроль за количеством и временем синтеза продукта функционального *гена*. Г. р. дает клетке возможность контролировать структуру и функцию и является основой для клеточной дифференцировки, морфогенеза, пластичности и адаптивности любого организма. Включает все механизмы регуляции экспрессии гена (см. *гена экспрессия*). Экспрессия гена может быть модулирована на нескольких уровнях, включая структуру *хроматина*, *транскрипцию*, *процессинг РНК* и посттрансляционную модификацию. У эукариот регуляция экспрессии генов осуществляется на разных уровнях одинаково успешно. У прокариот такая регуляция происходит преимущественно в форме *транскрипционного контроля* — позитивного или негативного контроля путем *индукции* (активации), *репрессии*, *антитерминации* или *аттенуации*.

Beatrix Süss

Гена сайленсинг. «Выключение» *гена* с помощью эпигенетических процессов регуляции экспрессии (см. *гена регуляция*). Сайленсинг может происходить на транскрипционном уровне путем переноса гена в область локализации *гетерохроматина* (это явление называют эффектом положения или эффектом положения мозаичного типа) или на посттранскрипционном уровне как результат разрушения *матричной РНК* целевого гена. К распространенным механизмам посттранскрипционного сайленсинга относится *РНК-интерференция*.

Mauro Santos

Гена синтез. Химический синтез последовательности ДНК определенного *гена* в условиях *in vitro* (см. *генетическая информация*, *ДНК синтез*).

Гена сплайсинг. Удаление *интронов* и соединение *экзонов* в ходе формирования зрелой *матричной РНК* из исходной РНК после *транскрипции*. *Альтернативный сплайсинг* — важный механизм для увеличения *кодирующей емкости гена*, позволяющий осуществить синтез структурно и функционально различных белков. Сплайсинг *пре-мРНК* происходит на *сплайсосоме* — крупном молекулярном комплексе, состоящем из четырех *малых ядерных рибонуклеопротеинов* (U1-, U2-, U4/U6- и U5-мяРНП) и 50–100 факторов сплайсинга иной природы.

Mauro Santos

Гена частота. В популяционной генетике обозначает частоту аллеля в популяции. Например, серповидноклеточная анемия достаточно часто встречается в Африке в районе Сахары и вызывается аллелем Hbs, который кодирует аномальный гемоглобин; в этих популяциях имеет частоту до 20%.

Mauro Santos

Гена экспрессия. В общем виде это процесс, при котором информация, закодированная в *гене*, становится наблюдаемой в фенотипе (наиболее часто при синтезе белка). Экспрессия гена представляет собой многостадийный процесс, который начинается с *транскрипции*, *процессинга/транспорта матричной РНК* и *трансляции*, а заканчивается фолдингом белка, его посттрансляционной модификацией и направлением белка в соответствующие районы клетки. Количество белка, экспрессируемого клеткой, зависит

от типа ткани, стадии развития организма и метаболического или физиологического состояния клетки и может контролироваться на любом этапе (см. *гена регуляция*).

Beatrix Süss

Генетическая дактилоскопия. См. *ДНК-дактилоскопия*.

Генетическая информация. Наследственная информация, сохраняемая в организмах в виде молекул нуклеиновых кислот. Существуют другие типы носителей наследственной информации (прионы, эпигенетические системы и мемы), которые не считаются генетическими. Наследственность — одна из предпосылок эволюции. И у эукариот, и у прокариот переносчиками Г. и. служат *хромосомы*. В эукариотических клетках основной объем этой информации сосредоточен в ядре, но часть *генов* также расположена в митохондриях и пластидах.

Eörs Szathmáry

Генетическая карта. Графическое представление относительного расположения *генов* на *геномной ДНК* или *плазмидной ДНК*. Г. к. строят с использованием специального компьютерного программного обеспечения. Они могут быть линейными (хромосомные карты) или кольцевыми (плазмидные карты).

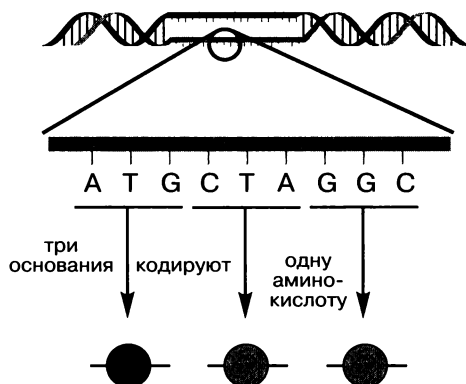
Susanne Brakmann

Генетический импринтинг. Явление зависимой от родителя экспрессии *гена*: экспрессия зависит от того, от какого из родителей данный ген (аллель) был унаследован. Процесс, известный как перепрограммирование, происходит в ходе передачи гена от сперматозоида или яйцеклетки и приводит к тому, что на самых ранних этапах эмбриогенеза отцовские и материнские *аллели* обладают разными возможностями. Импринтинг осуществляется посредством *метилирования* или модификации структуры *хроматина*, в результате чего *транскрипция* гена блокируется. Для сравнительно небольшого числа генов в геноме человека известно, что они подвержены импринтингу. Обычно эти гены образуют кластеры в *геноме*. Процесс *сайленсинга* во многом действует сходно с мутациями или делецией одной из копий гена с той разницей, что это изменение не является постоянным и наследуемым. Мутация или делеция активной копии гена могут приводить к развитию патологий.

Несколько генов в районе q11–13 15-й хромосомы подвержены *геномному импринтингу*. Делеции в этом районе приводят к развитию двух заболеваний: синдромов Прадера–Вилли и Энгельмана. Синдром Прадера–Вилли развивается, если отсутствует район в отцовской хромосоме, Энгельмана — при потере фрагмента материнской хромосомы. См. *геномный импринтинг*.

Beatrix Süss

Генетический код. У современных организмов большинство реакций катализируются ферментами на белковой основе. Г. к. — это таблица, в соответствии с которой *генетическая информация*, хранящаяся в молекулах ДНК и РНК, может быть транслирована в белки (ферменты и структурные



белки). Существует соответствие между линейной последовательностью нуклеотидов (см. *нуклеотидов последовательность*) гена и последовательностью аминокислот в молекуле белка. В простейшем случае одному гену соответствует один белок. При прочтении в определенном направлении ($5' \rightarrow 3'$) молекула *матричной РНК* (мРНК) определяет коллинеарный синтез кодируемого белка. Один *триплет* нуклеотидов (см. *кодон*) кодирует одну аминокислоту, а протяженная последовательность неперекрывающихся триплетов соответствует протяженной неперекрывающейся последовательности аминокислот.

Существует 64 (4^3) возможных триплетов и 20 аминокислот. Генетический код представлен в виде таблицы, отображающей, какой кодон соответствует каждой аминокислоте.

	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC UUA } Leu UUG	UCU } Ser UCC UCA UCG	UAU } Tyr UAC UAA Стоп UAG Стоп	UGU } Cys UGC UGA Стоп UGG Trp	U C A G
C	CUU } Leu CUC CUA CUG	CCU } Pro CCC CCA CCG	CAU } His CAC CAA } Gln CAG	CGU } Arg CGC CGA CGG	U C A G
A	AUU } Ile AUC AUA AUG	ACU } Thr ACC ACA ACG	AAU } Asn AAC AAA } Lys AAG	AGU } Ser AGC AGA AGG } Arg	U C A G
G	GUU } Val GUC GUA GUG	GCU } Ala GCC GCA GCG	GAU } Asp GAC GAA } Glu GAG	GGU } Gly GGC GGA GGG	U C A G

Названия аминокислот:

Ala = аланин
Arg = аргинин
Asn = аспарагин
Asp = аспарагиновая кислота
His = гистидин
Cys = цистеин

Gln = глутамин
Glu = глутаминовая кислота
Gly = глицин
His = гистидин
Ile = изолейцин

Leu = лейцин
Lys = лизин
Met = метионин
Phe = фенилаланин
Pro = пролин

Ser = серин
Thr = треонин
Trp = триптофан
Tyr = тирозин
Val = валин

Г. к. однозначен (один триплет кодирует только одну аминокислоту), но вырожден (несколько различных триплетов, до шести, могут кодировать одну и ту же аминокислоту). В современных организмах Г. к. реализуется в ходе *трансляции* на *рибосоме*. Каждая аминокислота присоединяется к молекуле соответствующей *транспортной РНК* (тРНК) за счет активности фермента *аминоацил-тРНК-синтетазы*. В норме существует только 20 таких синтетаз, но больше тРНК, что отчасти соответствует вырожденной природе Г. к. *Кодоны* в мРНК образуют пары с *антикодонами* тРНК на рибосоме. Существует три *стоп-кодона*, которым не соответствуют аминокислоты: они только указывают рибосоме на необходимость завершить трансляцию. Предполагалось, что Г. к. универсален, но это неверно. На рисунке показана так называемая «каноническая» версия, по сравнению с которой у некоторых организмов (в митохондриях, у *Mycoplasma* и инфузорий) возможны небольшие отклонения. При использовании стоп-кодона могут быть встроены дополнительные аминокислоты: селеноцистеин (кодон UGA) и пирролизин (кодон UAG). Происхождение Г. к. представляет собой хорошо известную сложную проблему; многие считают, что он берет начало в *мире РНК*. Некоторые последовательности РНК действительно обладают способностью осуществлять все этапы современной трансляции, а образование пептидной связи в рибосомах даже сейчас катализируется *рибосомной РНК* в большей степени, нежели рибосомными белками.

Eörs Szathmáry

Генетический отпечаток. См. *ДНК дактилоскопия*. А также генетические модификации, которые позволяют идентифицировать или проследить одну конкретную последовательность или статус *гена*.

Генетический полиморфизм. Присутствие в популяции двух и более различных форм или типов особей, которые возникают при сегрегации различных *аллелей*.

Генная библиотека. Набор *клонов кДНК* из организма или образца ткани, предварительно клонированный в фаговый *вектор* или *плазмиду* и доступный для амплификации и скрининга специфических последовательностей (см. *кДНК библиотека*).

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Генная конверсия. Нерцепируемый перенос *генетической информации* между гомологичными несестринскими *хроматидами* в индивидуальных мейотических тетрадах. Предполагается, что Г. к. объясняет перемещение небольших непрерывных сегментов ДНК между различными последовательностями или гаплотипами.

Mauro Santos

Генная терапия. В узком смысле это перенос нового генетического материала в клетки пациента для достижения терапевтического эффекта. В более широком смысле методики Г. т. включают не только перенос *генов*, но и терапевтическое использование любых *нуклеиновых кислот* (например, *антисмысловая стратегия* с применением *антисмысловых олигонукле-*

отидов, рибозимов, триплекс-образующих олигонуклеотидов или малых интерферирующих РНК с целью вызвать РНК-интерференцию). В клинической практике Г. т. начали применять с 1990 г. при лечении детей с острым комбинированным иммунодефицитом. В последующие 15 лет по информации базы данных Journal of Gene Medicine (www.wiley.co.uk/genmed/clinical) эти технологии были использованы более чем в 1000 случаев.

В большинстве подходов Г. т. для доставки генетического материала в клетки-мишени используют вирусные *векторы*. Примерно половина клинических случаев была связана с использованием ретровирусов или аденовирусов. Дополнительные векторные системы основаны на вирусе герпеса или аденосателлитных вирусах. Разрабатываются также методы невирусного переноса генов. Г. т. может быть применена в условиях *ex vivo* в выделенных из тела клетках или *in vivo* путем прямой инъекции вирусов в кровяное русло.

Примерно две трети случаев применения Г. т. связаны с попытками лечения различных форм рака. Кроме них Г. т. используют при лечении моногенных, инфекционных и сосудистых заболеваний. Среди наиболее успешных примеров — лечение детей с X-сцепленным острым комбинированным иммунодефицитом путем трансплантации клеток костного мозга ретровирусами в условиях *ex vivo*. У нескольких детей, подвергшихся такой процедуре, позже развилось сходное с лейкемией состояние, предположительно связанное с инсерционным мутагенезом. Один пациент умер после переноса гена орнитинтранскарбамилазы в составе аденовирусного вектора из-за острой иммунной реакции. Прогресса в Г. т. следует ожидать от новых векторов с улучшенными свойствами. Начальные клинические испытания показали обещающие результаты, в том числе при лечении гемофилии В или переноса ангиогенных факторов для терапии сосудистых и коронарных расстройств. Онколитические вирусы с индуцируемой в зависимости от условий репликацией используются в лечении рака.

По этическим причинам до настоящего момента применяют только Г. т. соматических клеток пациентов с уже поставленным диагнозом; модификация половых клеток, генетическая информация которых может передаваться последующим поколениям, не используется. С точки зрения этики необходима гарантия того, что Г. т. будет использоваться только для лечения серьезных заболеваний, а не для улучшения физических и интеллектуальных способностей здоровых людей.

Jens Kurreck

Генная технология. Общий термин, относящийся к технологиям, которые основаны на рекомбинации ДНК.

Генный локус. Место хромосомной *локализации гена*, которое может быть занято любым *аллелем* этого гена.

Генный чип (генная матрица, генов матрица). См. *ДНК-чип*.

Генов банк. База данных, содержащая последовательности ДНК. См. *геномная ДНК, ДНК-копия*.

Генов обмен. *Гены* могут передаваться между клетками или организмами по разным причинам. Важное значение имеет так называемый горизонтальный перенос генов, при котором организм передает генетическую информацию в клетку, которая не является его потомком. Изучение последовательностей многих *геномов* показало, что горизонтальный перенос генов (см. *гена перенос*) многократно происходил между прокариотами, хотя его существование было подтверждено и для высших растений и животных.

Mauro Santos

Генов перестановка. Термин относится к относительному порядку расположения *генов* в *хромосоме*. Например, такие хромосомные перестройки, как *инверсии*, при которых сегмент хромосомы переворачивается на 180° относительно соседних участков, приводит к тому, что порядок генов оказывается обратным по сравнению с исходным.

Mauro Santos

Генов семейство. Набор *генов* (обычно называемых паралогами), возникших при дупликации и накоплении изменений предкового гена. Гены группируют в семейства на основании наличия общих мотивов в последовательности и сходства в структуре.

Mauro Santos

Геном. Полная *генетическая информация*, содержащаяся в клетке или организме.

Генома анализ. Изучение структуры *геномов* с использованием различных аналитических методов. Анализ генома включает выявление генетических *полиморфизмов* на уровне как отдельных *нуклеотидов* (мутационный анализ, *однонуклеотидный полиморфизм*), так и *генов* и *фрагментов генома* (см. *ДНК-дактилоскопия*, *полиморфизм длины рестриктных фрагментов*, *полиморфизм длины амплифицированных фрагментов*), а также анализ последовательности (см. *последовательности анализ*) геномов, изучение их структуры, организации и функциональных особенностей (геномика). В дополнение к молекулярным методикам, анализ геномов сопряжен с применением инструментов биоинформатики с целью сбора данных о различных последовательностях, их *выравнивания* и сравнения, детектирования *открытых рамок считывания* и регуляторных элементов, а также для *геномного картирования*. Анализ геномов важен в медицине (диагностика и терапия), например для скрининга специфических *мутаций* или генетических факторов, определяющих предрасположенность к заболеванию, выявления бактериальных и вирусных инфекций, разработки вакцин и *генной терапии* мутировавших или недостающих генов. Помимо медицинского применения, анализ геномов используют для изучения и сравнения организмов на геномном уровне и для определения эволюционного родства генов, генных семейств (см. *генов семейство*) и видов.

Susanne Brakmann

Генома секвенирование. Определение последовательности азотистых *оснований* полноразмерного *генома*. В последнее десятилетие было завершено секвенирование нескольких сотен вирусных геномов и геномов различных

бактерий, архей и эукариот. Анализ генома человека был одним из наиболее масштабных проектов по секвенированию геномов, результаты которого были опубликованы в 2001 г. (см. *проект «Геном человека»*). Проекты по масштабному секвенированию геномов вносят значительный вклад в научный прогресс во многих дисциплинах, например таких, как развитие технологий секвенирования, функциональный геномный анализ (геномика) и персонализированная медицина будущего.

Susanne Brakmann

Геномная библиотека. Обычно это пул последовательностей, образующихся при фрагментации *геномной ДНК* с целями последующего *секвенирования*. См. *секвенирование методом «выстрела из дробовика» («наугад»)*, *проект «Геном человека»*, *ДНК, последовательности анализ*.

Sabine Müller

Геномная ДНК. Полный набор *хромосомной ДНК*.

Геномный импринтинг. Эпигенетическая модификация *хромосом* в гаметах плацентарных млекопитающих, в результате которой хромосомы по-разному модифицируются в ходе мейоза в отцовском и материнском организмах. Импринтированные материнские или отцовские гены оказываются под действием сайленсинга в ходе эмбрионального развития, так что экспрессируется только неимпринтированный *ген* на хромосоме, полученной от второго родителя. Неравный уровень экспрессии унаследованных *аллелей* сохраняется и в дочерних клетках, образовавшихся при делении. Известны несколько заболеваний человека (например, синдром Энгельмана или синдром Прадера–Вилли, оба связаны с 15-й хромосомой), которые возникают в результате частичной моносомии по хромосомным областям, подверженным импринтингу. См. *генетический импринтинг*.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Геномный чип (геномная матрица). См. *ДНК-чип*.

Генотип. Генетический статус индивида, отраженный в ДНК. Обычно относится к определенным свойствам (в конкретном исследовании).

Генофонд. В популяционной генетике термин обозначает всю *генетическую информацию* в группе свободно скрещивающихся между собой особей в популяции в определенное время. Так как у диплоидных особей происходит перегруппировка *аллелей* в гаметах, которые затем при оплодотворении соединяются и дают новые генотипы, точнее говорить о популяции *генов*, а не о популяции индивидов.

Mauro Santos

Ген-супрессор опухолевого роста. Эндогенный *ген* в эукариотической клетке, который выполняет функцию контроля за целостностью генетического материала (ДНК) или состояния клетки в целом. Способен запускать апоптоз, если клетка серьезно повреждена или не отвечает на регуляторные сигналы.

Mauro Santos

Гены «домашнего хозяйства». Конститутивные *гены*, которые транскрибируются на относительно постоянном уровне. Продукты этих генов обеспечивают основные функции поддержания жизнедеятельности клетки.

Mauro Santos

Гены конститутивные. *Гены*, экспрессия которых происходит постоянно.

Гены рРНК. *Рибосомная РНК* (рРНК) — основной продукт транскрипции, составляющий до 80–90% всей РНК в клетках прокариот и эукариот. Число Г. р. различно: от семи у *Escherichia coli* до нескольких сотен у высших эукариот. Г. р. в эукариотических геномах обычно организованы в виде tandem-повторов. У человека около 300 генов рРНК собраны в пять кластеров на различных хромосомах (см. *РНК процессинг*).

Mauro Santos

Гены сегментации. *Гены*, экспрессия которых на ранних стадиях разграничивает эмбрион на повторяющиеся наборы зачатков сегментов вдоль передне-задней оси тела. *Мутации* в этих генах вызывают потерю сегментов или их частей у эмбриона.

Mauro Santos

Гены теплового шока. Кодируют белки *теплового шока* (БТШ), которые индуцируются в условиях *теплового шока* и противодействуют неправильной укладке и агрегации белков. Экспрессия Г. т. ш. регулируется большим числом транскрипционных и посттранскрипционных механизмов, которые различны у разных организмов. Некоторые Г. т. ш. экспрессируются на низком уровне при любых условиях из-за их важной роли в регуляции фолдинга белков.

Эукариотические Г. т. ш. предваряются *элементом теплового шока*, с которым связывается *фактор теплового шока*. Транскрипция Г. т. ш. у *Escherichia coli* и родственных бактерий находится под контролем альтернативного *сигма-фактора*. Другие микроорганизмы используют *репрессорные белки* для блокирования транскрипции Г. т. ш. при низких температурах или в отсутствие неправильно сложенных белков. Трансляция транскриптов Г. т. ш. может контролироваться *РНК-термометрами*.

Franz Narberhaus

Геометрическая номенклатура и классификация пар оснований РНК. Наиболее фундаментальным взаимодействием в молекулах *нуклеиновых кислот* является образование водородных связей между азотистыми основаниями «сторона к стороне» (см. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*), прототипом которого служат *уотсон-криковские пары оснований*. В уотсон-криковской паре основания взаимодействуют своими *уотсон-криковскими сторонами*, а псевдоось 2-го порядка, связывающая *гликозидные связи* (они имеют *цис-ориентацию*) лежит в плоскости пары. В течение последних 10 лет в различных структурах РНК (см. *РНК структура*) были описаны другие типы взаимодействий. Эрик Вестхоф с соавторами предложили номенклатуру пар оснований РНК на основе их геометрии и разработали *матрицы изостеричности*, обобщающие геометрические взаимодействия в 12 семействах парных комбинаций четырех

природных оснований с учетом типа *взаимодействия азотистых оснований «сторона к стороне»* и относительной ориентации гликозидных связей в паре.

Sabine Müller

Гетерогенная ядерная РНК (гяРНК). Эукариотический ядерный РНК-предшественник зрелых цитоплазматических *матричных РНК* (мРНК), которые в свою очередь являются *матрицей* для синтеза белков. *Транскрипция*, приводящая к образованию гяРНК, осуществляется с помощью *РНК-полимеразы II*. *Транскрипты* обладают различным размером — от сотен до более 100 000 нуклеотидов в длину. Превращение гяРНК в мРНК происходит в ядре до экспорта в цитоплазму и, как правило, включает три стадии: присоединение *кэпа* к 5'-концу, *сплайсинг интронов* и 3'-*полиаденилирование*. Кэпирование осуществляется холоферментом РНК-полимеразы II очень рано, когда транскрипт достигает длины менее 10 нуклеотидов. Удаление не кодирующих интронов происходит на *сплайсосоме*. Полиаденилирование выполняет комплекс поли(А)-полимеразы, распознающий специфическую последовательность РНК — *сигнал полиаденилирования* AAUAAA на предшественнике мРНК.

Bernd-Joachim Benecke

Гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин (гяРНП). Комплекс, состоящий из *гетерогенной ядерной РНК* и специфических *РНК-связывающих белков*, иногда обозначаемый как гяРНП-частица. Мультимерная структура гяРНП выглядит как нитка бус. Обработка гяРНП *РНКазой H* в мягких условиях приводит к образованию мономерных частиц с коэффициентом седиментации 40S. Эти частицы состоят из примерно 500 нуклеотидов гяРНК и шести основных коровых белков (A1, A2, B1, B2, C1 и C2), каждый с молекулярной массой 30–40 кДа. Кроме этих белков с 40S-частицей обычно ассоциированы 10–15 различных белков.

Bernd-Joachim Benecke

Гетеродимер. Агрегат из двух различных молекул (например, белков или цепей ДНК). Например, существуют *транскрипционные факторы*, которые активны только, если образуется димер из двух молекул с разной аминокислотной последовательностью.

Matthäus Janczyk

Гетеродуплекс. *Двуцепочечная* молекула, в которой гибридизованы две одиночные цепи различного происхождения.

Гетерохроматин. Высококонденсированная и неактивная в генетическом плане область *хромосом*. Традиционно считалось, что Г. представляет собой своеобразную «пустыню» по содержанию генов или гены в нем не экспрессируются. Однако в ходе современных исследований было показано, что Г. выполняет важные функции в клетке и несет необходимые гены: в *G. Drosophila melanogaster* было идентифицировано около 450 предполагаемых генов.

Mauro Santos

Гетерохроматиновый сайленсинг. *Сайленсинг генов* на уровне транскрипции в результате перемещения *гена* в область *гетерохроматина* (мозаичный эффект положения).

Mauro Santos

Гетерохромосома. *Хромосома*, в основном состоящая из *гетерохроматина*. Гетерогаметные половые хромосомы представляют собой Г.

Гибрид. См. *ДНК–РНК гибрид*.

Гибридизация. Процесс, при котором одиночные цепи ДНК или РНК образует *двойную спираль* (ДНК–ДНК, ДНК–РНК или РНК–РНК) за счет спаривания *комплементарных оснований*. В ходе экспериментов по Г. можно детектировать *гомологию последовательностей* различных по происхождению участков молекул нуклеиновых кислот. В этом случае для выявления Г. (*отжига*) цепей используют зонд — соответствующим образом меченый *олигонуклеотид*. Успешность образования двойной спирали зависит от условий реакции.

Matthäus Janczyk

Гибридная ДНК. *Двойная спираль* ДНК, образованная двумя комплементарными одиночными цепями, которые имеют различное происхождение. Двойные спирали новой гибридной молекулы ДНК образуются в результате совместной *денатурации* исходных двуспиральных ДНК, за которой следует *ренатурация*.

Matthäus Janczyk

Гибридный ген. Химерный ген, т. е. *ген*, который содержит последовательности различных генов.

Гидовая последовательность. Особая часть молекулы РНК, которая гибридизируется с *матричной РНК* и способствует *сплайсингу интронов* РНК. Выделяют *внешние гидовые последовательности* (например, *малые ядерные РНК*) и *внутренние гидовые последовательности*. Внешние Г. п. связываются с *экзонами*, внутренние — с *интронами*, образуя комплекс сплайсинга (см. *гидовые РНК*).

Matthäus Janczyk

Гидовые РНК. Небольшие молекулы РНК, несущие олигоуридиловый «хвост» на 3'-конце, которые вовлечены в процесс редактирования (см. *РНК редактирование*) некоторых *матричных РНК*, *транспортных РНК* и *рибосомных РНК* по типу инсерции/делеции У. Г. р. комплементарны коротким областям редактируемых *транскриптов*. Информация о редактировании содержится в А и G, которые могут образовывать *пары оснований* с встраиваемыми остатками У. Г. р. связываются с одним или несколькими белками, образуя комплексный *рибонуклеопротеин*. Другие Г. р. (см. *малые ядрышковые РНК*) контролируют химическую модификацию рибосомных предшественников молекул РНК.

Bernd-Joachim Benecke

5-Гидроксиметилцитозин. См. *редкие основания, редкий нуклеотид*.

6-Гидроксипурин. См. *гипоксантин*.

Гидрофобное взаимодействие. В водной среде *макромолекулы*, не способные вступать в гидрофильные взаимодействия с молекулами воды, сближаются или образуют комплексы благодаря Г. в. Название «гидрофобный» используется потому, что такое взаимодействие помогает его компонентам избежать контакта с водой. Если дисперсионное взаимодействие преобладает над диполь-дипольными взаимодействиями с другими молекулами, то вещество по природе гидрофобно.

Georg Sczakiel

Гиперморфная мутация. *Мутация*, вызывающая усиление в фенотипическом проявлении (см. *фенотип*). Часто — мутация в регуляторных последовательностях ДНК, например в *промоторе* (см. *гипоморфная мутация, ноль-мутация*).

Hans-Joachim Fritz

Гипермутация (соматическая гипермутация). Внедрение соматической *мутации* в перестроенную последовательность *гена* иммуноглобулина, в частности с целью изменить сегмент, кодирующий антигенсвязывающий участок.

Mauro Santos

Гиперхромизм. Увеличение оптического *поглощения* раствора в УФ-области после *денатурации* нуклеиновой кислоты, как правило, в максимуме поглощения.

Stéphanie Vauléon

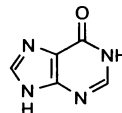
Гиперхромный эффект. Увеличение оптического поглощения в УФ-области раствора нуклеиновой кислоты при денатурации двуцепочечной молекулы, вызванной, например, повышением температуры или обработкой щелочью. Этот эффект связан с изменением природы взаимодействий между основаниями при кооперативном разрушении *водородных связей* и *стэкинг-взаимодействий* (см. *гипохромный эффект*).

Stéphanie Vauléon

Гиперэкспрессия. Уровень экспрессии определенного *гена* или группы генов, превышающий нормальный или расчетный, вследствие воздействия некоторых условий или после *трансфекции* рекомбинантного конструкта.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Гипоксантин (6-гидроксипурин, 6-оксипурин). Встречается в качестве *редкого основания* в некоторых транспортных РНК. При соединении с рибозой через атом N9 образует *инозин*.



Гипоксантинозин. См. *инозин*.

Гипоморфная мутация. *Мутация*, вызывающая ослабление фенотипического проявления признака (см. *фенотип*) до низкого, но конечного уровня. Часто мутация в регуляторной последовательности ДНК, например в *промоторе*. См. *нуль-мутация*, *гиперморфная мутация*.

Hans-Joachim Fritz

Гипохромизм. Уменьшение оптического *поглощения* в УФ-области при *гибридизации* нуклеиновой кислоты в растворе, обычно в максимуме поглощения (см. *гипохромный эффект*). Противоположное увеличение оптического поглощения называется *гиперхромизмом*.

Stéphanie Vauléon

Гипохромный эффект. Уменьшение оптического *поглощения* в УФ-области раствора нуклеиновой кислоты в результате образования *дуплексов* из одноцепочечных молекул. Противоположное явление — увеличение оптического *поглощения* называется *гиперхромным эффектом*.

Stéphanie Vauléon

Гираза. См. *ДНК-гираза*.

Гистоны. Обширный класс белков, ассоциированных с *хроматином*. Функционируют как основа, на которую намотана *двуцепочечная ДНК*. К настоящему времени известны пять классов гистонов, включающие H1, H2A, H2B, H3, H4 и гистоны архей. Гистоны H2A, H2B, H3 и H4 формируют *октамерную нуклеосому* — центр, связывающий 146 п. н. ДНК. Нуклеосомы, разделенные промежутками примерно по 50 п. н., представляют собой основную структурную единицу в составе *хромосом*. Г. могут быть химически трансформированы клеточными гистон-модифицирующими ферментами, что имеет определенное значение при регуляции экспрессии генов (см. *гена экспрессия*). Г. присутствуют в ядрах эукариотических клеток; у бактерий Г. нет, но обнаружены у архей группы Euryarchaea. Г. вовлечены в процесс эпигенетической регуляции активности *генов*, в ходе которой они посттрансляционно модифицируются, что в свою очередь приводит к изменениям в степени конденсации ДНК. Так, метилирование гистонов связано с понижением уровня экспрессии генов, а ацетилирование приводит к повышению интенсивности *транскрипции* и, как следствие, уровня экспрессии. Взаимодействия между Г. и ДНК включают следующие типы: (а) положительный заряд диполей в α -спиралях молекул гистонов H2B, H3 и H4 взаимодействует с отрицательным зарядом *фосфатного остова* ДНК; (б) *водородные связи* между остовом ДНК и аминокислотными группами остова гистоновых белков; (в) неполярные взаимодействия, включающие *рибозу* молекулы ДНК; (г) ионные взаимодействия и водородные связи с участием основных аминокислот и атомов кислорода фосфатных групп молекулы ДНК; (д) неспецифическое внедрение N-концевых доменов гистонов H3 и H2B в *малый желобок*.

Georg Sczakiel

Гликозид. Ацеталь, образуемый из циклического полуацетала сахара при взаимодействии со спиртом или фенолом по аномерной ОН-группе.

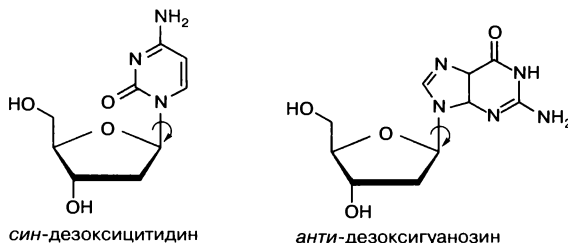
Гликозидная связь. Связь, образуемая между полуацетальной группой сахара (или производной от него молекулы) через аномерный атом

углерода и другим соединением. О-Гликозидная связь образуется на основе гидроксильной группы спирта или другого сахара. Аналогично, S-гликозидной связью аномерный атом углерода в молекуле сахара связывается с другой группой через атом серы. В молекулах *нуклеозидов* каждое азотистое основание присоединяется к аномерному атому углерода остатка сахара N-гликозидной связи — в образовании связи участвует N1 пиримидинов или N9 пуринов. Вещества, молекулы которых содержат N-гликозидные связи, называют гликозилами.

Klaus Weisz

Гликозидный торсионный угол (κ). Торсионный угол поворота вокруг гликозидной связи. Описывает поворот основания вокруг N-гликозидной связи в нуклеозидах между аномерным углеродом сахара и N1 пиримидинов или N9 пуринов. Принято, что торсионный угол, κ или χ , равен нулю, когда на одной плоскости (в заслоненной конформации) находятся атомы O4'—C1'—N9—C4 в случае пуринов и O4'—C1'—N1—C2 в случае пиримидинов. Стерические ограничения приводят к тому, что существуют две области разрешенных значений для этого угла в нуклеозидах, соответствующих *син*- и *анти*-конформации (см. *син*-конформация, *анти*-конформация).

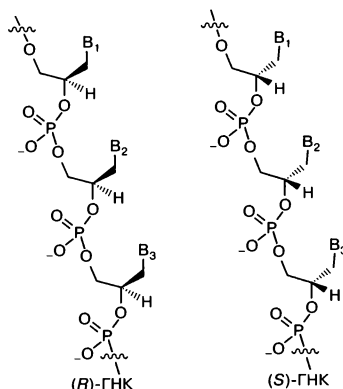
Klaus Weisz



Гликозилаза. См. *ДНК-гликозилаза*.

Гликольнуклеиновые кислоты (ГлНК). Наименьшие по размерам аналоги природных ДНК и РНК, содержащие трехуглеродный остов (мономер — *фосфодиэфир* пропиленгликоля). Способны к образованию антипараллельных *дуплексов* на основе *уотсон-криковских пар оснований*. Возможно, являются предшественниками РНК в пре-РНК-мире.

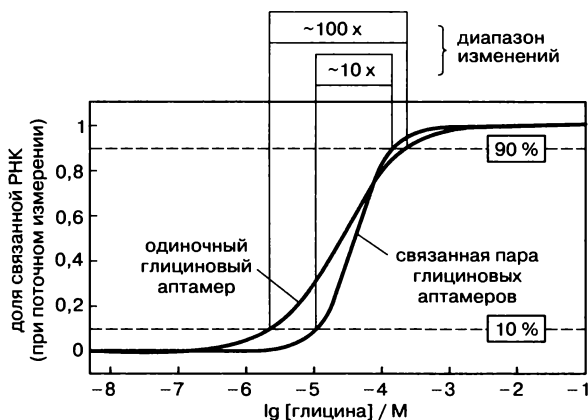
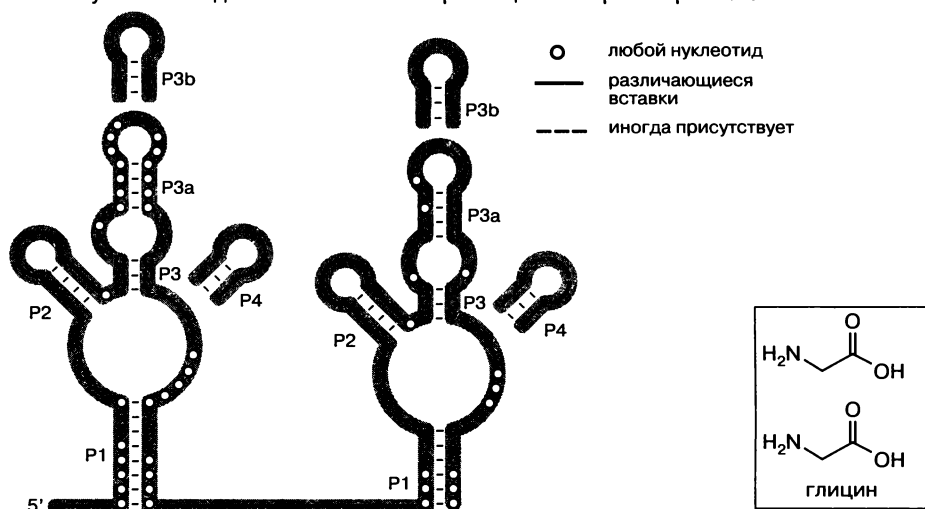
Jörn Wolf



Глициновый рибопереклюатель. Рибопереклюатель, найденный у многих видов бактерий и расположенный *выше генов*, которые кодируют белки, задействованные в потреблении глицина в качестве источника энергии. Он контролирует *экспрессию генов* как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции, и поэтому при высокой концентрации *лиганда* запускается усиленная экспрессия этих белков. Глициновый рибопереклюатель является редким примером «ON-переключателей».

В большинстве случаев два одинаковых глициновых *аптамера* объединены короткой консервативной связкой (линкером), и связывают две молекулы глицина кооперативно. Например, в случае двойного аптамера, найденного у *Vibrio cholera*, связывание лиганда на одном аптамере увеличивает сродство к глицину второго аптамера на два порядка, и наоборот. *Коэффициент Хилла* (уровень кооперативности) для двойного аптамера *V. cholera* такой же, как и для связывания кислорода гемоглобином, он составляет 1,64. Благодаря согласованному поведению, двойной аптамер проявляет высокую

Консенсусная последовательность аптамера глицинового рибопереклюателя



чувствительность к изменению концентрации глицина по сравнению с одиночным аптамером (см. график). Чтобы изменить количество РНК в сайте связывания от 10 до 90%, концентрация уменьшается от примерно 100-кратной для одиночного аптамера глицина до 10-кратной для попарно связанных аптамеров. Возможно, по этой причине клетки не могут быстро реагировать на изменения концентраций глицина, т. е. увеличивать экспрессию генов расщепления глицина при высоких концентрациях с целью использования его как источника энергии или сокращать экспрессию генов при низкой концентрации глицина с целью поддержания достаточного уровня синтеза белка. Кроме того, глициновый рибопереключателъ различает такие природные соединения, как L-аланин и L-серин, несмотря на тот факт, что он связывает лиганд всего лишь из 10 атомов. См. *рибопереключателъ*.

Rüdiger Welz

ГНК. См. *гликольнуклеиновые кислоты*.

Глюкозамин-6-фосфатный рибопереключателъ. См. *GlcN6P-рибопереключателъ*.

ГМФ. Гуанозинмонофосфат. См. *нуклеозидфосфаты*.

ГНК. См. *гекситолнуклеиновая кислота*.

Гомеобокс. Последовательность ДНК длиной 180 п. н., впервые обнаруженная в составе *генов*, которые участвуют в регуляции развития у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Позднее такие гены были найдены у многих других групп животных, включая млекопитающих.

Mauro Santos

Гомеодомен. Белковый домен, кодируемый *гомеобоксом*. Содержащие гомеодомен белки представляют собой семейство *транскрипционных факторов*. Состоящий из 60 аминокислот Г. связывается с определенными областями ДНК и важен в определении судьбы клеток.

Mauro Santos

Гомеозисные гены. *Гены, мутации* в которых (гомеозисные мутации) приводят к тому, что одна часть тела заменяется на другую. Хорошо известный пример — мутация *Antennapedia (Antt)* у *Drosophila*, при которой на голове вместо антенн формируются ноги. Г. г., как правило, кодируют *транскрипционные факторы*, участвующие в дифференцировке различных частей тела. У плодовой мушки *Drosophila melanogaster* большинство Г. г. сосредоточено в двух районах 3-й хромосомы. Один из них, комплекс *Antennapedia*, содержит Г. г., ответственные за правильную дифференцировку сегментов головы и груди (*labial (lab)*, *Antennapedia (Antt)*, *sex combs reduced (scr)*, *Deformed (dfd)* и *proboscipedia (pb)*). Второй кластер Г. г., комплекс *bithorax*, включает в себя три гена, которые участвуют в определении судьбы сегментов брюшка: *Ultrabithorax (Ubx)*, *abdominal A (abdA)* и *Abdominal B (AbdB)*.

Mauro Santos

ГомоДНК. Последовательность ДНК, содержащая только пурины или только пиримидины, или даже только один из четырех *нуклеотидов*. Также носит название *гомополимера*.

Гомодуплекс. Одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты, которая образует двуцепочечные участки из-за наличия комплементарных друг другу *обращенных повторов*. Эти двуцепочечные участки часто разделены одноцепочечными *петлями* («ручка сковороды»).

Matthäus Janczyk

Гомологичная рекомбинация. Происходит в процессе мейоза, когда гомологичные *хроматиды* проходят процесс разрыва—соединения и обмениваются определенными дистальными участками своей ДНК.

Mauro Santos

Гомологичная хромосома. В диплоидных организмах гомологичные *хромосомы* существуют парами, так как содержат одни и те же *гены*, хотя зачастую и в виде разных аллелей.

Гомологичный ген. Ген, имеющий с другим *геном* общее происхождение, но необязательно расположенный в той же *хромосоме*.

Гомополимер. Полимер, состоящий из одинаковых мономерных единиц. См. *гомоДНК*, *гомодуплекс*.

«Горячая точка». Сайт или участок в последовательности ДНК/РНК с повышенной активностью. Например, «горячая точка» *мутирования* представляет собой сайт последовательности ДНК, в котором изменения структуры (вследствие мутаций) происходят достоверно чаще, чем в других сайтах.

Slawomir Gwiazda

Горячая точка мутирования. Сайт в последовательности ДНК, в котором *мутации* происходят чаще, чем в других сайтах (см. «горячая точка»).

График Иди—Хофсти. Как и график *Лайнуивера—Берка*, Г. И.—Х. строят при переводе уравнения Михаэлиса—Ментен в уравнение прямой:

$$v = v_{\max} - K_M \cdot v/c_s$$

График зависимости скорости образования продукта, v , от отношения этой скорости к концентрации субстрата, c_s — прямая. Пересечение с осью ординат дает максимальную скорость, v_{\max} , а наклон показывает значение K_M . Он отчасти удобнее графика *Лайнуивера—Берка*, так как при высоких концентрациях данные не располагаются так кучно. Но Г. И.—Х. и не отсекает выбивающиеся значения.

Christian Herrmann

График Лайнуивера—Берка. Преобразование уравнения Михаэлиса—Ментен в линейную форму:

$$1/v = 1/v_{\max} + K_M/(v_{\max} \cdot c_s)$$

Так как строится зависимость обратных скоростей образования продукта, v , от обратных концентраций субстрата, c_s , этот график называют графиком

в двойных обратных координатах. Максимальную скорость v_{\max} (см. *Михаэлиса—Ментен модель, число оборотов*) можно определить по отрезку, отсекаемому на оси ординат, а значение K_M — по наклону линейного графика. График Лайнуивера—Берка не только позволяет рассчитать константы скорости ферментативных реакций без применения компьютера, но и дает возможность легко выявить отклонения от идеального поведения фермента. См. *график Иди—Хофсти*.

Christian Herrmann

График Хилла. Метод определения кооперативности связывания *лиганда с биомолекулой* с множественными одинаковыми *сайтами связывания*. Биомолекула чаще всего представляет собой гомодимер, гомотетрамер или другой олигомер (например, гемоглобин). Кооперативность означает, что связывание лиганда с одним сайтом изменяет сродство других сайтов к лиганду. Положительная кооперативность приводит к повышению аффинности, тогда как отрицательная кооперативность означает снижение сродства следующего лиганда. Положительная кооперативность приводит в предельном случае к тому, что биомолекула или не связывает лиганды вообще, или лиганды занимают все сайты связывания. Молекулы, у которых количество связанных молекул лиганда меньше максимального, присутствуют в пренебрежимо малых концентрациях. Бинарный комплекс характеризуется *константой диссоциации*; для комплекса, состоящего из биомолекулы А и n молекул лиганда, можно определить аналогичную константу:

$$K = c_A \cdot c_L^n / c_{\text{комплекс}}$$

Как и для константы диссоциации, это выражение можно преобразовать, получив уравнение Хилла:

$$\Theta = c_L^n / (K + c_L^n)$$

Здесь степень насыщения Θ соответствует концентрации связанного лиганда, поделенной на общую концентрацию биомолекулы и число сайтов связывания n . В отличие от гиперболической зависимости Θ от c_L для бинарного комплекса (см. *константа диссоциации*), в случае множественного кооперативного связывания форма кривой S-образная (сигмовидная). Это отражает меньшее сродство лиганда при низких концентрациях, которое возрастает после того, как первый сайт связывания занят.

Логарифмирование преобразованного уравнения Хилла

$$\lg\{\Theta/(1 - \Theta)\} = n \lg(c_L) - \lg K$$

позволяет построить линейный график зависимости $\lg\{\Theta/(1 - \Theta)\}$ от $\lg c_L$, т. е. график Хилла. Угол наклона графика дает *коэффициент Хилла*, или коэффициент кооперативности, который эквивалентен максимальному числу сайтов связывания. Поскольку этот график нестрого линеен во всем диапазоне возможных концентраций лиганда, наклон определяют в интервале концентраций от 10 до 90% насыщения. Для более низких и высоких концентраций лиганда наклон почти линеен и соответствует n .

Christian Herrmann

гРНК. См. *гидовая РНК*.

Грюнштейна—Хогнесса метод. См. *колоний блот-анализ*.

ГТФ. Гуанозинтрифосфат (См. *нуклеозидфосфаты*).

Гуанин. См. *азотистые основания*.

Гуаниновый арабинонуклеозид. См. *арабинонуклеозиды*.

Гуаниновый ксилонуклеозид. См. *ксилонуклеозиды*.

Гуаниновый рибонуклеозид. См. *нуклеозиды*.

Гуаниновый рибопереключател. Во многом сходен с *адениновым рибопереключателем*, поэтому оба относят к *пуриновым рибопереключателям*.

Гуанозин. Природный элемент структуры РНК (см. *нуклеозиды*).

Гуанозиндифосфат (ГДФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Гуанозинмонофосфат (ГМФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Гуанозинтрифосфат (ГТФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

ГХ-МС. См. *газовая хроматография—масс-спектрометрия*.

гяРНК. См. *гетерогенная ядерная РНК*.

гяРНП. См. *гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин*.

Д

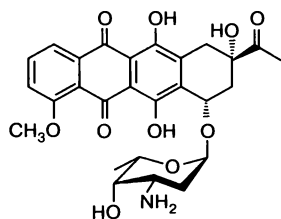
дАДФ. 2'-Дезоксиаденозиндифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Дальние третичные взаимодействия. См. *третичные взаимодействия*.

дАМФ. 2'-Дезоксиаденозинмонофосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

дАТФ. 2'-Дезоксиаденозинтрифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Дауномицин (даунорубицин). Противоопухолевый препарат, относится к *антрациклинам*. В природе синтезируется в клетках бактерий *Streptomyces*



reisceticus. Остаток Д. интеркалирует в *малый жёлобок* ДНК. При этом наибольший приоритет отдается последовательностям, в которых *пара оснований* G-С с 5'-стороны граничит с парой А-Т. Д. вступает во взаимодействие с тремя парами оснований и вызывает локальное расплетание и незначительное искажение спиральной конформации ДНК

(см. *ДНК конформация*). В этом случае он ингибирует *репликацию* в быстро делящихся клетках опухоли. Д. вводят внутривенно при терапии острой лимфобластической лейкемии и острой миелоидной лейкемии.

Bettina Appel

Двойная спираль ДНК. См. *Уотсона—Крика модель, ДНК, ДНК конформация*.

Двойная спираль. См. *двойная спираль ДНК*.

Двунаправленная репликация. *Репликация* ДНК начинается с *ориджи-на* (точки начала) *репликации* в обе стороны, при этом формируются две *репликативные вилки*. Репликация завершается, когда две вилки сходятся.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Двунаправленный промотор. *Промотор*, используемый для регуляции в обоих направлениях; *точки начала транскрипции* локализованы на расстоянии менее 1000 нуклеотидов друг от друга. *Гены* расположены по обе стороны от Д. п. и могут быть транскрибированы в противоположных направлениях. В некоторых случаях экспрессия пары генов скоординирована и продукты *транскрипции* биологически родственны. В геноме человека не менее 10% всех *генов* расположены двунаправленно. См. *промотор*.

Jörn Wolf

Двуцепочечная ДНК (дцДНК). Любая молекула ДНК, состоящая из двух *комплементарных цепей*, которые образуют *уотсон-криковские пары* оснований. Обычно две цепи имеют противоположную 3'→5' полярность. Д. д. существует в различных конформациях (см. *ДНК конформация*).

Sabine Müller

Двуцепочечная нуклеиновая кислота. См. *двуцепочечная ДНК, двуцепочечная РНК*.

Двуцепочечная РНК (дцРНК). Продукт или эндогенной *транскрипции* повторяющихся элементов ДНК (либо вирусных последовательностей), или преднамеренной экзогенной экспрессии. Д. р. — предшественник *малых интерферирующих РНК* и в большинстве эукариотических клеток осуществляет *сайленсинг генов* по механизму *РНК-интерференции*.

Nicolas Piganeau

Двуцепочечный. См. *двуцепочечная ДНК, двуцепочечная РНК*.

ддАТФ. 2',3'-Дидезоксиаденозинтрифосфат (см. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты, последовательности анализ, секвенирование по Сенгеру*).

ддГТФ. 2',3'-Дидезоксигуанозинтрифосфат (см. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты, последовательности анализ, секвенирование по Сенгеру*).

ддНТФ. 2,3-Дидезоксинуклеозидтрифосфат (см. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты, ДНК секвенирование, секвенирование по Сенгеру*).

ддТТФ. 2,3-Дидезокситимидинтрифосфат (см. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты, ДНК секвенирование, секвенирование по Сенгеру*).

ддЦТФ. 2',3'-Дидезоксицитидинтрифосфат (см. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты, последовательности анализ, секвенирование по Сенгеру*).

2'-Дезоксиаденозин. Природный компонент ДНК (см. *нуклеозид*).

2'-Дезоксиаденозин-5'-монофосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксиаденозиндифосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксиаденозинмонофосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксигуанозин. Природный компонент ДНК (см. *нуклеозид*).

2'-Дезоксигуанозиндифосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксигуанозинтрифосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксинуклеозид. См. *нуклеозид*.

2'-Дезоксинуклеотид. Мономер ДНК (см. *нуклеотид*).

2'-Дезоксирибоза. Углеводный компонент природных нуклеозидов, входящих в состав ДНК. В природных ДНК встречается только D-энантиомер (см. *нуклеозид, нуклеотид*).

2'-Дезоксирибонуклеозидмонофосфат. См. *нуклеозидфосфаты, нуклеотид*.

2'-Дезоксирибонуклеозидтрифосфат. См. *нуклеозидфосфаты, нуклеотид*.

2'-Дезоксирибонуклеотид. См. *нуклеотид*.

2'-Дезоксиуридин. Урацил, связанный с 2'-дезоксирибозой (см. *нуклеозиды*).

2'-Дезоксицитидин. Природный компонент ДНК (см. *нуклеозид*).

2'-Дезоксицитидиндифосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксицитидинмонофосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

2'-Дезоксицитидинтрифосфат. См. *нуклеозидфосфат, нуклеотид*.

Дезоксинуклеозиддифосфат. См. *нуклеозидфосфат*.

Дезоксинуклеозидмонофосфат. См. *нуклеозидмонофосфат*.

Дезоксинуклеозидтрифосфат. См. *нуклеозидтрифосфат*.

Дезоксирибозилтрансфераза. Фермент, который катализирует расщепление N-гликозидной связи в 2'-дезоксирибонуклеозиде и последующий обмен отщепленного азотистого основания на другое основание. Д. класса I (пуринтрансдезоксирибозилтрансферазы) могут катализировать обмен только *пуриновых оснований*. Д. класса II (нуклеозид-2-дезоксирибозилтрансферазы) катализируют замены пурина на пурин, пурина на пиримидин и пиримидина на пурин.

Дезоксирибозимные и рибозимные схемы. Множественные логические вентили могут быть соединены параллельно (т. е. вести себя независимо) и последовательно (выход предыдущего вентилля направляется в последующий), образуя схемы с более сложным поведением. Схемы позволяют анализировать произвольное число исходных операндов и получать произвольное число выходных сигналов. Среди описанных схем фигурируют полные и полусумматоры, есть автоматы, играющие в крестики-нолики, *лигазные—фосфодиэстеразные* каскады. В дальнейшем еще более сложные схемы могут быть получены при сочетании логических вентилей с *аптамерами*.

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

Дезоксирибозимы (ДНКзимы или ДНК-ферменты). Молекулы ДНК, обладающие каталитической активностью. Подобно РНК и белкам, ДНК способна укладываться в сложные трехмерные структуры, обладающие *карманами связывания для лигандов и каталитическими центрами* для осуществления широкого круга химических реакций. Природные Д. неизвестны. Многочисленные искусственные Д. были созданы с использованием *отбора in vitro* из комбинаторных *ДНК-библиотек*. Первый Д. был получен в 1994 г., он способен расщеплять определенную РНК-связь в более длинной цепи *нуклеиновой кислоты*. Каталитические реакции Д. можно подразделить на несколько типов. (а) Реакции расщепления РНК. Этот класс реакций наиболее многочислен, содержит молекулы, применяемые как ферменты рестрикции для РНК и включающие так называемые «8–17 Д.» и «10–23 Д.». Возможно сконструировать Д., расщепляющие практически любую мРНК. Для осуществления своей активности эти ДНКзимы нуждаются в ионах двухвалентных металлов. (б) Реакции ковалентной модификации нуклеиновых кислот. Некоторые реакции, катализируемые Д., включают изменения в статусе фосфорилирования цепи ДНК или РНК, в частности фосфорилирование и аденилирование ДНК. Другие реакции — ДНК-дегликозилирование, фотокоррекция *timiновых димеров* и расщепление ДНК (происходит реакция Cu^{2+} -зависимого окислительного расщепления). (в) Реакция лигирования ДНК или РНК с образованием линейных или разветвленных продуктов. (г) Другие каталитические реакции (например, внедрение иона металла в порфирин). Помимо широкого применения в качестве ферментов рестрикции (см. *рестрикции фермент*), применение Д., расщепляющих РНК, включает прицельное *in vivo* расщепление *матричных РНК*, картирование точек разветвления молекул РНК или создание логических вычислительных схем (см. *логические вентили на основе дезоксирибозимов и рибозимов, дезоксирибозимные и рибозимные схемы, автомат на основе дезоксирибозима*). Каталитические возможности Д. могут быть усилены при внедрении *модифицированных нуклеотидов*, содержащих дополнительные *функциональные группы*.

Andres Jäschke

Дезоксиуридиновый мутагенез. См. *мутагенез по Кункелю*.

Декодирование. См. *рибосома*.

Декодирующий центр. Один из двух реакционных центров *рибосомы*, необходимый для синтеза белка (см. *трансляция*); другой — *пептидил-трансферазный центр*.

Делеционная мутация. Мутация, вызванная потерей одного или более нуклеотидных остатков в ДНК (РНК). Небольшие делеции, как правило, возникают во время *репликации* или *репарации ДНК* из-за проскальзывания вдоль *прайма* или *матрицы*, а длинные — при рекомбинации (см. *инсерционная мутация, замещающая мутация*).

Hans-Joachim Fritz

Деметилирование ДНК. См. *ДНК деметилирование*.

Денатурация. Разделение двуцепочечных *олигонуклеотидов* на отдельные цепи при нагревании или под действием денатурирующих агентов, таких как мочевины или формамид.

Депротекция. После *синтеза олигонуклеотида* полностью защищенный олигонуклеотид прикреплен к твердой подложке. Затем он должен быть освобожден оттуда, а *защитные группы* сняты. Высвобождение и депротекция ДНК происходит в щелочных условиях, для РНК требуется дополнительно удалить ортогональные 2'-О-защитных группы (см. *TBDMS-метод, ТОМ-метод, АСЕ-метод*).

Ronald Micura

Депуринизация. Реакция, при которой молекула ДНК или РНК теряет остаток *пурина* при гидролизе *гликозидной связи*. В результате Д. формируется *сайт, лишенный основания*.

Hans-Joachim Fritz

Дерева выравнивание. См. *РНК, выравнивание и сравнение структуры*.

Дерева редактирование. См. *РНК, выравнивание и сравнение структуры*.

Дефосфорилирование. Удаление фосфатной группы путем гидролиза. Хорошо известный фермент, который осуществляет катализ Д., — *щелочная фосфатаза*.

Диализ. Метод отделения крупных молекул (например, нуклеиновых кислот и белков) от ионов и других небольших молекул. Разделяемый раствор помещают за полупроницаемую мембрану (например, целлюлозную) с порами определенного диаметра. Этот так называемый диализный мешок помещают в контейнер, заполненный чистой водой или другим растворителем. Небольшие молекулы, способные проникать через поры мембраны, диффундируют в область низкой концентрации снаружи от мембраны, в то время как более крупные молекулы удерживаются внутри. Такую методику обычно используют для обессоливания нуклеиновых кислот и белков.

Valeska Dombos

Дигидроуридиловая петля. Одна из петель в молекуле *транспортной РНК* в конформации клеверного листа (см. «*клеверный лист*», *структура*), несущая *редкий нуклеозид дигидроуридин* в положениях 16 и 17. Представляет собой важную область для формирования нативной конформации тРНК, так как расположенные рядом в петле положения G19 и G20 скрепляют

L-образную трехмерную структуру при спаривании с нуклеотидами C54 и Ψ55, расположенными в *риботимидиловой петле* ТΨС.

Stefan Vörtler

Дигидроуридин. Производное уридина с насыщенной связью C5–C6. Минорное *модифицированное основание*, встречается в *mРНК* (где является характерным консервативным остатком; см. *дигидроуридилиновая петля*) и *pРНК*. Поскольку в пиримидиновом кольце Д. нет ни одной двойной связи, оно имеет неплоскую конформацию, из-за чего нарушает стэкинг (см. *оснований стэкинг*) и тем самым снижает стабильность структуры РНК (см. *РНК структура*).

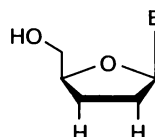
2',3'-Дидезоксиаденозин-5'-трифосфат. См. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты*.

Дидезокси-метод. См. *ДНК секвенирование, секвенирование по Сенгеру*.

2',3'-Дидезоксинуклеозидтрифосфаты. Не имеют гидроксильной группы при 3'-атоме углерода в рибозном фрагменте. Эта гидроксильная группа важна для образования *фосфодиэфирной связи* с последующим нуклеотидом. Если Д. использованы в реакции удлинения праймера (см. *праймера удлинение*), включение их с помощью *полимеразы* в растущую цепь приводит к ее обрыву. Д. используют в определении нуклеотидных последовательностей (см. *секвенирование по Сенгеру*). Они могут быть связаны с флуорофорами (окрашенные терминаторы), что дает возможность автоматизированного прочтения электрофореграмм при секвенировании.

Susanne Brakmann

2',3'-Дидезоксинуклеозиды. Нуклеозиды, лишенные 2'- и 3'-гидроксильных групп.



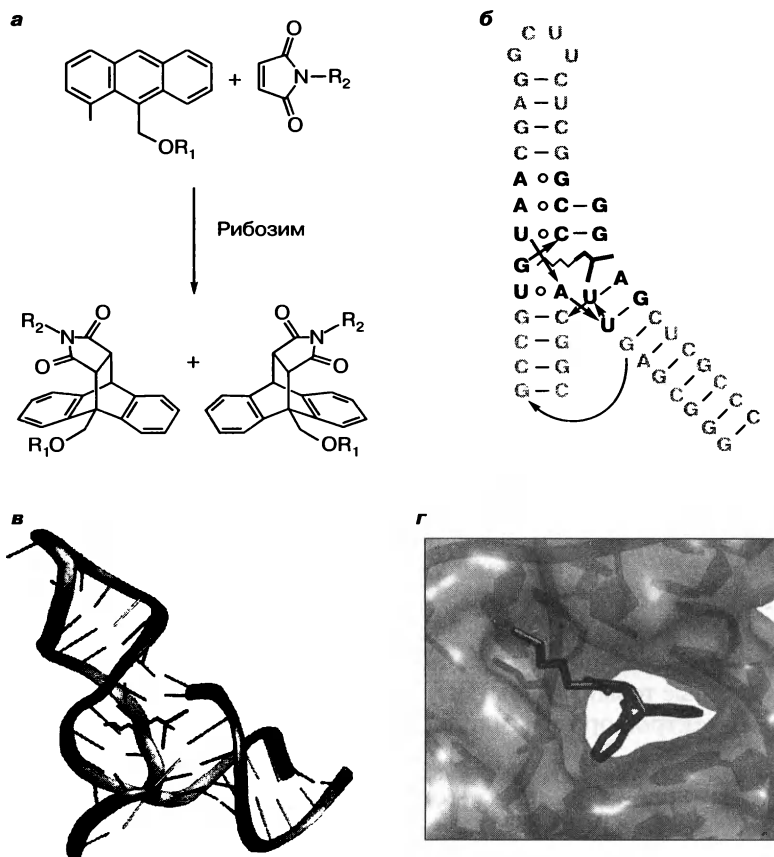
В = Аденин (А)
Цитозин (С)
Гуанин (G)
Тимин (Т)
Урацил (U)

2',3'-Дидезоксирибонуклеозид. См. *2',3'-дидезоксинуклеозид*.

2',3'-Дидезоксирибонуклеозид-5'-трифосфат. См. *дидезоксинуклеозидтрифосфат*.

2',3'-Дидезоксицитидин-5'-трифосфат. См. *дидезоксинуклеозидтрифосфаты*.

Дильса—Альдера рибозим. *Искусственный рибозим*, созданный путем *отбора in vitro* и катализирующий образование связей C–C в реакции Дильса—Альдера — реакции [4+2]-циклоприсоединения, одной из главных реакций в органическом синтезе. Известны два типа Д.—А. р. (а) Рибозимы, которые катализируют однооборотную реакцию алифатического диена, производного бутадиена, с имидом малеиновой кислоты. Эти рибозимы содержат пиридильные фрагменты в «боковых цепях» азотистых оснований и нуждаются в ионах Cu^{2+} для нормальной активности. (б) Неизмененные молекулы РНК, которые катализируют многооборотные реакции антраценовых диенов с диенофилами (производными малеимида, рис. а). Эти рибозимы демонстрируют кинетику *Михаэлиса—Ментен* с эффектом насыще-



ния и высокую стереоселективность. Синтетические зеркально-изомерные рибозимы (см. *шпигельмер*), состоящие из искусственной L-РНК, обладают аналогичной каталитической активностью, но противоположной стереоселективностью. Такие Д.—А. р. стали первыми искусственными рибозимами, трехмерная структура которых была изучена методом рентгеноструктурного анализа (рис. б). РНК имеет λ -образную структуру *вложенного двойного псевдоузла*, у которого есть клиновидный гидрофобный «карман», точно соответствующий конформации *переходного состояния* в катализируемой реакции (рис. в и г).

Особенности укладки (фолдинга) молекулы РНК и связывания продукта реакции зависят в значительной степени от стэкинга и наличия водородных связей, в то время как стереоселективность определяется формой *кармана связывания*, где происходит каталитическая стадия. Успешное осуществление *катализа* зависит от близости расположения, комплементарности и взаимных электронных эффектов рибозина и его субстрата. Впечатляющие структурные параллели наблюдаются между независимо возникшими структурами *карманов связывания* в реакциях Дильса—Альдера, катализируемых рибозимами и антителами. Это обстоятельство убеждает нас в том, что молекула РНК, хотя и обладает меньшим арсеналом *функциональных групп*, чем

белки, независимо выработала сходные стратегии формирования карманов для протекания реакций образования связи С—С, причем каталитическая эффективность и энантиоселективность также сопоставимы. Структура вложенного двойного псевдоузла также обнаружена у *рибозима вируса гепатита дельта*.

Andres Jäschke

Диметокситритильная группа. Защитная группа для 5'-гидроксильной группы в нуклеотидах в реакциях синтеза олигонуклеотидов (см. *олигонуклеотидов синтез*).

Динуклеотид. Пара *мононуклеотидов*, связанных *фосфодиэфирной* связью. К биологически важным Д. относятся *АДФ*, *НАД/НАДФ*, *ФАД* и *СрG*.

Bettina Appel

Дискриминаторное основание. Основание на 3'-конце молекул *транспортной РНК* (тРНК), критически значимое для специфичности аминоацилирования. Локализовано в положении 73 непосредственно перед *ССА-«хвостом»* и является важным для узнавания ферментом *аминоацил-тРНК-синтетазой* и правильного соединения аминокислоты с соответствующей тРНК. Замена Д. о. на другое основание в условиях *in vitro* приводит к изменению акцепторных характеристик (специфичности, скорости реакции переноса и т. д.).

Jörn Wolf

Диссоциация. Разделение молекулы или сложной структуры на две и более составных частей. Для обратимых реакций можно записать *константу диссоциации* K_d , которая представляет собой отношение количеств диссоциированного и недиссоциированного соединений. Равновесие между протонированной и непротонированной формами кислот в растворе описывают константой диссоциации K_a , которую обычно выражают в форме отрицательного логарифма (pK_a) (см. *кислотность нуклеозидов и нуклеотидов*). Кроме того, к процессам Д. относится плавление ДНК и РНК (разделение двойной спирали на две цепи). Константа диссоциации — важная характеристика для описания сродства *лиганда* к рецептору (например, в случае взаимодействия лиганда с нуклеиновой кислотой).

Bettina Appel

Дифракция на волокнах ДНК. Структуру биологических *макромолекул* определяют с помощью методов рентгеновской и нейтронной дифракции (см. *рентгеноструктурный анализ нуклеиновых кислот*). ДНК образует волокна, в которых оси молекул расположены параллельно друг другу. *Уотсон-криковская модель двойной спирали* ДНК была открыта в 1952 г. на основании данных, полученных методом рентгеновской дифракции на волокнах ДНК.

Bettina Appel

Длинный концевой повтор. Последовательность ДНК, повторенная в прямой ориентации на обоих концах *генома* провируса или интегрируемого *ретротраспозона*.

дНДФ. Дезоксинуклеозиддифосфат.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота). Биополимер, состоящий из 2'-дезоксирибонуклеотидов (см. *нуклеиновая кислота*). ДНК несет генетическую информацию у многих вирусов, бактерий и всех высших организмов (см. *генетический код*). ДНК может существовать в одно- или двухцепочечной форме, причем 2'-дезоксирибонуклеотиды связаны 3',5'-фосфодиэфирными связями. В двухцепочечной ДНК две комплементарные цепи закручены друг вокруг друга в противоположных направлениях последовательности (см. *антипараллельная ориентация*) с образованием левозакрученной или правозакрученной спирали (см. *ДНК структура, Уотсона—Крика модель*). Две цепи удерживаются вместе путем специфичного образования водородных связей между азотистыми основаниями (см. *уотсон-криковская пара оснований*), а также *стэкинговых взаимодействий*. В разных организмах относительное содержание различных оснований варьирует. Однако количество А всегда равно количеству Т, а количество С — количеству G (см. *GC-состав, Чаргаффа правило*). Одноцепочечная ДНК, как и двухцепочечная, может существовать в виде кольцевых молекул (например, у бактерий и в митохондриях). Эти кольца могут быть скручены с образованием *сверхспиралей*.

Прокариотическая ДНК связана с мембраной либо имеет вид *плазмид* или *эписом*. Около 95% эукариотической ДНК содержится в ядре и связано со специфическими белками (см. *хроматин, гистон, ДНК—белок взаимодействие, ДНК-связывающие белки*). Митохондрии и пластиды также содержат ДНК; *митохондриальная ДНК* составляет 1–2% всей ДНК клетки, а *хлоропластная ДНК* — около 5%. Перенос *генетической информации* из родительской клетки в дочернюю происходит в результате репликации (см. *ДНК репликация*).

Sabine Müller

ДНК (РНК, нуклеиновые кислоты), вычисления. Использование ДНК для решения определенных типов математических (в широком смысле) задач или для описания экспериментов, в которых смесь фрагментов ДНК проявляет запрограммированное поведение. Изначально имелась в виду неавтономная процедура, в ходе которой (а) синтезируют большое количество ДНК-цепей, которые кодируют возможные ответы (решения) на вопросы из области комбинаторики; (б) проводят контролируемый биохимический эксперимент со всей массой фрагментов одновременно, чтобы или выбрать фрагменты, соответствующие истинным решениям, или удалить все неистинные решения; (в) выбранные или оставшиеся фрагменты прочитывают с помощью определенных биохимических методов и интерпретируют как решение задачи. Этот подход носит название расчетной парадигмы Адлемана (в честь Леонарда Адлемана, впервые предложившего его) или высокопараллельных ДНК-расчетов. Примеры автономных расчетов с использованием ДНК включают *алгоритмическую самоорганизацию, автомат Шапиро—Бененсона—Ротемунда* и различные молекулярные вычислительные схемы на основе ДНК.

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

ДНК «дыхание». *Двойная спираль* ДНК даже в физиологических условиях способна к спонтанной обратимой денатурации. Случайно возникающие одноцепочечные области, называемые *ДНК-пузырьками*, распознаются и связываются *ДНК-связывающими белками* (например, *полимеразой*). Интенсивность «дыхания» зависит от прочности связей между основаниями, образующими пары. См. *оснований пара*.

Bettina Appel

ДНК «штрих-кодирование». См. *митохондриальная ДНК*.

ДНК алкилирование. Присоединение алкильных групп к молекуле ДНК (преимущественно к *азотистым* основаниям). См. *ДНК-алкилирующие агенты*.

ДНК биосинтез. См. *ДНК репликация*.

ДНК блот-анализ. См. *блот-анализ*, *Саузерн-блот*.

ДНК деметилирование. Активное деметилирование, где основным участником — белок ТЕТ, окисляющий 5-метилцитозин до 5-гидроксиметилцитозина (распространенный вариант поврежденного основания, который подвергается *эксцизионной репарации оснований*).

Bettina Appel

ДНК дуплекс. См. *двуцепочечная ДНК*, *дуплекс*.

ДНК изгиб. См. *изгибание ДНК*.

ДНК конформация. ДНК — динамическая молекула, существующая в виде различных *конформаций* (основные семейства — *A-, B- и Z-ДНК*). На равновесие между конформациями влияют нуклеотидная последовательность ДНК, ионная сила раствора, окружающая среда, а также присутствие белков (например, *гистонов* или других *ДНК-связывающих белков*) и степень топологического напряжения, испытываемого молекулой ДНК.

Sabine Müller

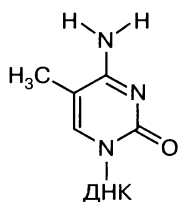
ДНК кривизна. См. *изгибание ДНК*.

ДНК кристаллизация. См. *кристаллизация нуклеиновых кислот*.

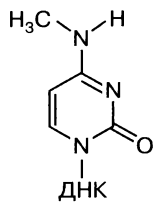
ДНК лигирование. См. *лигирование*.

ДНК машины. См. *молекулярные автоматы*, *автоматы на основе дезоксирибозима*, *автомат Шапиро—Бененсона—Ротемунда*, *ДНК нано-архитектура*.

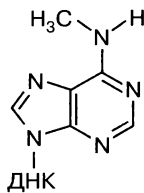
ДНК метилирование. Наряду с *цитозином*, *аденином*, *гуанином* и *тимин*ом у большинства организмов ДНК содержит метилированные *азотистые основания* — *C5-метилцитозин*, *N4-метилцитозин* и *N6-метиладенин*. Метильная группа присоединяется либо к *C5* цитозина, либо к *экзоциклическим* аминогруппам цитозина и аденина. В молекуле ДНК все три метили-



C5-метилцитозин



N4-метилцитозин



N6-метиладенин

рованных основания способны к образованию правильных уотсон-криковских пар с остатками гуанина или тимина.

Метильные группы вводятся в молекулу после *репликации* ферментами *ДНК-метилтрансферазами*. Эти ферменты катализируют перенос метильной группы с повсеместно присутствующего кофактора S-аденозил-L-метионина (AdoMet, см. *ДНК-метилтрансферазы*) на *последовательности узнавания* ДНК, размер которых варьирует от 2 до 8 п. н. Большинство ДНК-метилтрансфераз распознает *палиндромные последовательности*, содержащие два целевых азотистых основания, и метилируют их оба в обеих цепях, в результате чего формируется полностью метилированная ДНК. После *полуконсервативной репликации* метилирование вновь синтезированной цепи отсутствует, что приводит к образованию *полуметилированной ДНК*, которая после второго раунда репликации превращается в одну двойную цепь неметилированной и одну двойную цепь полуметилированной ДНК. Таким образом, Д. м. может быть утрачено за несколько раундов репликации (пассивное *деметилирование*). В зависимости от наличия или отсутствия в клетке *ДНК-метилтрансфераз* и времени после репликации определенная последовательность ДНК может оказаться полностью метилированной, полуметилированной или неметилированной. Это приводит к повышению информационного содержания ДНК, а метилированные основания могут быть интерпретированы как пятая, шестая и седьмая буквы генетического алфавита.

Биологические функции Д. м. чрезвычайно разнообразны. У прокариот в геноме присутствуют все три типа метилированных азотистых оснований, а Д. м. играет важную роль в различении собственной и чужеродной ДНК, определении направления корректировки при *репарации неспаренных оснований* и контроле клеточного цикла. Большинство ДНК-метилтрансфераз является частью *системы рестрикции-модификации*, состоящей из ДНК-



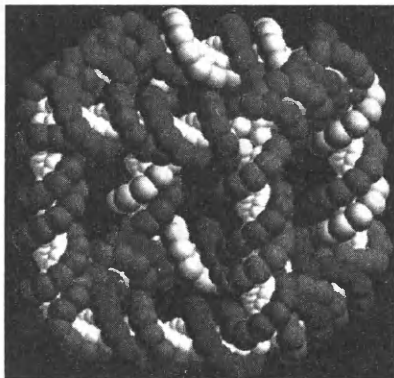
метилтрансферазы и соответствующей ей *эндонуклеазы рестрикции*. Оба фермента имеют одинаковый сайт узнавания в последовательности ДНК, и Д. м. защищает хозяйскую ДНК от расщепления эндогенными эндонуклеазами рестрикциями. Внедряющаяся ДНК бактериофага не метилирована по сайтам узнавания, поэтому происходит ее расщепление эндонуклеазами. Систему рестрикции-модификации расценивают как примитивную иммунную систему. Роль метилирования ДНК в репарации неспаренных оснований и контроле клеточного цикла наиболее полно изучена у *Escherichia coli*. У этой бактерии есть аденин-ДНК-метилтрансфераза *Dam*, которая не входит в систему рестрикции-модификации и способна метилировать два остатка аденина в палиндромной последовательности GATC. В течение нескольких секунд между окончанием репликации и *Dam*-метилированием ДНК остается в полуметилированном состоянии, в котором материнская цепь помечена метильными группами, а дочерная — нет. Это дает возможность ферментам системы репарации неспаренных оснований скорректировать ошибки репликации в пользу материнской цепи. Кроме того, репликация *хромосомы* иницируется *Dam*-метилированием. *Ориджин репликации* в полуметилированном состоянии остается неактивным, а его превращение в полностью метилированную активную форму за счет активности *Dam* задерживается примерно на 20 минут посредством конкурентного связывания ДНК с белком SeqA.

У высших эукариот Д. м. в значительной степени вовлечено в регуляцию экспрессии генов (см. *гена экспрессия*). ДНК млекопитающих кроме четырех основных азотистых оснований содержит только C5-метилцитозин в последовательности CG (см. *CpG-островки*). Однако не все CG-последовательности метилированы; особенности метилирования закономерны и наследуемы. Это возможно потому, что ДНК-метилтрансфераза *Dnmt1* обладает предпочтением к полуметилированным сайтам по сравнению с неметилированными. После репликации полуметилированные GC-последовательности становятся полностью метилированными, а неметилированные не изменяются. В целом метилирование CG-островков в области *промоторов* ведет к уменьшению уровня экспрессии гена за счет предотвращения связывания *транскрипционных факторов*. В этом процессе задействованы C5-метилцитозинсвязывающие белки, которые играют роль *репрессоров* или индуцируют конденсацию хроматина посредством деацетилирования гистонов (см. *гистонов деацетилирование*). *Сайленсинг* генов путем Д. м. играет важную роль в дифференцировке клеток, *геномном импринтинге* и инактивации *X-хромосомы*. Помимо этого, изменения в характере метилирования ДНК часто наблюдаются в опухолевых клетках.

Elmar Weinhold

ДНК мечение. См. *олигонуклеотидов мечение*.

ДНК наноконструкции. Конструкции, образующиеся при самоорганизации *разветвленных ДНК*. Их компонентами могут быть простые разветвленные элементы или более сложные структурные мотивы. Были получены простые разветвленные *стыковки* (сочленения) ДНК, содержащие 3–12 двойных спиралей, примыкающих к точке ветвления. Фрагменты могут быть организованы и/или лигированы в ДНК-многогранники, ребра кото-

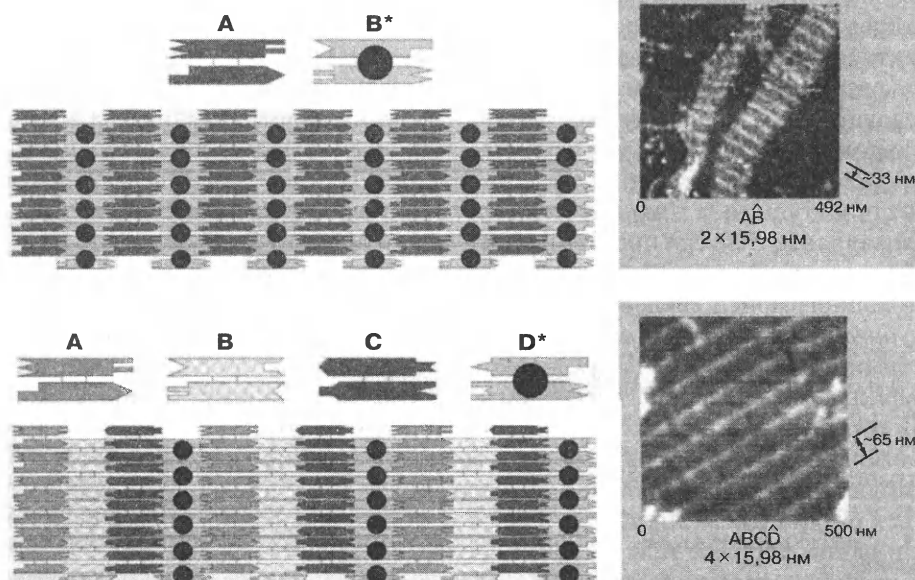


См. рис. III на цветной вклейке

рых образованы двойными спиралями, а вершины — *точками ветвления*. Первой подобной молекулой была ДНК, образующая куб. Уже получены также тетраэдр, октаэдр и усеченный октаэдр. Разветвленные стыковки не жесткие, поэтому топология многогранника стабильна только в том случае, если все грани имеют вид треугольников или многогранник стабилизирован дополнительными связями. К другим объектам, построенным описанным способом, относятся топологические фигуры, например узлы или кольца Борромео. ДНК представляет собой идеальный объект, который можно использовать как структурный блок, поскольку полувиток ДНК эквивалентен пересечению — основному топологическому элементу узла или катенана.

Структура двойного кроссинговера (пересечения, DX) — еще один ключевой элемент Д. Этот мотив состоит из двух спиралей, дважды соединенных цепями, которые удерживают оси спиралей параллельно друг другу. Точки соединения обычно разделены одним или двумя *спиральными витками*. Каждая из точек ветвления представляет собой *четырёхстороннее соединение*, они связаны друг с другом дважды по смежным плечам. Это жесткие мотивы, состоящие в длину из 3—6 витков двойной спирали, и их структура надежно предсказуема. Описанная система может быть расширена до трех и более спиралей, соединенных латерально. Хотя чаще всего формируются структуры, расположенные более или менее в одной плоскости, углы между парами спиралей могут различаться в силу спиральности самой ДНК. Например, описан циклический мотив из шести спиралей, имеющий структуру шестигранной трубки (см. *ДНК-нанотрубки*). Молекулы DX и родственные им могут быть использованы как «плитки» для построения двумерной кристаллической структуры (см. рис. на с. 117) путем самоорганизации (см. *ДНК самоорганизация*). В эти «плитки» может быть включен дополнительный мотив, различимый при изучении кристалла методом атомно-силовой микроскопии. На рисунке показано, как две «плитки» размером 16×4 нм образуют полосу шириной 32 нм (*вверху*), а четыре складываются в полосу шириной 64 нм (*внизу*). Помимо упорядоченной укладки, возможно и направленное получение неупорядоченных структур.

Для получения значительно более протяженных вариантов параллельного мотива ДНК, способных к образованию высокоупорядоченных структур (*ДНК-оригами*), могут быть использованы одноцепочечные бактериофаги. Эффект достигается за счет использования *генома* бактериофага (несколько



Двумерная решетка из ДНК

тысяч нуклеотидов) в качестве *матрицы*, к которой присоединяют многочисленные «цепи-скрепки», придающие геному специфическую форму, вплоть до запланированных отверстий в середине. Добавление цепей, несущих дополнительные домены, дает возможность дальнейшего преобразования. Этим методом были получены, например, «смайлики» и карта западного полушария.

Nadrian C. Seeman

ДНК нанообъекты. Дискретные структурные или топологические объекты, образующиеся в результате самоорганизации ДНК (см. *ДНК самоорганизация*, *ДНК наноконструкции*).

ДНК остов. См. *сахарофосфатный остов*.

ДНК перестановка. См. *перестановка*, *генов перестановка*, *экзонов перестановка*, *интронов перестановка*.

ДНК повреждение. См. *ДНК репарация*.

ДНК повреждение. Участок молекулы ДНК, содержащий поврежденный нуклеозид (см. *оснований эксцизионная репарация*).

ДНК последовательность. См. *нуклеотидов последовательность*.

ДНК, последовательности анализ. Определение последовательности мономеров (оснований), образующих молекулу ДНК. Методика анализа последовательности была впервые разработана в 1977 г. Известны два подхода: (а) *секвенирование по Сенгеру* на основе ферментативного синтеза ДНК на *матрице* (одноцепочечной ДНК) с терминацией роста цепи путем внедрения

дидезоксинуклеотидов; (б) *секвенирование по Максаму—Гилберту*, включающее химическую деградацию фрагментов ДНК. Оба метода основаны на электрофоретическом разделении смеси меченых фрагментов ДНК с высоким разрешением в полиакриламидном геле и последующем прочтении последовательности по ряду расположенных наподобие лестницы фрагментов. Секвенирование по Сенгеру технически проще и быстрее и поэтому именно этот метод применяется при секвенировании ДНК в большинстве практических приложений, в том числе и для секвенирования *de novo*. В первоначальном варианте Сенгера прочтение последовательности было основано на случайном встраивании радиоактивно меченных нуклеотидов с последующей автордиографией секвенирующего геля. С развитием высокоэффективных *флуоресцентных красителей*, молекулы которых связаны с *праймером* или с терминирующими цепь *нуклеотидами*, длительная процедура автордиографии была вытеснена детектированием флуоресценции. Флуоресценция может быть проанализирована непосредственно в ходе *электрофореза* с использованием разнообразных систем детектирования, при этом возможно компьютерное распознавание сигнала. Более того, при использовании четырех различных меток для А, Т, Г и С можно анализировать все фрагменты в одной дорожке геля вместо использования четырех дорожек в автордиографии. Автоматические *ДНК-секвенаторы* на основе детектирования флуоресценции были впервые представлены в 1986 г., и с того времени они были значительно улучшены в плане простоты, скорости, точности и надежности, практически вытеснив работу ручную. Высокопараллелизованный автоматический анализ последовательностей также сделал возможными масштабные проекты по секвенированию, например определение последовательности генома человека (около $3 \cdot 10^9$ п. н.; см. *проект «Геном человека»*) и геномов различных вирусов, бактерий, архей, эукариот (млекопитающих, растений и др.).

Анализ последовательности ДНК может быть также осуществлен с использованием методов, не требующих проведения амплификации и электрофореза ДНК — процедур, без которых не обходится секвенирование по Сенгеру. К таким методикам относится, например, гибридизационный анализ олигонуклеотидов с использованием микрочипов (см. *ДНК-чип*). Все возможные 10–25-нуклеотидные варианты интересующей области ДНК представлены на матрице *олигонуклеотидов*. Флуоресцентно меченная ДНК-мишень связывается с матрицей; при этом возникает флуоресцентный сигнал, что оценивается как сходство с исходной последовательностью ДНК. *ДНК-микрочипы* с успехом используют для скрининга вновь возникающих или уже известных *мутаций* (полиморфизмов) в специфических *генах* отдельных особей или в популяциях.

Пиросеквенирование позволяет количественно оценить содержание *пирозинуклеотида*, который образуется при копировании ДНК *полимеразой*. Этот метод существенно ускоряет анализ последовательности (одно основание в минуту, возможность параллельного анализа 96 образцов), но пригоден для работы только с относительно короткими фрагментами ДНК (до 200 оснований). В качестве альтернативы последовательность коротких фрагментов устанавливают с помощью *масс-спектрометрии*.

Дальнейшее усовершенствование анализа последовательностей может быть достигнуто в ходе разработки методов определения последовательности одиночных молекул ДНК. Этот подход требует наличия ДНК, которая в каждом положении мечена специфичной для каждого основания *флуоресцентной меткой*, и связан с деградацией *экзонуклеазой* полностью меченой молекулы. Технология GridION секвенирования единственной молекулы от «Oxford Nanopore» хоть и не выпущена пока в коммерческий доступ, но уже используется в собственных проектах компании.

Susanne Brakmann

ДНК профилирование. См. *ДНК-дактилоскопия*.

ДНК пузырьки. В ходе *транскрипции* ДНК *двойная спираль* расплетается под действием ферментов (см. *ДНК-хеликаза*, *ДНК-топоизомераза*). В результате возникает локальный одноцепочечный участок, называемый транскрипционным пузырьком ДНК. В ходе репликации при работе *полимераз* также образуются одноцепочечные участки, называемые репликационными пузырьками. Пузырьки размером 20–30 п. н. также образуются при «дыхании» ДНК (см. *ДНК «дыхание»*) и носят название *дыхательных пузырьков*.

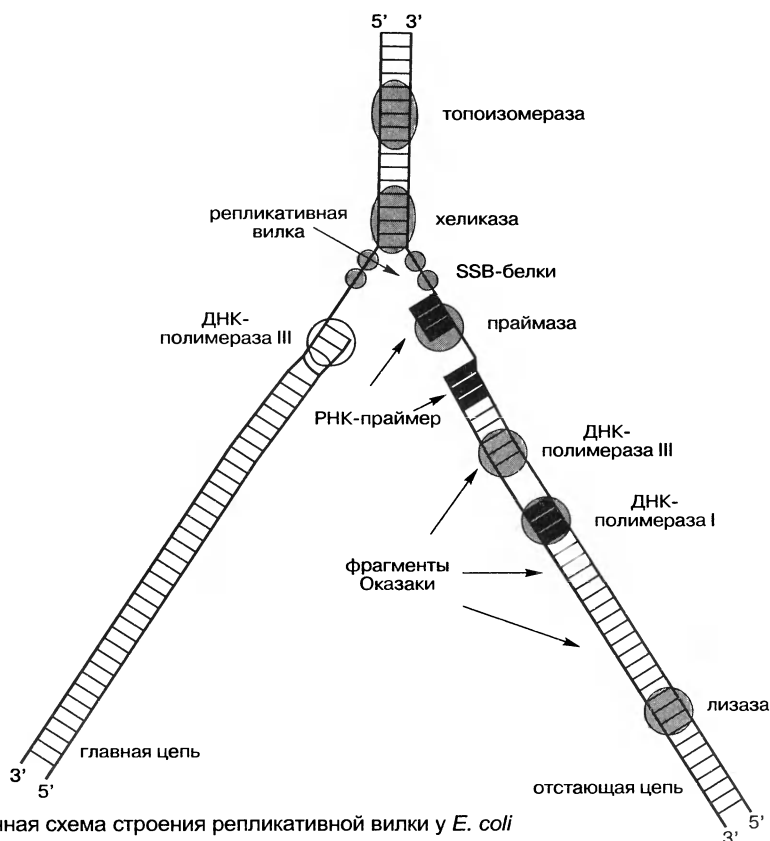
Bettina Appel

ДНК репарация. Любой ферментативный процесс, который уменьшает частоту *мутаций* путем восстановления исходной последовательности ДНК из структуры, содержащей как минимум один неверно кодирующий или не кодирующий (в качестве *матрицы* при *репликации*) элемент. Можно выделить три типа Д. р. (а) Прямое исправление нарушения, например фотореактивация *цис-син-димеров тимина* и деметилирование остатков Об-метилгуанина и N1-метиладенина за счет Ada и AlkB соответственно. (б) Механизмы, при которых дефектная структура удаляется нуклеазами из одной цепи ДНК, затем часть измененной цепи повторно синтезируется репарационной *ДНК-полимеразой* по второй (комплементарной) цепи. (в) Механизмы, известные как рекомбинационная репарация; в этом случае верная последовательность восстанавливается за счет сторонней или (в ходе репликации) сестринской молекулы ДНК. Механизм рекомбинационной репарации в норме (хотя и необязательно) включает в себя образование ДНК-интермедиатов с двунитевыми разрывами. Механизмы типа (б) можно классифицировать в соответствии с длиной фрагмента, обрабатываемого ДНК-полимеразой, или же с механизмом удаления аномальной структуры нуклеазами. В соответствии с первым критерием выделяют механизм репарации на коротком расстоянии (ресинтез на интервале от одного до нескольких десятков нуклеотидов) и на длинном расстоянии (длина фрагмента до нескольких тысяч нуклеотидов). Что касается механизма удаления поврежденного участка, то существуют как минимум четыре различных их типа. (а) Инцизионная репарация, при которой поврежденная цепь ДНК напрямую разрезается эндонуклеолитически непосредственно по поврежденному нуклеотиду (с 5'-стороны от него). (б) Эксцизионная репарация оснований (см. *оснований эксцизионная репарация*) с гидролитическим удалением поврежденного основания *ДНК-гликозилазой* на первом этапе. (в) Эксцизи-

онная репарация нуклеотидов (более точно было бы назвать ее «эксцизионной репарацией олигонуклеотидов»), при которой в одну и ту же цепь ДНК вносятся два эндонуклеолитических разреза *выше* и *ниже* поврежденного сайта. В результате этого происходит удаление *олигонуклеотида*, содержащего поврежденную структуру. Примером эксцизионной репарации нуклеотидов может служить удаление тиминовых димеров из УФ-облученной ДНК репарационной системой UvrABC у *E. coli*. (з) *Репарация неспаренных оснований*, в ходе которой разрезание цепи ДНК может происходить в сотнях нуклеотидов от места повреждения.

Hans-Joachim Fritz

ДНК репликация. Создание копии *матрицы* ДНК. Так как *двойная спираль ДНК* состоит из двух *комплементарных цепей*, построение копии каждой из них и образование двойных спиралей с матричными цепями ведет к формированию двух новых двойных спиралей ДНК, идентичных исходной. Репликация происходит на *реплисоме*, которая содержит все необходимые для этого белковые комплексы. Чтобы сделать репликацию возможной, сверхспирализация должна быть релаксирована *ДНК-топоизомеразой*. Репликация начинается с *ориджина*, специфической последовательности нуклеотидов. Бактериальной *хромосома* (например, у *Escherichia coli*) име-



Упрощенная схема строения репликативной вилки у *E. coli*

ет кольцевую структуру и несет единственный ориджин (*oriC*). *Двунаправленная репликация* осуществляется путем образования двух *репликативных вилок* и завершается, когда вилки сходятся. Хромосомы эукариот обладают многочисленными ориджинами по всей длине ДНК. Ориджины распознаются специальным белковым комплексом узнавания ориджина (ORC).

Вначале *хеликаза* расплетает две цепи двойной спирали ДНК путем разрыва *водородных связей* и открывает репликативную вилку. В результате образуются одиночные цепи ДНК, которые для предотвращения реассоциации стабилизируются специальными белками. Так как *ДНК-полимеразы* неспособны самостоятельно начать синтез (могут только удлинять полимерную цепь нуклеиновой кислоты), требуется активность *праймазы*. Она иницируется и осуществляет синтез коротких *РНК-праймеров* на главной и отстающей цепях. Затем происходит элонгация репликативной ДНК-полимеразой (например, комплексом ДНК-полимеразы III у *E. coli*). Поскольку ДНК-полимеразы осуществляют элонгацию только от 5'-к 3'-концу, синтез ДНК идет по полунепрерывному механизму: непрерывно по *главной цепи* и прерывисто, небольшими фрагментами (см. *фрагменты Оказаки*) — по *отстающей цепи*. Когда синтез фрагментов Оказаки завершается, ДНК-полимераза I удаляет *праймеры*, отщепляя *рибонуклеотиды* за счет собственной 3'-5'-экзонуклеазной активности и замещая их *2'-дезоксирибонуклеотидами*. На заключительной стадии фрагменты ДНК соединяет *ДНК-лигаза*.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

ДНК самоорганизация. *Гибридизация* молекул ДНК с образованием целевой структуры. Внутримолекулярная самоорганизация ведет к возникновению определенных структурных доменов, например, таких, как разветвленное *соединение* или структура двойного кроссинговера (DX). Межмолекулярная самоорганизация достигается при введении в концевые части спиральных доменов одноцепочечных *выступов* (так называемых *липких концов*), особенно в случае создания разветвленных структур. Липкие концы комплементарны, взаимодействуют друг с другом предсказуемым образом в соответствии с *уотсон-криковскими правилами*, и образуют классическую *В-ДНК* структуру. Программируемость взаимодействий молекул ДНК путем варьирования последовательностей — основная причина использования этой технологии. К другим примерам Д. с. относятся сборка модифицированных металлических наночастиц, присоединение активных структур к ДНК-чипам и зависящая от последовательности работа наномеханизмов на основе ДНК (см. *ДНК-нанотехнология*). Фактически все операции в нанотехнологии с использованием ДНК и большинство процедур, где используют ДНК в вычислениях, основаны на самоорганизации ее молекул.

Nadrian C. Seeman

ДНК сверхструктура. Уровень организации структуры ДНК (см. *ДНК структуры*) более высокий, чем релаксированное линеаризованное состояние. Сверхструктуры типа отрицательных или положительных *сверхвитков* возникают в ДНК для большей ее компактизации, например при упа-

ковке в ядре. См. *сверхспираль, сверхвиток, ДНК наноархитектура, ДНК нанообъекты, ДНК нанотрубки, ДНК самоорганизация.*

Jörn Wolf

ДНК секвенирование. См. *ДНК, последовательности анализ.*

ДНК синтез. См. *олигонуклеотидов синтез, ДНК репликация, обратная транскрипция.*

ДНК структуры. См. *ДНК конформация.*

ДНК тимуса теленка. ДНК, выделенная из тимуса теленка и используемая как *ДНК-носитель* при этанольной *преципитации нуклеиновых кислот* или при *блоттинге* (см. *блот-анализ*) нуклеиновых кислот для понижения уровня фоновых сигналов *гибридизации*, вызванных неспецифическим связыванием меченого зонда с мембраной.

Stéphanie Vauléon

ДНК топология. Геометрия и ориентация молекул ДНК. Д. т. достаточно сложные и контролируются различными ферментами. Например, *топоизомеразы* разрывают цепи ДНК и воссоединяют концы.

Matthäus Janczyk

ДНК триплекс. См. *тройная спираль, H-ДНК, триплекс-образующие олигонуклеотиды.*

ДНКаза (дезоксирибонуклеаза). Фермент, расщепляющий ДНК. Д. может быть специфичным к одиночной или двойной цепям и обладать эндо- или экзонуклеазной активностью (см. *эндонуклеаза, экзонуклеаза*). К важным представителям Д. относятся ДНКаза I и *эндонуклеазы рестрикции*. ДНК-полимеразы также обладают 5'–3'- или 3'–5'-экзонуклеазной активностью.

Uli Hahn

ДНКазимы. См. *дезоксирибозимы.*

ДНК-алкилирующие агенты. Органические срединения, которые присоединяют алкильную группу к молекуле ДНК. Алкилирующие агенты — электрофильные соединения с высоким сродством к нуклеофильным положениям *оснований* ДНК. Они могут быть монофункциональными (с одной реакционноспособной группой) или полифункциональными (могут ковалентно присоединять более одной алкильной группы к различным положениям молекулы ДНК). Благодаря своей способности подавлять деление клеток, некоторые Д. а. используются в качестве противоопухолевых препаратов, если они активны при физиологических внутриклеточных условиях. Однако возможности их применения ограничены различными токсическими эффектами в нормальных тканях. Алкилирующие агенты могут взаимодействовать с основаниями ДНК по 12 различным положениям. Главные мишени монофункциональных Д. а. — N7 *гуанина* и N3 *аденина*. Алкилирование по этим положениям дестабилизирует N-гликозидную связь, что приводит к *депуринизации*. Сильные метилирующие агенты (например, ди-

метилсульфат или метилметансульфонат) вызывают немногочисленные *точечные мутации*, но проявляют выраженную кластогенность из-за участия N-алкилированных оснований в формировании хромосомных перестроек. Другие положения, часто подверженные алкилированию, — Об гуанина и О4 тимина. Они алкилируются, например, под действием N-алкилнитрозамина и N-алкилнитрозамида. В ходе *репликации* Об-метилгуанин может образовывать *пару оснований* с тимином, что приводит к *транзиции* — замене GC на AT. После репликации О4-метилтимин вызывает замену AT на GC. Оба типа модифицированных оснований обладают свойством кластогенности. К другим типам алкилирующих агентов относятся азотистый иприт и его производные (например, циклофосфамид), алкилсульфонаты и триазены. Повреждения ДНК (см. *ДНК повреждение*), вызванные алкилированием, исправляются ферментами репарации.

Bettina Appel

ДНК-белковое взаимодействие. Играет жизненно важную роль во множестве клеточных процессов: экспрессии генов (см. *гена экспрессия*), укладке ДНК, *рекомбинации* ДНК, *репликации* и репарации (см. *ДНК репарация*). Белки могут взаимодействовать с ДНК специфически либо неспецифически. В случае неспецифических взаимодействий последовательность *нуклеотидов* не имеет значения для связывающего взаимодействия. Пример — взаимодействие *гистонов* с ДНК, которое происходит между *функциональными группами* молекулы белка и *сахарофосфатным остовом* молекулы ДНК. Напротив, успешность специфического взаимодействия зависит от последовательности азотистых оснований ДНК и от их расположения, которое может изменяться в результате *кручения* или *сплетения*. Такие ДНК-белковые взаимодействия достаточно прочные и обеспечиваются образованием *водородных связей*, ионными, *ван-дер-ваальсовыми* и *гидрофобными взаимодействиями*. Большой желобок молекулы *В-ДНК* шире *малого желобка* и потому способен связываться со структурными мотивами большего размера. Порядок расположения *пар оснований*, составляющих поверхность желобков, оказывается более специфическим и избирательным именно для большого желобка. Поэтому большинство зависимых от последовательности взаимодействий ДНК с белками происходит именно в большом желобке. Известен целый ряд структурных мотивов, предназначенных для распознавания вторичной структуры белка (преимущественно α-спиралей) и связывания ее с молекулой ДНК. К широко распространенным мотивам, участвующим в Д. в., относятся «цинковые пальцы», лейциновые молнии, мотивы типа «*спираль—петля—спираль*» и другие менее изученные структуры. Охарактеризовать Д. в. позволяют такие методики, как анализ по степени связывания с фильтром, *бэнд-шифт*, гель-хроматография/седиментация, тест с защитой от нуклеаз, *футпринтинг*, *химическое интерференционное картирование*, *шивок образование*, *флуоресцентная микроскопия*, электронная микроскопия, *ядерного магнитного резонанса (ЯМР) спектроскопия* и рентгеновская кристаллография.

Tobias Restle

ДНК-библиотека. См. *последовательностей пул*.

ДНК-гираза. Для осуществления *репликации ДНК* бактериальная *топоизомераза* (гираза) II типа релаксирует *сверхвитки* и удаляет катенаны путем разрезания обеих цепей в *двойной спирали ДНК*. После того как вторая молекула ДНК минует разрыв, фермент зашивает его. Из всех топоизомераз II типа именно гираза способна создавать сверхвитки после *репликации*.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

ДНК-гликозилаза. Фермент, катализирующий гидролитическое расщепление *гликозидной связи*, посредством которой химически поврежденное *азотистое основание* соединяется с *остовом* молекулы ДНК. Осуществляемая этим ферментом реакция — первая стадия *эксцизионной репарации* (см. *оснований эксцизионная репарация*), которая восстанавливает неповрежденное состояние. Важным свойством Д. является селективность, которая позволяет им распознать свой субстрат (поврежденные нуклеотиды) среди огромного числа остальных нормальных компонентов молекулы ДНК. Для этого все изученные Д. используют особый механизм вытеснения поврежденного нуклеотида из стопки подобных ему в центре двойной спирали на периферию с последующим погружением основания в тщательно подогнанный карман на поверхности молекулы фермента (см. *оснований выворачивание*). Механизм повышения ферментативной активности наиболее хорошо изучен для урацил-ДНК-гликозилазы (UDG), в случае которой реализуется сочетание трех эффектов: (а) общий кислотно-основной катализ; (б) дестабилизация электронов гликозидной связи из-за ферментативного смещения поврежденного нуклеотида; (в) природа субстрата. Последний стабилизирует частичный положительный заряд на атоме С1, благодаря близкому соседству с отрицательно заряженными остатками *фосфомоноэфира* в остовах ДНК. Различные типы повреждений ДНК (см. *ДНК повреждение, оснований эксцизионная репарация*) имеют собственные механизмы, которые осуществляются специализированными Д., среди которых UDG, AlkA, OggI и EndoIII.

Hans-Joachim Fritz

ДНК-дактилоскопия. Анализ *генотипа* одного организма по нескольким полиморфным маркерам. Используется в криминалистическом анализе ДНК. Специфический набор *аллелей* каждого индивида позволяет с помощью статистических методов провести его идентификацию и опознание в популяции особей того же вида.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

ДНК-зависимая ДНК-полимераза. *ДНК-полимераза*, которая использует *двуцепочечную ДНК* или *одноцепочечную ДНК* в качестве *матрицы* при *репликации*.

ДНК-зонд. См. *нуклеиновая кислота-зонд*.

ДНК-копия (кДНК). Последовательность кДНК получают с матрицы *матричной РНК* (мРНК) в результате активности *РНК-зависимой ДНК-полимеразы* (например, *обратной транскриптазы*). Образующаяся по-

следовательность кДНК комплементарна *матрице* мРНК. Часто кДНК используется для изучения экспрессии генов (см. *генов экспрессия*), так как ДНК стабильнее, чем РНК, и поддается методам рекомбинантного клонирования. Одноцепочечная копия также может быть использована как зонд для идентификации комплементарных последовательностей во фрагментах ДНК или в целевых генах. Библиотека кДНК содержит набор всей экспрессирующейся ДНК клетки (см. *комплементарная ДНК*).

David Loakes

ДНК-лигаза. Фермент, который образует *фосфодиэфирные связи* в *двуцепочечной ДНК* между 5'-концом *олигонуклеотида* и 3'-концом другого фрагмента ДНК. Для функционирования ДНК-лигаз требуется *АТФ* (у эукариотических организмов и фагов) или *никотинамидадениндинуклеотид* (для бактериальных Д.). В зависимости от специфичности фермента происходит лигирование двух двуцепочечных фрагментов ДНК с *тупыми концами* или *липкими концами*. В условиях *in vivo* Д. принимают участие в *ДНК репарации* и *ДНК рекомбинации*. В молекулярной биологии Д. используют для создания рекомбинантных ДНК путем комбинирования фрагментов.

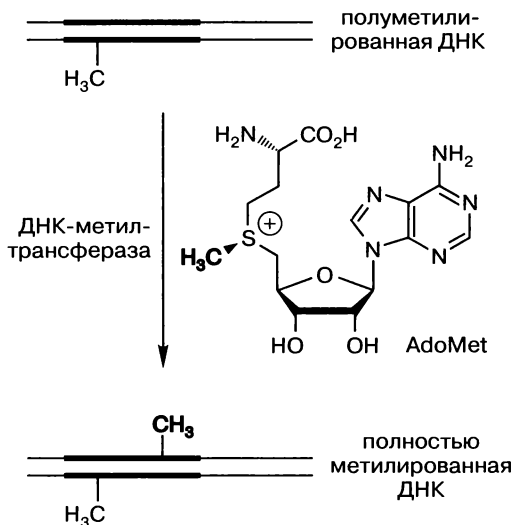
Irene Drude

ДНК-маркирующий сайт (STS). Короткий (обычно менее 1 т. п. н.) уникальный *фрагмент* ДНК.

ДНК-метилазы. См. *ДНК-метилтрансфераза*.

ДНК-метилтрансфераза. Катализирует нуклеофильную атаку остатков *цитозина* или *аденина* в специфических последовательностях *двуцепочечной ДНК* на активированную метильную группу кофактора S-аденозил-L-метионина (AdoMet), что приводит к образованию остатков C5-метилцитозина, N4-метилцитозина или N6-метиладенина в молекуле ДНК (см. *ДНК метилирование*). Большинство Д. распознают палиндромные последовательности ДНК (см. *палиндром*) длиной 2–8 п. н., которые содержат по одному целевому *азотистому основанию* в каждой цепи. Природным субстратом большинства Д. является *полуметилированная ДНК*, образующаяся после единичного раунда *репликации*. Большинство прокариотических Д. также модифицируют неметилированную ДНК, что приводит к формированию полу-, а затем и полностью метилированной ДНК.

По последовательности консервативного мотива и атому, подвергающемуся метилированию, Д. можно разделить на два класса. С-ДНК-метилтрансферазы катализируют метилирование C5 цитозина (см. *цитозин(C5)-ДНК-метилтрансфераза*), а N-ДНК-метилтрансферазы модифицируют экзоциклические аминогруппы цитозина или аденина (см. *аденин(N6)-ДНК-метилтрансфераза*). Прокариотические Д. состоят из двух доменов — большего (каталитического, который связывает кофактор AdoMet) и меньшего. Домены образуют положительно заряженную *щель*, в которой происходит связывание ДНК. Любопытно, что специфичное (по последовательности) связывание с ДНК приводит к значительным конформационным перестройкам в ней, в ходе которых *основание*-мишень выворачивается из *двойной спирали* (см. *оснований выворачивание*) и помещается около свя-



занного кофактора. Смещение оснований дает возможность Д. получить доступ к целевому азотистому основанию, которое в норме скрыто в стопке других оснований в молекуле ДНК.

Elmar Weinhold

ДНК-микроматрица (микроэррей). См. *ДНК-чип*.

ДНК-нанопровода. Одномерные структуры ДНК. Могут образовываться из *G-тетрадного мотива* или из кластера спиралей ДНК (например, трехспиральный мотив).

ДНК-нанотехнология. Область деятельности, направленная на получение объектов с наноразмерами из ДНК и других нуклеиновых кислот и родственных им соединений (РНК, *пептиднуклеиновая кислота* и т. д.) и использование этих новых систем для создания других структур. Основной причиной использования ДНК для этих целей является предсказуемость ее межмолекулярных взаимодействий путем образования *уотсон-криковских пар* (см. *ДНК самоорганизация*). Существует два подхода в нанотехнологии на основе ДНК. На основе одного подхода разработана композиционная Д., где ДНК используется в качестве «умного клея», при этом извлекаются преимущества из программируемой аффинности и не придают большого значения локальным структурным особенностям. По этой Д. могут производиться специфические ассоциаты, например путем «склеивания» наночастиц, поверхности которых содержат *комплементарные цепи* ДНК, или путем связывания их третьей цепью. При этом можно получать вполне упорядоченные структуры, однако по своему размеру они намного больше используемых молекул ДНК.

Второй подход — структурная Д. Здесь ДНК используется не только для осуществления межмолекулярных взаимодействий, но и для программирования структуры компонентов. Таким образом, ДНК играет роль не только

«строительного раствора» (как в предыдущем случае), но и самих «кирпичей». Этот метод делает возможным более точный структурный и топологический контроль, обычно приводя к формированию программируемых структур с точностью до нанометра. В своей наиболее совершенной форме структурная Д. способна образовывать устойчивые конструкции, внутримолекулярная структура которых программируется в их последовательности. Удобство ДНК для целей нанотехнологии состоит также в простоте автоматизированного синтеза (часто доступного на коммерческих условиях, см. *олигонуклеотидов синтез*), в существовании модифицирующих ферментов (также коммерчески доступных), жесткости самой молекулы ДНК (персистентная длина до 50 нм), устойчивости одиночных цепей ДНК к действию повышенных температур, а также в возможностях молекулярно-биологических методов. Кроме того, к числу несомненных достоинств относится то, что ДНК даже в виде дуплекса содержит доступный к прочтению код, для этой молекулы характерна высокая плотность расположения *функциональных групп*, потенциальная возможность самоудвоения и отбора, а также существование многочисленных производных. Методом структурной Д. были получены различные устойчивые наноструктуры, например узлы или катенаны-многогранники, а также периодические и аperiodические кристаллы ДНК (см. *ДНК-наноконструкции*).

Структурная Д. «изобрела» целый ряд различных механических нанорезионов на основе ДНК. В рабочем цикле этих устройств обычно имеется как минимум одна слабоструктурированная фаза на фоне хорошо структурированных. Было получено множество устройств, работа которых основана на изменениях внешних параметров — рН или присутствия эффекторной молекулы (например $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ активирует В–Z-переход в молекуле ДНК, превращая стандартную правозакрученную *В-ДНК* в левозакрученную *Z-ДНК*). Были также получены устройства, функционирование которых основано на образовании *G-тетрад* или присутствии определенного белка.

Такие устройства действительно работают, но они не используют главного преимущества ДНК — возможности программировать активный сайт через нуклеотидную последовательность. Таким образом, N устройств, программируемых через последовательность, с двумя альтернативными состояниями способны находиться в 2^N структурных состояниях. Был получен целый ряд программируемых по последовательности устройств, например «щипчики» (конструкции с изменяемой формой, один конец которых смещается относительно другого на полувиток), трансляционные машины и «двуногий» шагающий механизм. Активация этих систем может происходить путем добавления цепей ДНК к раствору или посредством реакции на присутствие синтезируемых в клетке РНК. Программируемое ДНК-устройство было встроено в кассету, предназначенную для размещения в определенном двумерном ДНК-ансамбле, что должно приводить к получению еще более сложных комбинаторных устройств.

Все эти механизмы требуют добавления фрагментов ДНК в систему. Однако в последние годы был достигнут прогресс в создании автономных ДНК-устройств, использующих активность *ДНКзимов* или иную фермента-

тивную способность как стимул к дополнительному движению без дополнительного вмешательства экспериментатора. С той же целью были разработаны нисходящие реакционные каскады.

Nadrian C. Seeman

ДНК-нанотрубки. Самоорганизующиеся одномерные структуры ДНК, содержащие центральные пустоты. Описано два типа Д. В одном случае молекулярные конструкции двойного кроссинговера (DX; см. *ДНК наноконструкции*) самоорганизуются с образованием искривленной поверхности, чему способствует наличие неустраимых изгибов в соединениях их липких концов. Второй тип Д. связан с сознательным конструированием трубок. Например, получен пучок из шести спиралей с углом 120° между последовательными DX-сегментами и шестиугольным поперечным сечением. Помещение комплементарных *липких концов* на обоих концах каждой спирали приводит к самоорганизации трубкообразных конструкций длиной до нескольких микрометров. Могут быть получены и иные типы Д.

Nadrian C. Seeman

ДНК-носитель. При *трансформации* (в случае дрожжей) или *трансфекции* большинства эукариотических клеток требуется избыточное количество *нуклеиновой кислоты* или ДНК-носителя. Д. используется как наполнитель при переносе целевой ДНК в ядро. В качестве Д. используют ДНК молоки сельди, *ДНК тимуса теленка*, геномную дрожжевую ДНК или *векторы* без вставки.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

ДНК-оригами. Наноструктуры ДНК, в составе которых длинная одноцепочечная молекула ДНК уложена так, что входит в состав всех *двойных спиралей*. Здесь имеется аналогия с японским искусством оригами, когда из единого неразрезанного листа бумаги путем его складывания создаются сложные трехмерные фигуры. Существуют два типа Д. Один из них, одноцепочечный метод Д., предполагает образование структур целиком из единственной одиночной цепи, взаимодействующей с самой собой. В методе Д. второго типа укладка формируется в результате взаимодействия длинной одноцепочечной молекулы ДНК и сотен коротких фрагментов ДНК (так называемых «скрепок»). Структуры, созданные одноцепочечным методом Д., имеют преимущество в том, что они могут быть клонированы и потенциально способны к экспоненциальному размножению, как живые системы. Описан почти целиком одноцепочечный октаэдр, содержащий всего пять «скрепок». Структуры, образуемые методом Д. со «скрепками», проще разрабатывать и синтезировать. Опубликованы описания синтеза шести двумерных форм, включая звезду, прямоугольник, треугольник и «смайлик», а также трехмерную шестигранную трубку. Такие структуры Д. легко совмещаются с другими нанообъектами (например, углеродными нанотрубками и белками) и могут быть использованы для организации их в сложные наносхемы и наномашин.

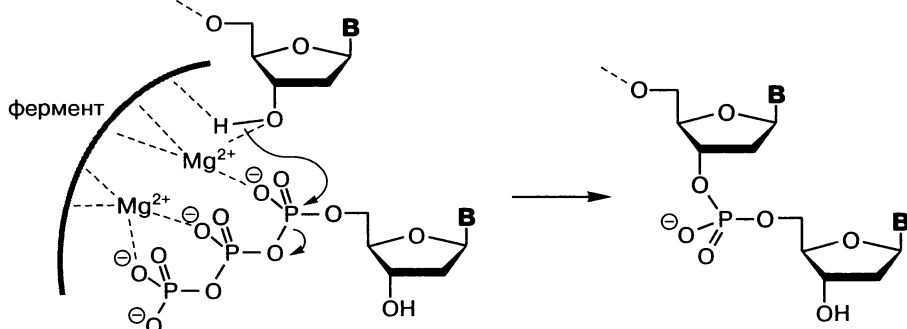
Paul Rothemund

ДНК-полимераза с низкой точностью. *ДНК-полимеразы*, которые предположительно участвуют в процессе *репликации*, характеризуются низкой частотой ошибок (около одной ошибки на миллион присоединенных *нуклеотидов*). В то же время определенные ферменты, способные преодолевать повреждения молекулы ДНК (вызванные, например, солнечным светом), обладают высокой частотой ошибок (до одной ошибки на 1–10 присоединенных нуклеотидов). Эти сравнительно недавно описанные ДНК-полимеразы с низкой точностью сочетают такие особенности, как высокая частота ошибок при копировании неповрежденной ДНК и способность преодолевать повреждения ДНК, которые блокируют нормальную работу ферментов репликации. Предполагается, что такие полимеразы участвуют в репарации (см. *ДНК репарация*) и формировании иммунного ответа.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

ДНК-полимераза. ДНК-нуклеотидилтрансфераза. Передача *генетической информации* с родительской молекулы ДНК потомству — принципиальное условие для существования всех живых организмов (за исключением некоторых вирусов). В природе этот процесс осуществляется при прохождении репликации, и для синтеза ДНК необходимы Д. Помимо этого, ферменты Д. важны для практических приложений молекулярной биологии, таких как *полимеразная цепная реакция*, *клонирование* и секвенирование (см. *ДНК секвенирование*).

Д. катализируют матричный синтез ДНК. В природе известны ДНК- и РНК-зависимые ферменты. Успешность синтеза ДНК, необходимого для осуществления *репликации*, *рекомбинации* и *репарации*, зависит от способности Д. распознать *матрицу* и правильно присоединить *комплементарный нуклеотид*. Протекание синтеза ДНК осуществляется с помощью Д., благодаря *катализу* нуклеофильной атаки 3'-гидроксильной группы 3'-концевого нуклеотида *затравки* (праймера) на α -фосфат приходящего извне 2'-дезоксинуклеозид-5'-О-трифосфата, в результате чего происходит замещение *пирофосфата*. Предполагается, что стадия фосфорильного переноса обеспечивается двумя катионами магния, которые стабилизируют координационное *переходное состояние*, образуя комплекс с фосфатными группами и соответствующими карбоксилатными группами *активного центра* фермента.



Предполагаемое переходное состояние при присоединении нуклеотида, катализируемом ДНК-полимеразой

Даже сравнительно простые организмы (например, *Escherichia coli* или другие бактерии) имеют несколько ДНК-полимераз. Например, у *E. coli* известны как минимум пять Д. Процесс репликации у эукариот более сложный. У человека известно более 12 Д. Помимо участия в репликации ядерного и митохондриального геномов, несколько Д. человека участвуют в *репарации* и формировании иммунного ответа.

Д. взаимодействуют с пулом четырех структурно сходных *дНТФ*, из которых выбирается субстрат для включения в растущую цепь ДНК с образованием *уотсон-криковских пар оснований*. Д., предположительно связанные с процессом репликации ДНК, характеризуются низкой частотой ошибок (примерно одна ошибка на 1 млн присоединенных нуклеотидов). В то же время полимеразам, участвующим в исправлении повреждений молекулы ДНК (например, вызванных солнечным светом), свойственна высокая частота ошибок (до одной ошибки на 1–10 присоединенных нуклеотидов). Некоторые недавно открытые ферменты обладают необычными свойствами: высокой частотой ошибок при копировании неповрежденной ДНК или способностью преодолевать нарушения в структуре ДНК, блокирующие работу ферментов репликации. Предполагается, что эти Д. участвуют в репарации ДНК и развитии иммунного ответа. Кроме того, было убедительно показано, что мутации в генах, кодирующих Д., которые приводят к изменениям свойств этих ферментов, связаны с развитием различных опухолей.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

ДНК-полиморфизм. См. *полиморфизм*.

ДНК-праймаза. См. *праймаза*.

ДНК–РНК-гибрид. Двухцепочечная молекула, которая состоит из цепи ДНК, спаренной с *комплементарной РНК*. Такие ДНК–РНК-гибриды возникают как промежуточное состояние при репликации и транскрипции, а также могут быть получены *in vitro* путем гибридизации.

ДНК-связывающие антибиотики. *Антибиотики*, связывающиеся с ДНК и РНК.

ДНК-связывающие белки. Любые белки, которые связываются с двух- или одноцепочечной молекулой ДНК. В качестве примеров можно привести молекулы, осуществляющие *регуляцию транскрипции* (например, *транскрипционные факторы*, функционирующие как *репрессоры* или *активаторы*); белки, участвующие в упаковке молекулы ДНК в ядре (например, *гистоны*); ферменты, которые расщепляют, модифицируют, транскрибируют или реплицируют ДНК (*нуклеазы*, *топоизомеразы*, *гликозидазы*, *хеликазы*, *полимеразы* и т. д.); многие белки, участвующие в этих процессах (например, *белки, связывающие одиночную цепь ДНК*). Физиологическая роль Д. б. определяется аффинностью и специфичностью взаимодействия ДНК и белка. Эти свойства зависят от взаимодействий между аминокислотами Д. б. и нуклеотидами ДНК. Кроме того, для эффективного связывания ДНК с белками иногда требуются определенные белок-белковые взаимодействия. Бел-

ки, связывающиеся со специфической последовательностью ДНК, обычно взаимодействуют с *большим желобком В-ДНК*. Специфичность к последовательности достигается образованием *водородных связей* и наличием *ван-дер-ваальсовых взаимодействий* между боковыми цепями молекулы белка и соответствующими доступными (экспонированными) структурными мотивами пар оснований, а также в силу специфичной для той или иной последовательности гибкости и деформируемости молекулы ДНК. Существует несколько классов специфичных к последовательности Д. б., например: белки, содержащие мотив *спираль—поворот—спираль*, *гомеодомен*содержащие белки, белки с мотивом типа «цинковых пальцев», рецепторы стероидов, белки с мотивом «лейциновая молния», с мотивом *спираль—петля—спираль* и содержащие β -слои. Каждый из этих мотивов обладает достаточно простой вторичной структурой, которая комплементарна В-ДНК. В то же время белки, которые участвуют в процессах *транскрипции* или *репликации*, обычно взаимодействуют с нуклеиновой кислотой независимо от ее последовательности. В этом случае межмолекулярное взаимодействие обусловлено контактами с *малым желобком В-ДНК*.

Tobias Restle

ДНК-связывающие полиамиды. См. *малый желобок связывающие полиамиды, ДНК-связывающие белки*.

ДНК-секвенатор. Полностью автоматизированное устройство для определения последовательности оснований в молекуле ДНК. Технология секвенирования, реализуемая в этих приборах, основана на детектировании флуоресценции и стала возможной с разработкой эффективного флуоресцентного мечения красителями, которые связываются с ДНК либо на *сахарофосфатном остове* (см. *5'-концевая модификация праймеров*), либо напрямую через дидезоксинуклеотиды — алкильной связью с основаниями (см. *олигонуклеотидов мечение*). Секвенаторы сочетают в себе две возможности: *электрофорез* и лазерное детектирование флуоресценции и управляются компьютером. Флуоресцентные сигналы, поступающие от меченых фрагментов ДНК, детектируются в реальном времени при электрофоретическом разделении. Полученные данные могут быть анализированы напрямую или введены как исходные данные для программы анализа мутаций, редактирования последовательности или сборки протяженных последовательностей. В основе метода лежит стандартное *секвенирование по Сенгеру* с терминирующими рост цепей *нуклеотидами* за исключением того, что *праймеры* или терминирующие нуклеотиды несут метку. *Флуоресцентные красители* разнообразны по химической структуре и способны к флуоресценции в видимом или ближнем ИК-диапазонах. Среди флуоресцирующих в видимой области красителей особенно важную роль играют родамины. Внедрение красителей на основе родаминов (BigDyes) привело к значительному повышению отношения сигнал : шум и снижению порога детектирования до 10^{-18} моль в электрофоретической полосе.

Если меченые праймеры применяются в сочетании с нормальными (немечеными) дидезоксинуклеотидами, необходим анализ четырех различных реакций (четыре дорожки). Использование меченных красителями терми-

нирующих нуклеотидов с четырьмя различными метками для А, Т, G и С позволяет использовать единственную дорожку секвенирующего геля. Первый подход дает сигналы одинаковой интенсивности для всех четырех оснований, в то время как работа с мечеными дидезоксинуклеотидами менее трудоемка — все терминаторы могут быть использованы в одной реакции. Автоматические Д. бывают двух типов: с плоским полиакриламидным гелем и на основе *капиллярного электрофореза*. Первые разделяют меченые фрагменты путем электрофореза в полиакриламидном денатурирующем геле, при этом длина геля составляет от 14 до 60 см. Число оснований, которые могут быть надежно различимы при разгонке (разрешающая способность) зависит от длины геля и времени разгонки. В типичном случае длина прочтения составляет от 750 до 1200 оснований на дорожку с наибольшей производительностью от 80 000 до 130 000 оснований за 24 ч. В приборах на капиллярной основе используют набор капилляров или единственный капилляр, заполненный полиакриламидом или специальным полимером, который служит стационарной фазой при электрофорезе. Эти приборы имеют ряд преимуществ: большая степень автоматизации (на стадиях нанесения образцов, электрофореза, анализа), длина прочтения 550–700 оснований. Эффективность работы на подобных приборах — от 10 000 до 600 000 оснований за 24 ч. Капиллярные секвенаторы предпочтительнее для работы в масштабных геномных проектах.

Susanne Brakmann

ДНК-синтезатор. Прибор для автоматизированного синтеза *олигонуклеотидов*. Позволяет осуществить синтез фрагментов ДНК длиной до 150 *нуклеотидов*. Аналогичная экспериментальная процедура используется также при синтезе фрагментов РНК. См. *олигонуклеотидов синтез*.

Ronald Micura

ДНК-топоизомераза. Топоизомеразы контролируют взаимное превращение топологических изомеров (топоизомеров) ДНК. Могут повышать или понижать степень сверхспирализации. Участвуют в процессах спутывания и распутывания цепей ДНК. Благодаря способности разрывать молекулу ДНК они также позволяют осуществить перекрещивание цепей ДНК, а также образовывать и разрушать катенаны из молекул ДНК. Топоизомераза I снижает степень сверхспирализации и функционирует по следующему механизму: вносит разрыв в одну из цепей *двойной спирали* ДНК, закручивает ее относительно второй цепи и лигирует разрезанную цепь без затраты *АТФ*. Топоизомераза II (например, гираза) релаксирует *сверхвитки* и катенаны путем формирования двунитевых разрывов. После *репликации* она образует в молекуле ДНК отрицательные сверхвитки, в результате чего ДНК может быть упакована в клетке.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

ДНК-фермент. См. *дезоксирибозим*.

ДНК-функционализированные наночастицы (НЧ). Гибридные материалы, состоящие из разнообразных НЧ (металлы, полупроводники, ферромагнетики), и ДНК прекрасно сочетают биологические свойства ДНК (см.

гибридизацию и ферментативные реакции расщепления, *транскрипцию*, *трансляцию*, *репликацию* и т. д.) и физические свойства НЧ (электронные, оптоэлектронные, магнитные и др.). Обычно для образования прочных связей с НЧ цепи ДНК снабжают «якорями» — функциональными группами (как правило, тиолы). Цепочки ДНК с тиольными группами на концах используют для формирования покровных структур на наночастицах металлов (обычно золоте) и полупроводников (например, CdS, CdSe). Конформация одноцепочечной ДНК (оцДНК), присоединяемой к НЧ через якорную тиогруппу, зависит от длины и состава оцДНК. При небольшом заполнении поверхности было обнаружено неспецифическое обматывание оцДНК вокруг НЧ. При высоком покрытии поверхности короткие олигонуклеотиды полностью вытягиваются и ориентируются перпендикулярно поверхности. Если покрытие поверхности высокое, а *олигонуклеотиды* длинные, внутренняя часть олигонуклеотидов, располагающаяся ближе к поверхности НЧ, полностью вытягивается перпендикулярно поверхности, наружная же часть формирует статистические клубки. На процесс *гибридизации* связанной оцДНК ядра НЧ практически не влияют, а для ряда ферментативных реакций ДНК (например, полимеризации) необходимо связывание ферментов с цепочками ДНК, поэтому они могут существенно ингибироваться ядрами НЧ из-за стерических факторов. Гибридизация оцДНК приводит к контролируемой агрегации ДНК-функционализированных НЧ. Это уменьшает расстояния между металлическими ядрами НЧ, вызывая изменения во взаимодействии их плазмонов. Соответствующие изменения оптических свойств используют, чтобы проследить за процессом гибриднойизации средствами спектроскопии, именно так получены простые оптические ДНК-сенсоры (капельный тест «Northwestern»). НЧ часто используют как метки для обнаружения и усиления сигнала (оптического или электронного) от реакций с ДНК (обычно гибриднойизации), проходящих в растворах или на поверхностях. Флуоресцентные квантовые точки (CdSe) и генерирующие фототок полупроводниковые НЧ (CdS) применяют в качестве меток, чтобы следить оптоэлектронными средствами за гибриднойизацией ДНК. Металлические НЧ (например, золото) и полупроводниковые НЧ (например, CdS, ZnS, PbS) используют как электрохимически активные метки при анализе ДНК методом инверсионной вольтамперометрии. Ферромагнитные НЧ (Ni, Fe₃O₄), ассоциированные с ДНК, применяют в качестве считываемых магнитных ярлыков при анализе ДНК. ДНК-функционализированные магнитные НЧ, кроме того, служат наноразмерными переносчиками, которые позволяют проводить магнитно контролируемые перемещение, выделение и очистку ДНК в ходе различных процедур биоиндикации. Контролируемая агрегация с НЧ при гибриднойизации ДНК используется, чтобы создать необходимую архитектуру различных сетей из связанных между собой НЧ, построить сложные нанотрубки, наносхемы и нанoeлектронные устройства. *Матрицы* ДНК для контролируемого расположения ДНК-функционализированных НЧ можно создать *полимеризацией* ДНК (катализируемой полимеразой *фрагментом Клёнова*) или теломеризацией (катализируемой *теломеразой*). Матрицы ДНК позволяют задать сложную геометрию создаваемым наносхемам, контролируя

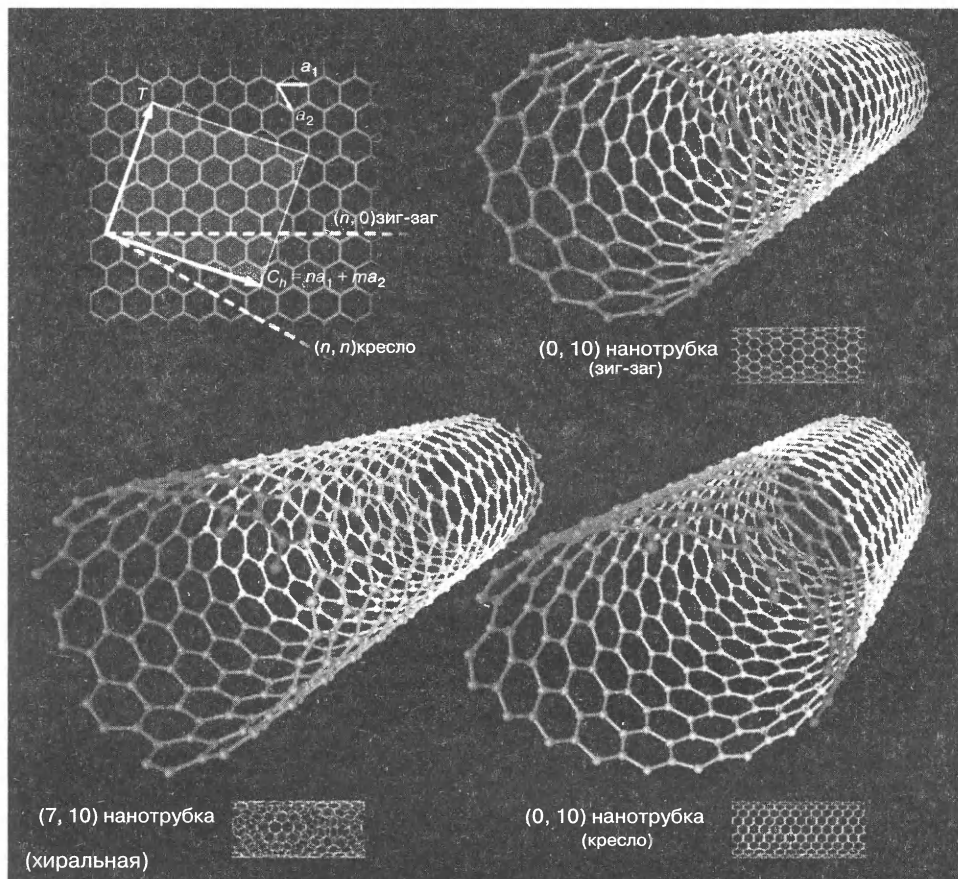
расстояния между НЧ. Металлические НЧ, связанные с матрицами ДНК, путем химической обработки можно заставить расти и получить таким образом длинные электропроводные металлические нанотрубки или наносхемы со сложной геометрией. На основе матрицы ДНК из НЧ разной природы и с разными электронными свойствами (проводники, полупроводники) можно собрать сложные электронные наноустройства.

Evgeny Katz

ДНК-функционализированные углеродные нанотрубки (УНТ). Образованные из закрученных листов графена наноразмерные трубки с открытыми или закрытыми торцами. Однослойные УНТ (ОУНТ) состоят из одного листа графена (1–2 нм в диаметре), а многослойные (МУНТ) состоят из нескольких слоев графена, расстояние между которыми приблизительно 0,34–0,36 нм, в длину они могут достигать нескольких сантиметров. По электропроводности УНТ могут быть проводниками или полупроводниками в зависимости от способа сворачивания листов графена.

ДНК-функционализированные УНТ представляют собой гибридные бионаноматериалы, сочетающие биологически ценные свойства ДНК с уникальными электронными, оптоэлектронными, температурными и механическими свойствами УНТ. Молекула ДНК может быть ассоциирована с УНТ тремя разными способами: (а) удерживаться во внутреннем канале УНТ; (б) наматываться на внешние стенки трубки; (в) ковалентно связываться с *функциональными группами*, генерируемыми на дефектах в стенках из графена или расположенными на торцах нанотрубки. Внутренний канал УНТ с открытыми торцами доступен для размещения цепочек ДНК. Перемещение ДНК сквозь канал одиночной УНТ было прослежено с помощью флуоресцентной микроскопии, а при моделировании молекулярной динамики реакции было выявлено, что в водном растворе благодаря исключительно быстрому динамическому процессу ДНК может заключаться внутрь УНТ при условии, что размер трубки превышает определенное критическое значение. ДНК, намотанная на внешние стенки УНТ, увеличивает растворимость нанотрубок в воде. Наматывание *одноцепочечной ДНК* (оцДНК) на ОУНТ зависит от последовательности ДНК. При тщательном анализе библиотеки оцДНК обнаружено, что последовательность $d(GT)_n$ (где $n = 10–45$) самоорганизуется в спиральную структуру вокруг отдельных нанотрубок, притом электростатические свойства гибрида ДНК–ОУНТ зависят от диаметра трубки и ее электронных свойств, что позволяет хроматографически разделять ОУНТ по диаметру, структуре стенок и электронным свойствам.

Функциональные группы, ковалентно присоединяющие ДНК, можно специально создать на открытом конце УНТ или на дефектных участках графеновой стенки химическим или фотохимическим травлением. Кроме того, к внешней графеновой стенке за счет π – π -стэкинга можно присоединить полиароматические якорные группы (например, пирен), предоставляющие свои функциональные группы для ковалентного связывания ДНК. К функциональным группам, созданным на УНТ, ковалентно присоединяли цепочки ДНК разной длины. Сначала с УНТ ковалентно связывали короткие олигонуклеотиды, а затем наращивали их *in situ*, чтобы получить ДНК



См. рис. IV на цветной вклейке

необходимой длины и последовательности. УНТ, функционализированные ДНК, обычно используют как тяжелую метку или высокоэффективную подложку для сенсорного обнаружения ДНК. Функционализированные ДНК нанотрубки применяют в сайт-специфичном размещении проводниковых или полупроводниковых УНТ в наносхемах, нанотранзисторах и других наноэлектронных устройствах. Специфичность размещения контролируется *гибридизацией ДНК с комплементарными* цепями ДНК на твердых подложках способом нанолитографии. УНТ могут служить переносчиками и осуществлять доставку ДНК в живые клетки, это дает новый метод для целевой доставки лекарств в рамках новой концепции наномедицины.

Evgeny Katz

ДНК-хеликаза. Разделяет две цепи *двойной спирали ДНК* путем разрыва *водородных связей*, в результате чего образуются две свободные цепи.

ДНК-чип. Очень небольшое по площади устройство, имеющее структуру множественных микроматриц и представляющее собой сочетание полупроводниковой технологии и *генной технологии*, предназначенное для идентификации генов или измерения их активности. Начиная с 1980-х гг. стало возможным одновременно анализировать до 100 000 проб, в том числе из разных образцов. На микроматрицы нанесены определенные фрагменты *одноцепочечной ДНК* (ковалентно связанные с чипом), которые играют роль зондов, связывающихся с определенной последовательностью ДНК или РНК. Эти пробы могут быть маркированы флуоресцентными метками. Камера с высоким разрешением фиксирует информацию о положении, интенсивности и длине волны сигнала. Существует несколько химических методов прикрепления одноцепочечных фрагментов к поверхности чипа:

- Альдегидный слой образует имины с аминомодифицированными цепями ДНК.
- Слой эпоксида образует амины с аминомодифицированными цепями ДНК.
- Слой N-гидроксисукцинимиды образует амиды с аминомодифицированными цепями ДНК.
- *Стрептавидин* связывает *биотинилированные олигонуклеотиды*.

Matthäus Janczyk

дНМФ. Дезоксинуклеозидмонофосфат.

дНТФ. Дезоксинуклеозидтрифосфат.

Добавочная ДНК. Используется при оценке числа копий последовательности ДНК. Изменчивость генома человека имеет различную природу, и недавно было показано, что существует множественная изменчивость по числу копий различных последовательностей ДНК, протяженность которых варьирует от тысяч до нескольких миллионов пар нуклеотидов. Функциональное значение этого явления пока не установлено.

Mauro Santos

Добавочная хромосома. Дополнительная *хромосома* помимо нормального для организма хромосомного набора (кариотипа). Если присутствует одна полноразмерная Д. х., такой случай называют трисомией. Наиболее широко в популяции человека распространена трисомия по 21-й хромосоме, приводящая к развитию синдрома Дауна.

Mauro Santos

Добавочное плечо. См. *вариабельная петля*.

«**Дот-блот**». Прямая точечная *гибридизация* ДНК, РНК или белка на носителе (см. *блоттинг, дот-блот метод*).

«**Дот-блот**» метод. Образец ДНК или РНК точно наносят на мембрану (нитроцеллюлозную или нейлоновую) и закрепляют УФ-излучением или нагреванием. Детектирование осуществляют путем *гибридизации* меченого олигонуклеотида (зонда) с анализируемой *комплементарной последовательностью* ДНК или РНК (см. *блот-анализ*). Этот метод прост в примене-

нии, поскольку не требуется разделения биомолекул *гель-электрофорезом* с последующим блоттингом. Однако метод не дает никакой информации о размере детектируемых одлигонуклеотидов. Если ДНК- или РНК-зонд или антитело имеет сродство к более чем одному олигонуклеотиду, нельзя сделать выводы о числе анализируемых молекул.

Irene Drude

Дуплекс. Две цепи нуклеиновой кислоты, которые взаимодействуют с образованием *уотсон-криковских пар*, формирующих *двойную спираль*.

дУТФ системный мутагенез. См. *мутагенез по Кункелю*.

дцДНК. См. *двуцепочечная ДНК*.

дЦДФ. 2'-Дезоксицитидиндифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

дЦМФ. 2'-Дезоксицитидинмонофосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

дцРНК. См. *двуцепочечная РНК*.

дЦТФ. 2'-Дезоксицитидинтрифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Дыхание. См. *ДНК дыхание*.

Ж

Жидкостная хроматография—масс-спектрометрия (ЖХ-МС). Метод, используемый для структурного анализа и количественного определения органических молекул небольшого или среднего размера и умеренной или высокой полярности. Верхний предел по массам зависит от наполнителя колонок. Для разделения фракций может быть использована не только высокоэффективная обращенно-фазовая хроматография, но и ионная хроматография, тонкослойная хроматография (ТСХ) и др. После хроматографического разделения происходит ионизация анализируемых компонентов методом электрораспыления (электроспрея). Реже используется химическая ионизация при атмосферном давлении и фотоионизация также при атмосферном давлении. Выбираемый метод ионизации зависит от полярности анализируемых компонентов (см. *масс-спектрометрия: методы ионизации*).

Метод ЖХ-МС используют для детектирования и количественного определения продуктов при *ДНК-алкилировании*, окислительном повреждении и образовании фотоаддуктов. Возможности этого метода анализа в сочетании с его высокой чувствительностью могут быть очень важны при диагностике злокачественных новообразований. Определение структуры минорных и неизвестных ДНК-аддуктов посредством масс-спектрометрии дает ценную информацию при детальном изучении механизмов действия противораковых препаратов, в то время как другие методы (например, ^{32}P -постмечение или *ядерного магнитного резонанса спектроскопия*) дают неудовлетворительные результаты.

Подготовка образцов обычно включает мягкое ферментативное *расщепление* ДНК. Образующиеся (в том числе и модифицированные) свободные *азотистые основания*, *нуклеотиды* или *олигонуклеотиды* обычно анализируют без дальнейшего модифицирования. См. *газовая хроматография—масс-спектрометрия (ГХ-МС)*, *масс-спектрометрия (МС)*: *термины и определения*, *масс-спектрометрия в исследованиях ДНК*.

Andreas Springer

ЖХ-МС. См. *жидкостная хроматография—масс-спектрометрия*.

3

Закручивание спирали. См. *коэффициент закрученности*.

Закрытая рамка считывания. Содержит *стоп-кодоны*, делающие невозможной *трансляцию* ее *нуклеотидов* в белок (противоположна *открытой рамке считывания*).

Mauro Santos

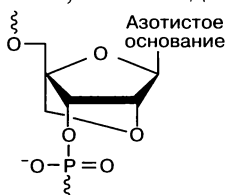
Заместительный синтез. Синтез комплементарной цепи, который происходит после того, как одна из цепей *ДНК плазмиды* переносится от донора к реципиенту в ходе конъюгации.

Замещающая мутация. *Мутация*, вызванная заменой одного или нескольких остатков ДНК (РНК) равным количеством других остатков (см. *делеционная мутация*, *инсерционная мутация*).

Hans-Joachim Fritz

Запертая нуклеиновая кислота (ЗНК). В последние несколько десятилетий были синтезированы и изучены различные химически модифицированные *олигонуклеотиды*. Среди них особенно выделяются ЗНК из-за своей способности связываться с *комплементарной нуклеиновой кислотой* с беспрецедентно высоким сродством. Мономер ЗНК содержит бициклический остаток *рибозы* с метиленовым О2'-С4'-мостиком, который запирает молекулу, придавая ей конформацию, подобную РНК. Таким образом, ЗНК представляет собой структурный РНК-миметик.

Различные ЗНК могут быть получены путем автоматизированного синтеза (см. *олигонуклеотидов синтез*): полностью модифицированная ЗНК, ЗНК-модифицированная ДНК, ЗНК-модифицированная РНК или, например, ЗНК-модифицированные 2'-О-метил-РНК-олигонуклеотиды. Термин ЗНК относятся к любому олигонуклеотиду, содержащему один или более мономеров ЗНК. То обстоятельство, что мономеры ЗНК могут быть соединены с очень многими природными или синтетическими мономерами нуклеиновых кислот, дает



огромные возможности для конструирования. Основные физико-химические свойства ЗНК:

- Растворимость в воде, как у ДНК и РНК.
- Повышенное сродство к комплементарным ДНК/РНК по сравнению с немодифицированными нуклеиновыми кислотами.
- Повышенная стабильность в биологических средах по сравнению с немодифицированными нуклеиновыми кислотами.
- Выраженная устойчивость к присутствию *неспаренных оснований*, особенно у коротких ЗНК.

Свойства ЗНК широко востребованы при усовершенствовании (или даже открытии принципиально новых возможностей) методик биотехнологии, молекулярно-биологических исследованиях и при разработке лекарственных препаратов. ЗНК могут быть трансфецированы в клетки и использованы в прогнозируемом *сайленсинге генов* как одноцепочечные *антисмысловые олигонуклеотиды* в низких (наномолярных) концентрациях. Исследования на животных подтвердили возможности использования одноцепочечных антисмысловых ЗНК, и в настоящее время эти соединения проходят клинические испытания как противораковые агенты. Встраивание ЗНК-мономеров в связывающие плечи *ДНКзимов* усиливает эффективность расщепления РНК-продукта по сравнению с немодифицированными ДНКзимами. Модифицированные внедрением ЗНК дуплексы *малых интерферирующих РНК* дают возможность совершенствовать процесс сайленсинга генов в клетках и *in vivo*; встраивание ЗНК-мономеров не только придает высокую биостабильность, но и уменьшает число нецелевых мишеней. Использование ЗНК делает возможным нацеливание на различные структурные мотивы РНК (см. *РНК-мотив*) и *миРНК* (в качестве зондов). К другим областям применения ЗНК относится использование в качестве строительных блоков в нанотехнологии (см. *ДНК-нанотехнология*) и в качестве зондов и сигнальных молекул — в биотехнологии. детектирование однонуклеотидных полиморфизмов в медицинских целях может быть проведено с использованием ЗНК в растворе (гомогенная система) или на чипах (гетерогенная система). Достоверно известно, что ЗНК-зонды увеличивают чувствительность при FISH (см. *флуоресцентная in situ гибридизация*) и значительно совершенствуют технологии захвата РНК.

Jesper Wengel

Заполнения реакция. Используется для получения *тупых концов* на фрагментах ДНК, образовавшихся при функционировании *эндонуклеазы рестрикции*, которая оставляет 5'-*выступы*. Синтез ДНК в направлении 5' → 3' может быть ускорен *ДНК-полимеразой* Т4 или *ДНК-полимеразой* I (см. *фрагмент Клёнова*).

Annegret Wilde

Защитная группа. Химический фрагмент, присоединенный к *функциональной группе* с целью блокирования ее собственной реакционной способности.

Защитных групп снятие. См. *депротекция*.

Заякоренный праймер. *Геномная ДНК и матричная РНК* (мРНК) содержат протяженные области повторов или полипуриновые/полипиримидиновые участки (например, *поли(А)*). Такие области трудны для точного воспроизведения или определения их нуклеотидной последовательности. Праймер, состоящий из нескольких остатков тимина, будет иметь множество *сайтов отжига* на *матрице* поли(А), что приведет к образованию димеров *праймеров*, образованию многочисленных продуктов амплификации *неравной* длины и с разной *последовательностью*. Метод подбора праймеров к такому участку основан на использовании заякоренных праймеров; они обычно содержат два специфических нуклеотида на 3'-конце, комплементарных матрице. Например, праймер к последовательности поли(А), после которой идут нуклеотиды CG, должен содержать нуклеотиды GC на 3'-конце олиго(Т)-цепи. Такая конструкция «заякоривает» праймер точно в месте соединения поли(А)-«хвоста» и концевого димера транскрипта и только к той части транскрипта, которая комплементарна ему в якорном динуклеотиде.

Заякоренные праймеры часто используют при *полимеразной цепной реакции* в методе сравнительного анализа (дифференциального дисплея, ДД-GWH), применяемого для выявления дифференциально экспрессирующихся генов путем сравнения произвольно амплифицируемого спектра *кДНК*. Суть этого метода заключается в проведении *обратной транскрипции* с заякоренным олиго(Т)-праймером, отжигающимся на поли(А)-области мРНК. Заякоренный олиго(Т)-праймер состоит из 11–12 тимидиновых остатков и двух дополнительных на 3'-конце, которые обеспечивают специфичность.

David Loakes

Зеркальный аптамер. См. *шпигельмер*.

ЗНК. См. *запертая нуклеиновая кислота*.

Зрелая мРНК. См. *РНК-созревание*.

И

ИДФ. Инозиндифосфат. См. *инозинфосфаты, нуклеозидфосфаты*.

Избыточность. Присутствие в *геноме* многих копий одного и того же *гена*.

Изгибание ДНК. Специфическое взаимодействие между ДНК и белками, при котором белковая молекула вызывает изгибание *двойной спирали* ДНК. Измерение параметров изгибания важно для понимания механизмов распознавания ДНК.

Matthäus Janczyk

Изоакцептор. Все *транспортные РНК* (тРНК), которые в ходе аминокислотирования связываются с одними и теми же аминокислотами и принадлежат к одному семейству *кодонов* (см. «*качания*» *гипотеза*). Различные члены семейства И. обычно присутствуют в клетке в разных концентрациях, что отражает частоту использования того или иного кодона у данного организма (см. *кодон, частота использования*). Семейство кодонов,



Изгибание ДНК

таким образом, распадается на *мажорные тРНК* (обычно используемые при расшифровке) и *минорные тРНК* (используемые очень редко).

Stefan Vörtler

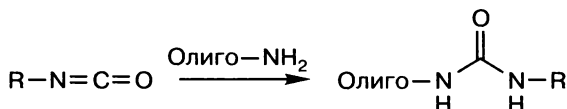
Изоаллель. Аллель гена, который считается нормальным, но может быть отличен от другого нормального аллеля по фенотипическому проявлению.

Изображение на фосфоресцирующем покрытии. Метод детектирования радиоактивно меченного материала на геле, блоте, микропанели и т. д. Метод более чувствительный, чем классический метод с использованием рентгеновской пленки, и позволяет детектировать более широкий диапазон концентраций. Пластина с фосфоресцирующим покрытием (в качестве фосфора используются смешанные оксиды-бориды переходных металлов и др.) экспонируется в присутствии радиоактивного материала. Радиоактивное излучение вызывает химические изменения в фосфоре, которые затем могут быть выявлены при сканировании лазером. Радиоактивно меченные сайты характеризуются флуоресценцией, интенсивность которой можно измерить.

Slawomir Gwiazda

Изотиоцианат. Молекула, содержащая изотиоцианатную функциональную группу ($-NCS$). Такая молекула может реагировать с олигонуклеотидами, содержащими алифатические аминогруппы. В результате реакции органическая молекула соединяется с олигонуклеотидом через тиомочевинный мостик.

Snorri Th. Sigurdsson

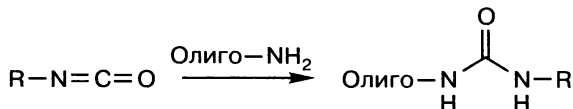


Изотопное мечение. Введение радиоактивных изотопов или других меток в молекулы ДНК и РНК (см. *олигонуклеотидов мечение*). Используются радиоактивные изотопы ^{32}P (*радиоактивное мечение*), ^{13}C и ^{15}N (при исследованиях структуры нуклеиновых кислот методом *ядерного магнитного резонанса — ЯМР-спектроскопии*).

Snorri Th. Sigurdsson

Изоцианат. Молекула, содержащая изоцианатную функциональную группу ($-\text{NCO}$). Такая молекула может реагировать с *олигонуклеотидами*, содержащими алифатические аминогруппы. В результате реакции органическая молекула соединяется с олигонуклеотидом через мочевиный мостик.

Snorri Th. Sigurdsson



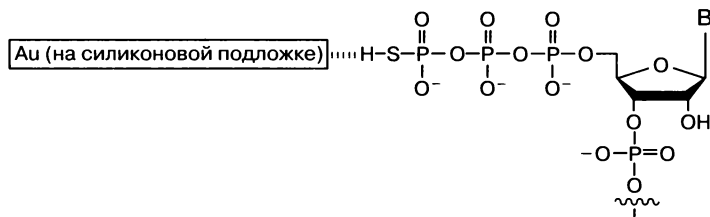
Иммобилизация нуклеиновых кислот. Присоединение молекул нуклеиновых кислот к нерастворимой органической или неорганической твердой фазе. Иммобилизованные нуклеиновые кислоты играют большую роль при синтезе нуклеиновых кислот (см. *фосфоамидитный метод*), в методах анализа (см. *ДНК-чип*) или в эволюционной биологии в экспериментах *in vitro* (см. *in vitro* эволюция нуклеиновых кислот, *SELEX*).

Есть две возможности иммобилизации нуклеиновых кислот. Они могут быть непосредственно синтезированы на твердой фазе или иммобилизованы в результате определенных манипуляций после синтеза. Почти всегда (см. *методы TBDMS, TOM, ACE*) необходимая ДНК или РНК синтезируется автоматически на *твердом носителе*. В результате получается олигонуклеотид, ковалентно связанный с твердой фазой, от которой он затем отделяется в ходе последующих этапов очистки.

Модифицированные нуклеиновые кислоты могут быть присоединены к твердой подложке за счет сильных нековалентных взаимодействий. Разработаны биочипы, основанные на взаимодействии золота с тиолом — тиольная группа на 5'-конце молекулы ДНК или РНК прочно присоединяет молекулу к покрытой золотом силиконовой подложке.

Другой способ нековалентного связывания *in vitro* основан на взаимодействии *биотина* и *стрептавидина*. Биотиновую метку можно ввести в 5'-концевую область молекулы при транскрипции. Во многих методах разделения олигонуклеотиды (как правило, РНК) с каталитической активностью оказываются мечеными биотином и могут быть отделены при связывании на твердой фазе, покрытой авидином или стрептавидином. *Олигонуклеотиды*, не несущие биотиновой метки, могут быть иммобилизованы при гибридизации с *антисмысловыми нуклеотидами*, которые, напротив, мечены биотином. Особенно эффективны для этих целей антисмысловые олигонуклеотиды на основе 2'-О-метилРНК.

Jörn Wolf



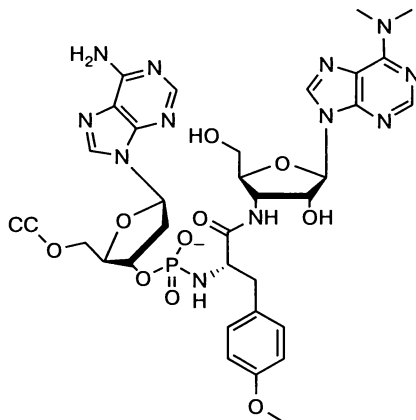
Взаимодействие тиола с золотом

Импринтинг. См. *генетический импринтинг*.

ИМФ. Инозинмонофосфат. См. *инозинфосфаты, нуклеозидфосфаты*.

Ингибитор Яруса. Аналог *переходного состояния* при кристаллизации *рибосом*. Он связывается с каталитическим центром рибосомы и является сильным ингибитором пептидилтрансферазной реакции в рибосоме. В ряде исследований И. Я. был использован для отбора РНК, прочно связанных с рибосомой, для поиска РНК, которые могли бы катализировать образование пептидной связи (см. *искусственные рибозимы*). Он состоит из CCdАp-пурамицина.

Jörn Wolf



Индикаторный ген. Информативный *ген*, активность которого может быть легко детектирована (см. *репортерный ген*).

Индуктор. Активатор экспрессии гена (см. *гена активация, активатор, репрессор*).

Индукция (активация) экспрессии гена. Индукция представляет собой включение экспрессии *гена*, вызванное *активатором*. Последний в большинстве случаев является *ДНК-связывающим белком*, который увеличивает скорость *транскрипции*. *Гены*, контролирующие процессы катаболизма (деградацию субстрата) у бактерий, как правило, индуцибельны. Это означает, что гены, кодирующие ключевые ферменты катаболизма, экспрессируются только при наличии субстрата или метаболита. Иными словами, бактерии регулируют клеточные процессы так, что большинство ферментов синтезируются только при необходимости.

Beatrix Süss

Индукцибельный вектор экспрессии. *Вектор*, сконструированный для индукции экспрессии определенного *гена* в контролируемых условиях. Фактически термин относится к вектору, в котором целевой ген клонирован под контролем *индуцибельного промотора*.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Индукцибельный ген. В противоположность *конститутивному гену*, который постоянно экспрессируется на одном и том же уровне, экспрессия И. г. происходит при определенных условиях, которые в основном включают присутствие позитивных и/или негативных *транскрипционных факторов* (соответственно *индукторов* или *репрессоров*).

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Индукцибельный промотор. *Промотор*, который реагирует на определенные условия, позволяя осуществиться экспрессии контролируемого *гена*. Изменение в уровне *транскрипции* (позитивное или негативное) происходит в ответ на узнавание *индукторов* или *репрессоров* соответственно.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Индукцированного соответствия модель. Наиболее убедительная модель взаимодействия фермента с субстратом, впервые предложенная Д. Э. Кошландом в 1958 г. Предполагается, что реакция между ферментом и его субстратом может происходить только в результате изменения в структуре фермента, которое индуцировано связыванием с субстратом. Начальные взаимодействия между молекулами достаточно слабые, но они быстро приводят к конформационным изменениям в ферменте, которые, в свою очередь, упрочняют связывание. Предполагается также, что (а) для ферментативной реакции требуется строго определенное положение каталитической группы; (б) структура активного центра претерпевает изменения формы в ответ на взаимодействие с субстратом; (в) только вызванные связыванием с субстратом изменения в структуре фермента приводят каталитические группы в нужную для осуществления реакции конформацию. Связывание с другими молекулами (не субстратами) такого действия не имеет.

Stéphanie Vauléon

Инициаторная тРНК. Биосинтез белка (см. *трансляция*) всегда начинается с N-концевого метионина или (у прокариот, в митохондриях и пластидах) с формилированного метионина (см. *формилметионил-тРНК*), который претерпевает деформилирование после синтеза пептида. В любом случае встраивание происходит при участии специализированной инициаторной *транспортной РНК* (тРНК_и), используемой только для *расшифровки стартового кодона AUG* в ходе *инициации трансляции*. Аминоацилирование тРНК_и происходит теми же каноническими Met-РС (см. *аминоацил-тРНК-синтетазы*), что и тРНК^{Met}, используемые при *элонгации*. Отличие заключается в том, что они взаимодействуют с *факторами инициации*, а не элонгации, а также входят в *рибосому* в Р-сайте вместо А-сайта. У прокариот позитивным детерминантом для связывания факторов инициации является формилметионин, в то время как клеточные системы эукариот ориентированы на специфические структурные особенности тРНК_и, например уникальные *пары оснований* U50–A64 и G51–C63 в инициаторных тРНК позвоночных. Мутации, приводящие к образованию пар A50–U64 и U51–A63 (ситуация, наблюдаемая в *элонгаторных тРНК*), уменьшают эффективность связывания с eIF и повышают вероятность связывания eEF1A. Кроме того, тРНК_и содержит три последовательных пары GC в стебле над *ан-*

тикодоновой петлей, что уменьшает ее гибкость и улучшает связывание с *P-сайтом*. Изменения в этой области препятствуют связыванию.

Stefan Vörtler

Инициаторный кодон. См. *стартовый кодон*.

Инициации фактор. См. *трансляции фактор, рибосома*.

Инициация транскрипции. Начинается с распознавания *промотора* — специфического района ДНК, необходимого и достаточного для связывания *РНК-полимеразы* и начала *транскрипции*. Связывание РНК-полимеразы с промотором обычно опосредовано *транскрипционными факторами*. Распознавание промотора приводит к образованию закрытого комплекса. В пределах этого комплекса ДНК остается двуцепочечной. Локальное *плавление* ДНК вызывает образование открытого комплекса. После плавления ДНК РНК-полимераза начинает синтез РНК, который иницируется одиноким *нуклеозид-5'-трифосфатом* в условиях *in vivo*, а *in vitro* может быть иницирован *нуклеозид-5'-монофосфатом* или даже *динуклеотидом*. Механизм инициации существенно отличается от такового для *ДНК-полимеразы*, использующей при *полимеризации* как затравку ДНК- или РНК-*праймер*, но не нуклеозид-5'-трифосфат. Пока цепь РНК не достигнет определенной пороговой длины (обычно 9 нуклеотидов), синтез РНК нестабилен, и синтезируемая молекула может быть утрачена. После полимеризации девяти нуклеотидов РНК-полимераза теряет контакт с промотором и факторами И. т., вступая в фазу *элонгации*.

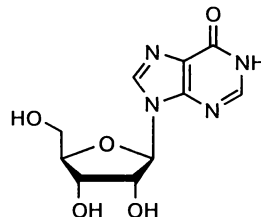
П. В. Сергеев

Инициация. Один из трех этапов *трансляции*, в ходе которого происходит сборка трансляционного комплекса на *стартовом кодоне* с участием *факторов инициации* (трех у прокариот, 10 или больше у эукариот) (см. *рибосома*). Термин также относится к инициации *транскрипции* (см. *транскрипция, транскрипции инициация*).

Stefan Vörtler, Sabine Müller

Инкубация. Поддержание образца или реакционной смеси в фиксированных условиях в течение заданного времени.

Инозин. β-Гликозидный нуклеотид на основе *гипоксантина*. Составная часть *антикодона* некоторых *транспортных РНК* (см. *редкие нуклеотиды*).



Инозинфосфаты. Эфиры фосфорной кислоты и *инозина*. И. существуют в форме монофосфата (ИМФ), дифосфата (ИДФ), трифосфата (ИТФ) и 3',5'-циклического монофосфата (цИМФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Sabine Müller

Инсерционная мутация. См. *инсерция, делеционная мутация, замещающая мутация*.

Hans-Joachim Fritz

Инсерционный элемент. Дискретный сегмент молекулы ДНК, который может быть внедрен в *хромосомы*, фаги или *плазмиды*. Один из простейших мобильных генетических элементов. Инсерция может происходить в определенные положения в молекуле ДНК или случайным образом. Внедрение И. э. всегда приводит к возникновению *мутации*, а их исключение — к потере *генетической информации*. IS-элементы (инсерционные последовательности) имеют длину 700—1400 оснований и содержат *гены*, ответственные за осуществление *инсерции*. TN-элементы (см. *транспозоны*) превышают 1400 оснований и содержат гены, не имеющие отношения к функции встраивания.

Matthäus Janczyk

Инсерция. *Мутация*, вызванная добавлением одного или большего числа остатков ДНК или РНК. Короткие И. обычно возникают в ходе *репликации* или репарации в результате локального проскальзывания *праймера* или *матрицы*; протяженные — вследствие рекомбинационных событий. И. также могут быть вызваны *мобильными элементами*, например такими, как IS (инсерционные последовательности) и *транспозоны*. См. *делеционная мутация*, *замещающая мутация*.

Hans-Joachim Fritz

Интервальное картирование. Набор процедур, использующих два соседних генетических маркера для определения генетических эффектов и положения в *геноме* для *генов*, которые контролируют развитие *количественных признаков*.

Mauro Santos

Интеркалятор. См. *интеркаляция*.

Интеркаляция. Встраивание атомов или молекул в уже существующие структуры (например, молекулы нуклеиновых кислот или мембраны). Встраивающиеся молекулы также называются интеркаляторами или интеркалирующими агентами. Интеркаляторы, способные к встраиванию в нуклеиновые кислоты, в большинстве своем являются ароматическими полициклическими молекулами, такими как *бромистый этидий*, бисбензимидазол, профлавин, талидомид или акридиновый оранжевый. Они взаимодействуют с молекулами *двуцепочечной ДНК* или РНК путем внедрения между соседними *парами оснований*, в результате чего происходит изменение расположения оснований, взаимодействующих по типу стэкинга, и как следствие, нарушается вся структура двуцепочечной ДНК или РНК. Так как И. вызывает структурные изменения, она может препятствовать прохождению *репликации* и *транскрипции*, приводить к возникновению *мутаций*. Поэтому интеркаляторы являются *канцерогенами* и *мутагенами*; например, профлавин и акридиновый оранжевый вызывают *мутации сдвига рамки*. Некоторые ДНК-интеркаляторы используют в качестве средств химиотерапии для подавления репликации ДНК в раковых клетках. Другие (например, бромистый этидий) применяют как окрашивающие вещества. Сами нуклеиновые кислоты также могут играть роль интеркаляторов — конкурентно или путем образования *тройной спирали*.

Valeska Dombos

Интерференционное картирование с использованием аналогов нуклеотидов (NAIM). Химико-генетический метод для сравнительной оценки в одном эксперименте влияния различных *функциональных групп* на локализацию каждого *нуклеотида* в молекуле РНК. Необходим набор из трифосфатов 5'-О-(1-тио)нуклеозидов. Аналоги *нуклеотидов* содержат специальную химическую модификацию в основании или остатке сахара и γ -фосфоротиоатную замену, которая служит меткой. Трифосфаты нуклеотидных аналогов встраиваются в *транскрипт* РНК случайным образом, причем фосфоротиоатные производные могут быть расщеплены при добавлении I_2 с образованием нескольких продуктов расщепления РНК. Так как включение фосфоротиоатной метки совершенно независимо от нуклеотидных аналогов, метод может быть совмещен с любым аналогом, который встраивается в транскрипт *РНК-полимеразой*.

Pascale Romby, Pierre Fechter

Интерференционное картирование. См. *интерференционное картирование с использованием аналогов нуклеотидов*.

Интрамер. *Аптамер*, используемый внутри клетки (например, для связывания с вирусными белками). *И.* могут быть модифицированы, чтобы придать их связи с белками высокую аффинность и селективность. Кроме того, они могут быть экспрессированы в клетке, сохраняя свою функцию во внутриклеточной среде. На использовании *И.* основан один из методов терапии ВИЧ, при котором *И.* связываются со специфическими мишенями — вирусными белками (обратной транскриптазой ВИЧ-1, интегразой и Rev-белком), что приводит к нарушениям в жизненном цикле вируса.

Jörn Wolf

Интрон. Часть последовательности *гена*, разделяющая *экзоны*. *И.* не кодируют белки. Число *И.* в гене может значительно варьировать, некоторые гены содержат более 50 *И.* Обычно *И.* длиннее экзонов. После *транскрипции* *И.* вырезаются в ходе так называемого *сплайсинга*, в результате чего остаются только кодирующие белок сегменты *пре-мРНК*.

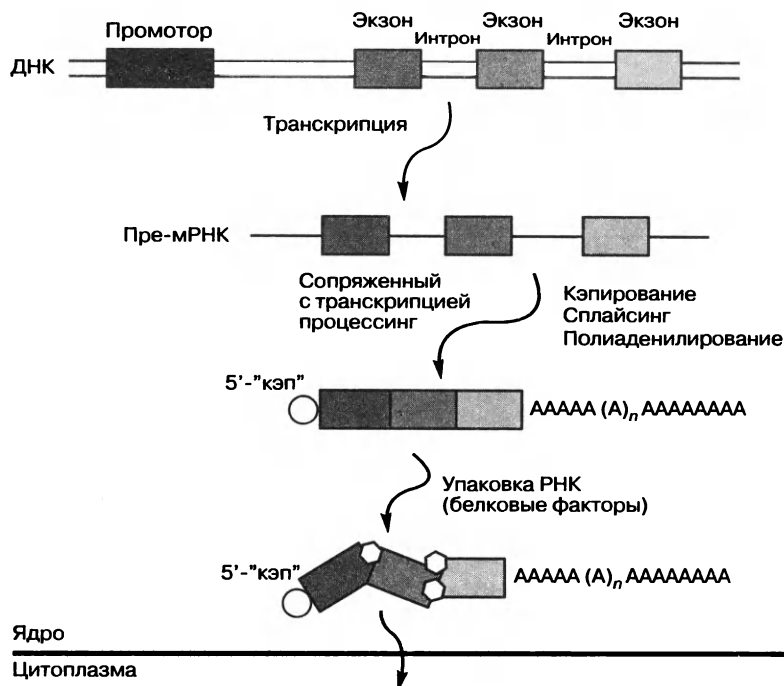
Недавно в геноме гриба *Neurospora crassa* в *И.* были обнаружены связывающие различные метаболиты сайты — так называемые *рибопереключатели*. Предполагается, что последние влияют на процесс сплайсинга.

Tina Persson

Интрона дрейф. См. *интрона скольжение*.

Интрона миграция. См. *интрона скольжение*.

Интрона мобильность (интрона хоуминг). Процесс у бактерий, при котором *интроны* групп I или II (см. *интрон группы I*, *интрон группы II*) распространяются по репликативному механизму в *гены*, лишённые интронов. Механизм этого процесса различен для двух типов интронов. У интронов группы I мобильность осуществляется за счет того, что кодируемая интроном ДНК-эндонуклеаза (см. *интронкодируемый белок*) делает двунитевой разрез в потенциальном сайте инсерции в гене без интрона. Затем разрыв репарруется ферментами, которые используют *интронкодируемый ген* как



матрицу, так что копия интрона воссоздается в сайте инсерции. У интронов группы II процесс носит название *ретрохоуминга*, так как в нем участвует копия интрона, получаемая путем обратной транскрипции.

Stéphanie Vauléon

Интрона проскальзывание. См. *интрона скольжение*.

Интрона скольжение. Смещение границы между *интроном* и *экзоном* на небольшое расстояние. Называется также проскальзыванием, миграцией или дрейфом интрона. Возможны несколько механизмов осуществления такого процесса.

Stéphanie Vauléon

Интрона хоуминг. См. *интрона мобильность*.

Интрон-кодируемый белок. Белок, кодируемый последовательностью в пределах *интронов группы I* или *интронов группы II* и участвующий в регуляции мобильности интрона (см. *интрона мобильность*).

Интронкодируемый ген. *Ген*, локализованный в пределах последовательности *интронов группы I* или *интронов группы II* и кодирующий белок (см. *интронкодируемый белок*), который участвует в регуляции мобильности интрона (см. *интрона мобильность*).

Stéphanie Vauléon

Интронов перестановка. Изменение имеющегося порядка расположения *интронов* и их набора в гене так, что возникают новые комбинации интронов. См. *экзонов перестановка*, *перестановка*.

Интроны группы I. Интроны группы I были первым открытым классом *каталитических РНК* в работе Чека с соавторами в начале 1980-х гг. в предшественнике *рибосомной РНК* (рРНК) *Tetrahymena* (см. *рибозим Tetrahymena*). Из-за своего размера, варьирующего от нескольких сот до 3000 нуклеотидов, и механизма осуществляемой реакции они относятся к категории больших *рибозимов*. К настоящему времени секвенированы более 2000 интронов группы I, входящих в структуру генов рРНК, *транспортных РНК* и белков у бактерий, вирусов, низших эукариот и органелл. Интроны группы I сейчас определяют как эгоистичные *мобильные генетические элементы*, которые широко распространены благодаря способности к самоинтеграции в различные *гены* (доместикация¹), но из-за *самосплайсинга* на уровне РНК не являются вредоносными для хозяйского генома.

Интроны группы I состоят из 9–10 спаренных спиралей с консервативным каталитическим ядром из примерно 100 нуклеотидов (рис. 1, а). Структура ядра образована тремя основными доменами (P4/5/6, P3/7/8/9 и P10/1/2); спиральный домен P10/1/2 расположен параллельно P8/3/7 (рис. 1, в). P1 содержит 5'-субстратную цепь, а P10 образуется при выравни-

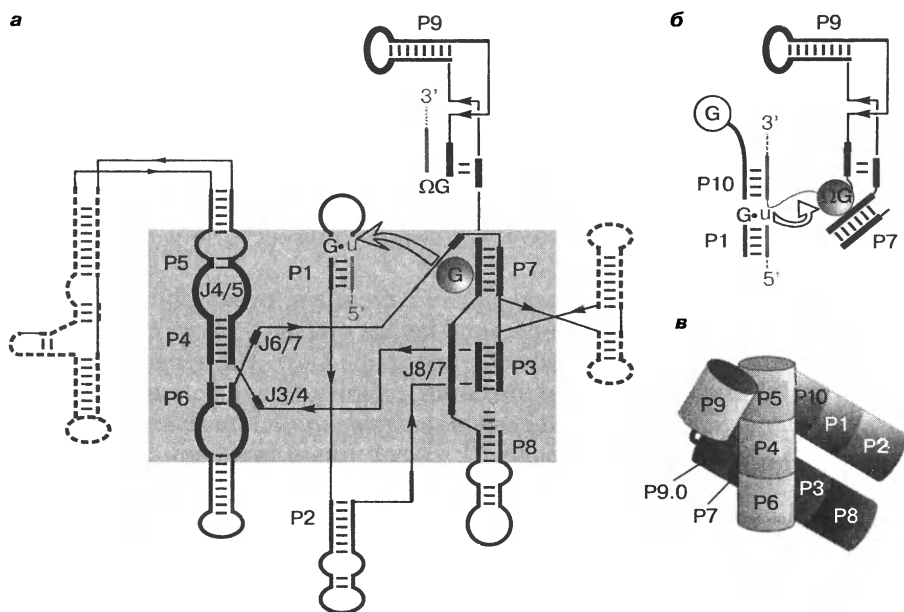


Рис. 1. Структура интронов группы I. а — двумерная структура перед первой трансэтерификацией. Серым фоном показано каталитическое ядро; стрелкой — нуклеофильная атака G-кофактора на 5'-сайт сплайсинга; жирными линиями — консервативная последовательность; штриховыми линиями — примеры переменных периферических элементов; серыми линиями — последовательности экзонов. б — структурные особенности перед вторым расщеплением: G-кофактор ковалентно связан с 5'-концом интрона, дополнительная спираль P10 образуется при спаривании оснований с 3'-экзоном. в — консервативное расположение основных спиральных элементов в ядре

¹ Для английского слова «homing» нет прямого русского аналога. Лучше всего значение этого слова передается выражением «homing pigeon» — голубь (обычно почтовый), специально натренированный возвращаться домой. — *Прим. ред.*

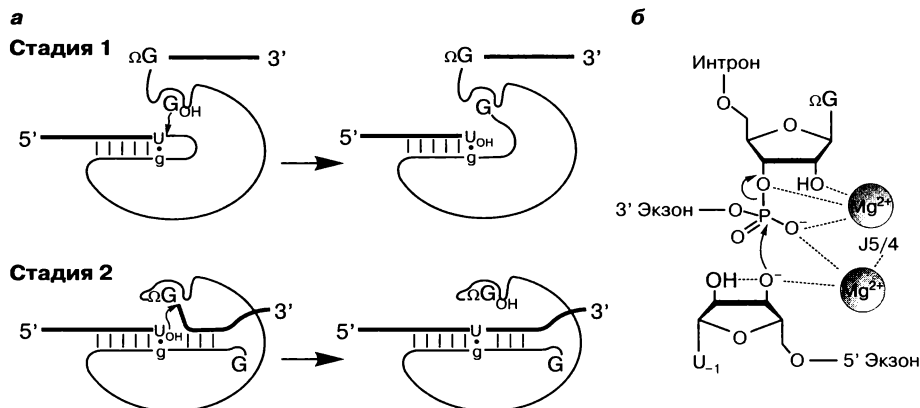


Рис. 2. а — универсальный двухстадийный ход сплайсинга в интронах группы I. б — предполагаемый механизм стабилизации промежуточного состояния двумя ионами металла при катализируемой интронами группы I трансэтерификации. Показано образование комплексного иона металла, координирующего атомы кислорода фосфатных групп, в структурных элементах ядра связывания (J5/4, J8/7, P7) *активного центра* интронов группы I

вании 3'-сайта сплайсинга (рис. 1, а, б). *Активный центр* образован при непосредственном сближении сайтов P4, P6, P7, J4/5 и J8/7. Периферические элементы отходят от этого ядра и стабилизируют его структуру за счет третичных взаимодействий на большом расстоянии. Некоторые интроны группы I образуют *активную конформацию* в присутствии определенных белков.

Интроны группы I осуществляют *сплайсинг* в двухстадийной реакции *трансэтерификации*, инициируемой кофактором — экзогенным *гуанозином* (или его моно- или трифосфатом, рис. 2, а). На первой стадии реакции 5'-сайт сплайсинга при помощи спаривания *оснований* занимает место у *внутренней гидовой последовательности* в пределах интрона, что приводит к образованию спирали P1. Экзогенный гуанозин связывается с G-сайтом в спирали P7. Затем 3'-гидроксильная группа гуанозина осуществляет нуклеофильную атаку на 5'-фосфат сайта сплайсинга и присоединяется к 5'-концу интрона. На второй стадии свободный 3'-гидроксил 5'-экзона атакует фосфат на 3'-сайте сплайсинга, лигируя концы экзонов и удаляя интрон. В соответствии с современными моделями, два иона магния напрямую улучшают эффективность *катализа* (рис. 2, б).

В терапевтических целях были сконструированы интроны группы I для коррективки *матричных РНК* путем *транс-сплайсинга*, т. е. вырезая и заменяя дефектную целевую последовательность.

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Интроны группы II. Менее распространенные по сравнению с *интронами группы I* способные к самостоятельному сплайсингу *интроны* митохондриальных генов. Как и сплайсинг в ядре, сплайсинг интронов группы II состоит из двух стадий *трансэтерификации* и начинается с нуклеофильной

остатка аденозина *точки ветвления* на 5'-сайт сплайсинга. Затем новообразованная свободная 3'-гидроксильная группа предшествующего экзона атакует 3'-сайт сплайсинга. В результате интрон высвобождается в форме *лариата*. В отличие от сплайсинга *пре-мРНК* эта реакция самостоятельного сплайсинга протекает без участия сплайсосомы или других факторов. Вместо этого сложная *вторичная структура*, содержащая шесть доменов *стебель—петля*, обеспечивает сближение двух сайтов сплайсинга. Спаривание оснований в стебле домена 6 приводит к выпячиванию остатка аденина в точке ветвления, что делает возможным первую нуклеофильную атаку на 5'-сайт сплайсинга. На уровне структуры РНК *каталитический центр* интронов группы II в целом напоминает таковой для интронов ядерных генов. Так как число *фосфодиэфирных связей* остается постоянным, не требуется дополнительного притока энергии. В целом возникает ощущение, что механизм сплайсинга *пре-мРНК* эволюционировал из механизма, наблюдаемого для интронов группы II. Необходимо, впрочем, иметь в виду, что большинство интронов группы II не вызывают автокатализа, т. е. в отсутствие белковых факторов нет катализа.

Bernd-Joachim Benecke

Инцизионная репарация. См. *ДНК репарация*.

Ионообменная хроматография. Один из хроматографических методов, основанных на разделении частиц по их заряду. Наряду с *обращенно-фазовой хроматографией* И. х. используется в основном для очистки синтезированных нуклеиновых кислот. Так как молекулы последних за счет *фосфодиэфирного остова* несут отрицательный заряд, анионообменная хроматография предпочтительнее катионообменной. Колонки, используемые для очистки нуклеиновых кислот, заполнены смолами с закрепленными на них четвертичными аммониевыми катионами. Попадая в колонку, нуклеиновые кислоты начинают конкурировать с отрицательно заряженными ионами буферного раствора за *сайты связывания* на положительно заряженном носителе. Чем длиннее молекула нуклеиновой кислоты, тем больше по величине ее суммарный отрицательный заряд и тем прочнее она связывается с твердой фазой. Если концентрация отрицательно заряженных ионов (например, ClO_4^-) в растворе элюента медленно повышается в процессе очистки, олигонуклеотиды элюируются с сорбента в соответствии с их зарядом и, следовательно, с длиной. Так как в состав элюента всегда входит денатурирующий агент (формамид, мочеви́на), очищенные *олигонуклеотиды* должны быть отделены от этих компонентов путем *диализа* или *гель-фильтрации*.

Jörn Wolf

Искусственная дрожжевая хромосома. Искусственная хромосома, содержащая человеческую геномную ДНК, и способная к эписомному самоподдержанию в клетке дрожжей за счет внедренных в нее регуляторных элементов из генома этих организмов. Размер внедряемого участка от 100 т. п. н. до 1 млн п. н. (см. *YAC-библиотека*). Быстро утратила свою первоначальную популярность, так как сильно подвержена хромосомным перестройкам.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Искусственная нуклеаза. Молекула, которая имитирует по механизму активности ферменты, расщепляющие РНК. Эти *нуклеазы* могут быть металлсодержащими комплексами, включающими Cu^{2+} , Zn^{2+} или ионы лантанидов. Конструкция содержит также имидазольные фрагменты, которые, как предполагается, имитируют два остатка гистидина в *активном сайте РНКазы А*. Искусственные нуклеазы также могут быть представлены *олигонуклеотидами*. Пример И. н.: искусственные нуклеазы на основе олигонуклеотидов (во многих случаях модифицированных для предотвращения деградации), ковалентно связанных с расщепляющим агентом. См. *антисмысловая стратегия, искусственный рибозим, нуклеаза*.

Jörn Wolf

Искусственная хромосома. ДНК-вектор, сконструированный для клонирования протяженных областей. Существуют варианты как для клонирования в *E. coli*, так и для внедрения в эукариотические клетки. Последние стабильно поддерживаются в ядре центромерой и теломероподобными концами и участками начала репликации. Исходно сконструированы в виде кольцевых челночных векторов, способных поддерживаться и амплифицироваться в клетках *E. coli*. Вектор может быть линеаризован разрезанием по специфическим сайтам рестрикции. Интересующую область или вставку (от 100 т. п. н. до 1 млн п. н.) затем можно клонировать и перенести в эукариотические клетки, где она поддерживается как ядерная эписома. См. *человеческая искусственная хромосома, искусственная хромосома млекопитающих, искусственная дрожжевая хромосома, бактериальная искусственная хромосома*.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Искусственная хромосома млекопитающих. *Искусственная хромосома*, которая содержит *геномную ДНК* млекопитающих и сконструирована таким образом, что способна к эписомному поддержанию (см. *эписома*) в клетках млекопитающих.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Искусственный рибозим. *Рибозим*, неизвестный в природных условиях. Обнаруженные природные рибозимы катализируют только очень немногие химические реакции (*гидролиз фосфодиэфира*, его образование и *переэтерификация*, образование пептидной связи). В то же время *отбор in vitro* с успехом используется для получения *катализаторов* для многих других химических реакций, таких как аминокислотилирование, *полимеризация РНК*, образование и расщепление *N-гликозидной связи*, образование и расщепление *пирофосфатной связи*, амидной связи, N- и S-алкилирование, металлизирование порфирина, изомеризация бифенила, реакции Дильса–Альдера, Михаэля или альдольная конденсация, окисление и восстановление.

Для выделения И. р. были разработаны две различных модификации цикла *SELEX*. Одна из них — отбор *аптамеров* с использованием аналогов *переходного состояния* в качестве мишеней и последующим анализом отобранных аптамеров на способность *катализа* реакции, проходящей с образованием соответствующего переходного состояния. Хотя подобные аптамеры получали достаточно часто, лишь немногие из них обнаружива-

ли каталитическую активность, причем, как правило, увеличение скорости реакции было сравнительно небольшим. Вторая, более успешная, стратегия связана с прямым отбором, первоначально позволявшим выделять только РНК-модифицирующие рибозимы. Из *библиотеки РНК* формируют смесь и инкубируют ее с веществом, которое способно само ковалентно связываться с РНК. Молекулы РНК, ускоряющие реакцию такого связывания, затем отделяют от немодифицированных компонентов библиотеки РНК, амплифицируют в ходе ферментативной реакции и подвергают следующим раундам отбора и амплификации. Использование связывания субстрата с компонентами пула РНК дало возможность расширить спектр катализируемых РНК реакций до взаимодействий между небольшими органическими молекулами (реакции Дильса—Альдера и альдольная конденсация).

Хотя многие И. р. являются самомодифицирующимися РНК с *однократным действием*, некоторые из них сходны с настоящими ферментами с *многократным действием* и подчиняются законам ферментативной кинетики (см. *Михаэлиса—Ментен кинетика*, *Михаэлиса—Ментен модель*). Каталитические способности рибозимов могут быть повышены путем включения в их состав *модифицированных нуклеотидов*, содержащих дополнительные функциональные группы. Каталитическая универсальность И. р. подтверждает гипотезу *РНК-мира*.

Andres Jäschke

ИТФ. Инозитрифосфат. См. *инозинфосфаты*, *нуклеозидфосфаты*.

К

Калориметрия. Измерение тепловых эффектов, сопровождающих химические реакции или физические процессы, а также измерение теплостемкостей. В биохимических исследованиях применяются дифференциальная сканирующая К. (ДСК) и изотермическая титровальная К. (ИТК).

В дифференциальном сканирующем калориметре поток тепла в ячейку с образцом измеряется в сравнении с таковым в контрольную ячейку с эквивалентным объемом растворителя или буфера. Температура в калориметре повышается во времени линейно, т. е. скорость нагревания поддерживается постоянной. При поглощении и выделении тепла в биохимическом процессе (например, при *денатурации* двуцепочечной ДНК тепло поглощается) на кривой ДСК появляется пик. При интегрировании пика можно определить энтальпию *плавления*, а по максимуму — *температуру плавления*.

ИТК позволяет проводить мониторинг теплового эффекта бимолекулярной реакции. Если раствор рецептора титруют раствором *лиганда*, по измерению температуры можно оценить полноту протекания реакции при заданной концентрации, а затем из полученных экспериментальных данных рассчитать изменение молярной энтальпии, константу связывания и диссоциации (см. *константа диссоциации*). Таким образом, по данным ИТК получают полное термодинамическое описание взаимодействий в системе при данной температуре.

Klaus Weisz

Канал выхода белка. См. *рибосома*.

Каноническая последовательность. Иногда называется также *консенсусной последовательностью*. Под К. п. понимают последовательность, очень часто обнаруживаемую в определенном месте цепи ДНК, либо характерную нуклеотидную последовательность в функциональном районе *гена*, встречаемую в других генах или даже в других организмах. Хорошо известные примеры К. п. — *TATA-бокс*, *CAAT-бокс* и *последовательность Шайна–Дальгарно*.

Matthäus Janczyk

Канцероген. См. *канцерогенный фактор*.

Канцерогенный фактор (канцероген). Химическое соединение, вирус, гормон или излучение, которые могут вызывать злокачественное новообразование. При онкологическом заболевании происходит неконтролируемое деление клеток, которые могут распространяться по организму с кровотоком и по лимфатической системе. Выделяют два основных типа К. ф.: генотоксические К. ф., напрямую реагирующие с ДНК (например, ионизирующее излучение), и эпигенетические К. ф., которые не повреждают саму молекулу ДНК, но вызывают predisposition к раку (например, мышьяк). Международное агентство исследования рака (МАИР) классифицирует агенты, соединения и облучения на пять различных категорий. См. *онкоген*, *мутаген*, *мутация*.

Категории К. ф. по системе МАИР

Категория	Определение	Примеры К. ф.
1	Канцерогенные для человека	Афлатоксин, мышьяк, бензол, диоксин, формальдегид, курение табака
2А	Вероятно, канцерогенные для человека	Акриламид, бензопирен, эпихлоргидрин, азотистый иприт, ультрафиолетовое излучение
2В	Предположительно канцерогенные для человека	Ацетальдегид, хлороформ, дихлорметан, фенолфталеин, стирол, винилацетат
3	Неклассифицируемые в отношении канцерогенности	Ацикловир, анилин, азобензол, диметилформамид, эозин, вирус гепатита D, полистирол, пиридин
4	Предположительно неканцерогенные для человека	Капролактамы

Bettina Appel

Капиллярный электрофорез. *Электрофорез* в растворе. Используется при разделении *макромолекул*, несущих заряд, обычно это белки и нуклеиновые

кислоты. Молекулы с разным зарядом разделяются в электроосмотическом потоке при прохождении кварцевых капилляров диаметром 25–100 мкм и длиной 20–100 см. Метод требует небольших количеств образца и может быть очень чувствительным (10^{-18} моль или ниже) в зависимости от метода детектирования (анализ в ультрафиолетовом спектре, флуоресцентное детектирование и т. д.). К. э. хорошо подходит для аналитических целей, например при *секвенировании ДНК*.

Valeska Dombos

Карман связывания. Следует отличать от *сайта связывания*. Под К. с. понимают полость определенной формы в молекуле белка или нуклеиновой кислоты. Согласно модели «ключ–замок», только определенные молекулы могут войти в эту полость и запустить биологический ответ, прочие к этому неспособны. Это молекулярное узнавание обусловлено тремя основными факторами: стерическим, электростатическим и гидрофобным соответствием. В рамках *модели индуцированного соответствия* рассматривается несколько сценариев реализации таких соответствий. В частности, первоначальное связывание лиганда может вызывать конформационные изменения в молекуле белка или нуклеиновой кислоты, в результате которых образуется К. с.

Tobias Restle

Картирование локусов количественных признаков. Набор процедур для выявления *генов*, контролирующих развитие *количественных признаков*, определения их генетического эффекта и локализации в *геноме*.

Картирование структуры нуклеиновой кислоты. См. *химическое и ферментативное картирование структуры РНК*.

Катализ. Ускорение химической или биохимической реакции в присутствии вещества (*катализатора*), которое не расходуется в ходе реакции.

Катализа константы. См. *Михаэлиса–Ментен уравнение*.

Катализатор. Участник химической или биохимической реакции, который в ходе ее не расходуется. К. в общем виде взаимодействуют с одним (или большим числом) реагентом с образованием интермедиата, который как раз и превращается в конечный продукт реакции. При образовании стабильного переходного состояния уменьшается энергия активации, что приводит к увеличению скорости реакции.

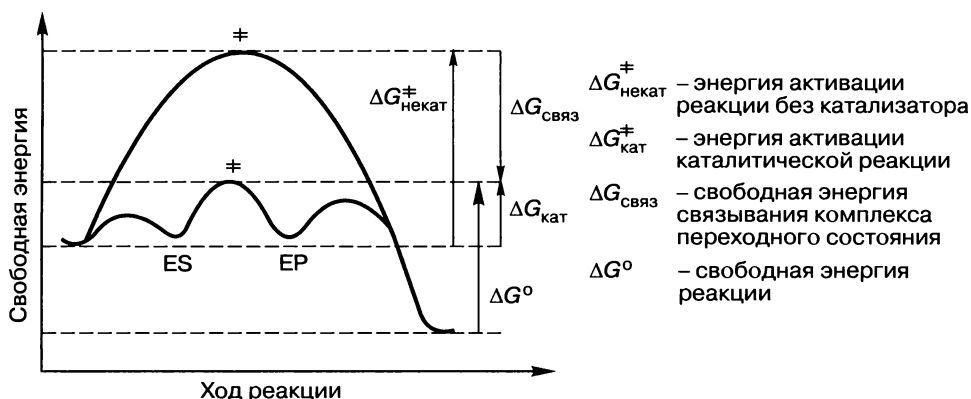
В биохимических реакциях в качестве К. работают *ферменты*. Кроме белков ферментативные функции могут осуществлять РНК (см. *рибозим*) и даже ДНК (см. *ДНКзим*). На первой стадии при взаимодействии фермента Е и субстрата S образуется комплекс ES, который активизируется до переходного состояния EX^* . Далее образуется комплекс фермента с продуктом (EP) и его диссоциация с высвобождением продукта Р. Фермент, таким образом, в реакции не расходуется и не изменяется, осуществляя катализ следующей реакции.



Для уменьшения энергии активации биохимического процесса ферменты используют различные механизмы, например *ориентирование субстрата*, предпочтительное *связывание переходного состояния* и *общий кислотно-основной катализ*. Все эти взаимодействия стабилизируют переходное состояние, так как энергия активации $\Delta G^*_{\text{некат.}}$ некатализируемой реакции уменьшается на величину свободной энергии связывания комплекса переходного состояния $\Delta G_{\text{связ.}}$. Не все из указанных механизмов обязательно используются в ферментативной реакции.

Константа равновесия реакции не изменяется, поскольку ферменты повышают скорости и прямой и обратной реакций в равной степени. Стандартная свободная энергия ΔG° также не изменяется. В большинстве случаев рибозимы функционируют в соответствии с истинной *кинетикой Михаэлиса—Ментен*, которая описывает поведение ферментов-катализаторов.

Denise Strohbach



Ферментативный катализ

Каталитическая РНК. См. *рибозим*.

Каталитические молекулярные маяки (КММ). Модульные конструкции из *дезоксирибозимов* (или *рибозимов*) и *стебель—петля структур* используют для *молекулярных маяков*. Если стебель загораживает доступ для субстрата, то связывание *комплементарных олигонуклеотидов* с *петлевым участком* раскрывает стебель, что позволяет субстрату связываться, а каталитической реакции продолжаться. Олигонуклеотиды для КММ находят с помощью субстратов с флуоресцентной меткой, кроме того, КММ необходимы для того, чтобы компьютеризировать методы анализа и расчета результатов; иногда КММ называют «YES», сенсорными или детекторными воротами.

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

Каталитический центр. См. *каталитическое ядро*.

Каталитическое ядро. Домен молекулы фермента (например, *рибозима*), который содержит *активный центр*. Нуклеотидная последовательность этого участка высококонсервативна, поскольку сложная совокупность

специфических взаимодействий этих нуклеотидов обеспечивает основу для успешного осуществления *катализа*.

Denise Strohbach

Катенан. Структура, образующаяся при сцеплении молекул *кольцевой ДНК*, подобно звеньям цепи.

«Качания» гипотеза. Гипотеза, предложенная в 1965 г. Френсисом Криком, чтобы объяснить, почему специфическая *транспортная РНК* может распознавать более одного *кодона* в *матричной РНК*. *Расшифровка генетической информации* происходит при взаимодействии кодона и *антикодона*. При этом 5'-основание кодона спаривается с 3'-основанием антикодона. 3'-Основание антикодона и следующее за ним основание (центральное в триплете) образуют стандартные *уотсон-криковские пары оснований* с *комплементарными основаниями* кодона. Третье (5'-) основание антикодона, напротив, обладает большей свободой выбора партнера для образования пары — оно может «качаться», т. е. образовывать нестандартные пары с различными основаниями. Например, аланинспецифичная транспортная РНК (тРНК^{Ala}) несет антикодон 3'-CGI-5' и может связываться с тремя различными кодонами (GCU, GCC и GCA) с образованием двух уотсон-криковских пар (C-G и G-C) и третьей, «качающейся» пары оснований между инозином и урацилом, цитозином или аденином. Аналогично, урацил в 5'-положении антикодона, может спариваться с аденином или гуанином; гуанин в антикодоне — с урацилом или цитозином в кодоне.

Sabine Müller

«Качающаяся» пара оснований. Необычная не-уотсон-криковская пара оснований, образующаяся между третьим положением кодона матричной РНК и первым нуклеотидом антикодона в молекуле транспортной РНК (положение 34) для обеспечения правильной *расшифровки генетического кода* в соответствии с гипотезой «качания» (см. «качания» гипотеза). Примером может служить контролируемый *сдвиг рамки* в ходе *трансляции* бактериальных генов RF2.

Stefan Vörtler

«Качающееся основание». Основание в третьем положении вырожденных кодонов (см. «качающаяся» пара оснований, «качания» гипотеза, генетический код).

Квадруплекс. См. *G-квадруплекс*.

кДНК библиотека. Обычно формируется *in vitro* в ходе *обратной транскрипции* всех матричных РНК, полученных из клетки, определенной ткани или целого организма. Если такая коллекция последовательностей ДНК содержит информацию о геноме целого организма, ее называют *генной библиотекой*. Поскольку такой набор ДНК-копий (см. кДНК) содержит только кодирующие белок ДНК, она может быть использована для получения белков (после клонирования в геном подходящего организма). В лабораторной практике мРНК обычно подвергают обратной транскрипции для получения кДНК, поскольку последняя более стабильна, удобна в работе и может храниться в течение более длительного времени.

Для отбора нуклеиновых кислот с определенными функциями или поиска новых *аптамеров*, *лигандов* или эффекторов на основе нуклеиновых кислот библиотеки кДНК могут быть получены путем твердофазного синтеза или при гибридизации двух частично комплементарных специально подобранных *праймеров* и последующей реакции заполнения с использованием *ДНК-полимеразы*. Затем последовательности ДНК рандомизируются полностью или по конкретным нуклеотидным положениям. См. *ОТ-ПЦР*.

Valeska Dombos

кДНК. См. *ДНК-копия*.

Килобаза. 1000 пар нуклеотидов (п. н.). Единица измерения числа пар оснований в двойной цепи ДНК. Обозначение — т. п. н.

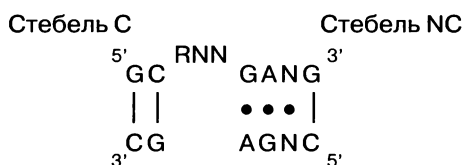
Киназа. См. *полинуклеотидкиназа*.

Кинетопластная ДНК. ДНК в составе кинетопласта — органеллы, расположенной в основании жгутика у одноклеточных паразитов (например, *Trypanosoma*). Эта молекула включает до 50 максиколец длиной 25–30 т. п. н. (содержат *гены*, связанные с выработкой энергии) и около 10 000 миниколец длиной 0,5–1,5 т. п. н. (участвуют в *редактировании* РНК).

Mauro Santos

Кинк (излом). Локальное структурное возмущение двойной спирали ДНК. В олигомере ДНК или РНК К. нарушает *стэкинг* соседних оснований. По этой причине К. в большинстве случаев нежелателен, так как теряется энергия, возникающая при стэкинге (см. *оснований стэкинг*). В молекулах *двуцепочечных ДНК* К. часто возникают при взаимодействии с белками. По этой причине К. в ДНК часто играют важную роль в контроле экспрессии генов (см. *гена экспрессия*).

Slawomir Gwiazda



N = любой нуклеотид; R = пурин

Кинковая ДНК. См. *кинк*.

Кинк-поворот, мотив (К-поворот). Мотив *вторичной структуры* РНК. Мотив принимает структуру типа стебель—выпетливание—стебель, которая служит *сайтом узнавания* для белков. Канонический стебель С заканчивается двумя *парами оснований* G-C. Неканонический стебель NC состоит из двух пар G-A, за которыми следует произвольная пара и затем пара G-C. Оба стебля соединены тремя нуклеотидами, которые образуют длинное асимметричное внутреннее выпетливание.

Взаимодействие между стеблем С, стеблем NC и первыми двумя нуклеотидами *выпетливания* приводят к изгибанию *фосфодиэфирного остова*

и выпячиванию третьего неспаренного нуклеотида из цепи. Вся структура РНК приобретает V-образную форму с асимметричной *внутренней петлей*.
Valeska Dombos

Кислотность нуклеозидов и нуклеотидов. Кислотно-основные свойства *нуклеотидов* имеют очень важное значение. По значению pK_a можно оценить заряд и таутомерную структуру (см. *таутомерные основания*), способность к образованию водородных связей и, следовательно, к комплементарному связыванию оснований, что в итоге определяет структуру нуклеиновых кислот. При физиологических рН (5–9) все основания не заряжены. 2',3'-Диол в *рибозе* теряет один протон только при $pH > 12$. В нуклеотидах свободная гидроксильная группа теряет протон только при $pH > 15$. Фосфатная группа теряет один H^+ при pH 1, а второй — при pH 7. Из-за таутомерного перехода между amino- и иминогруппой связь $C-NH_2$ имеет характер двойной на ~45%. В результате атомы азота, находящиеся в цикле, отдают протон легче, чем аминогруппы вне цикла. Из-за отрицательного заряда фосфатной группы в нуклеотиде атомы азота в ароматических циклах несколько более основные ($\Delta pK_a = +0,4$), а группы NH в цикле менее кислотные ($\Delta pK_a = +0,6$) по сравнению с соответствующими нуклеозидами. Константы диссоциации приведены в таблице.

Таблица. pK_a оснований в нуклеозидах и нуклеотидах*

Основание (сайт протонирования)		Нуклеозид	3'-Нуклеотид	5'-Нуклеотид
Аденин	N1	3,52	3,70	3,88
Цитозин	N3	4,17	4,43	4,56
Гуанин	N7	3,30	(3,5)	(3,6)
Гуанин	N1	9,42	9,84	10,00
Тимин	N3	9,93	—	10,47
Урацил	N3	9,38	9,96	10,06

* Данные соответствуют депротонированию при $pK_a > 9$ и захвату протона при $pK_a < 5$; расчет для 20 °С.

Bettina Appel

«Клеверный лист», структура. Представление *вторичной структуры транспортной РНК* (тРНК), отображающее четыре двуцепочечных области, которые образуют *крестообразную структуру*: ССА-«хвост» и три *петли* (дигидроуридиловая DHU, риботимидиловая ТΨС и антикодоновая). Первоначально структура типа «клеверный лист» была описана Холли как одна из трех возможных *вторичных структур* после определения нуклеотидных последовательностей первых тРНК. Она оказалась не только верной, но и универсальной, в том числе и для нетипичных (лишенных *дигидроуридиловой петли*) тРНК в органеллах.

Stefan Vörtler

Клон. Копия последовательности ДНК, гена или целого генома, идентичная исходному. См. *клонирование*.

Клонирование методом «выстрела из дробовика» («наугад»; *shotgun cloning*). Создание коллекции клонированных произвольных *фрагментов* ДНК организма. ДНК определенного вида расщепляют *эндонуклеазами рестрикции*, и фрагменты ДНК подходящего размера лигируют в *вектор клонирования*. Метод используют при создании *геномных библиотек*.

Annegret Wilde

Клонирование. Процесс, посредством которого достигается *амплификация* одинаковых копий определенного фрагмента ДНК. Обычно этот процесс включает следующие стадии: (а) *лигирование* целевого фрагмента ДНК в подходящий плазмидный вектор (см. *плазмида*) с использованием специфических сайтов *рестрикции*; (б) трансформация полученной конструкцией клеток *Escherichia coli*; (в) размножение *клона* в ходе роста бактериальной колонии для получения достаточного числа копий плазмиды и (г) оценка результатов К. с помощью рестрикционного анализа и/или *секвенирования*. Термин «клонирование» также используют для обозначения процесса получения целого организма из единственной соматической клетки путем митотических делений. В этом случае термин часто используется как «терапевтическое К.» или «репродуктивное К.». Тогда речь идет о внедрении ядра донорской соматической клетки в лишённую ядра яйцеклетку с целью создания нового эмбриона, из которого могут быть получены генетически идентичные донору клетки, ткани (терапевтическое К.) или целый организм (репродуктивное К.).

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Клонирования вектор. Молекула ДНК (см. *плазмида*, *космида*), используемая в экспериментах с рекомбинантной ДНК как носитель чужеродных фрагментов (см. *чужеродная ДНК*). К. в. обычно содержит селективный маркер (например, *ген устойчивости* к антибиотику), уникальные *сайты узнавания рестриктаз* для внедрения фрагментов ДНК и автономной репликации в клетках хозяина. Первым искусственным вектором клонирования была плазмида pBR322, состоящая из фрагментов нескольких природных плазмид.

Annegret Wilde

Когнатная последовательность. Мотив в последовательности, к которому ДНК- или РНК-связывающий белок обнаруживает наибольшее сродство.

Когнатный кодон. *Триплет нуклеотидов* в молекуле *матричной РНК*, который узнается и специфически связывается с *антикодоном транспортной РНК* (см. *рибосома*).

Код. В генетике соответствие между одним *триплетом* (см. *кодон*) молекулы ДНК или РНК и аминокислотой в полипептиде. Вследствие вырожденности *генетического кода* многие кодоны оказываются избыточными, и существует множество предположений, почему природа выбрала именно те кодоны, которые мы наблюдаем. Версии разнятся от гипотезы «замороженного случая» до высокой устойчивости современного кода к *точечным мутациям* (см. *генетический код*).

Mauro Santos

Кодирующая емкость. Действительное и потенциальное количество кодирующих белок последовательностей (*экзонов*) в *геноме*.

Кодирующая область. Для *гена* — фракция ДНК, которая транскрибируется в *матричную РНК* и транслируется в белок.

Кодирующая последовательность. Последовательность *нуклеотидов* молекулы ДНК, которая кодирует молекулу *матричной РНК* и тем самым определяет аминокислотную последовательность белка. Обычно все остальные последовательности определяют как «некодирующие».

Mauro Santos

Кодирующая цепь. Цепь молекулы ДНК, которая имеет ту же *нуклеотидную последовательность*, что и транскрибируемая *матричная РНК*. Содержит набор *кодонов* (нуклеотидных триплетов), которые взаимодействуют с *антикодонами* молекул *транспортных РНК* в ходе *трансляции*, в результате чего формируется первичная последовательность белка. Синоним — «*смысловая цепь*».

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Кодогенная цепь. Комплементарная к *кодирующей цепи* (смысловой цепи) и потому идентичная *антисмысловой цепи*.

Кодон. Линейная последовательность из трех нуклеотидов в молекуле *матричной РНК*, кодирующая определенную аминокислоту. Существуют $4^3 = 64$ различных комбинаций четырех основных элементов — *нуклеотидов* А, С, G и U/Т, составляющих универсальный *генетический код*. Он практически без исключений используется всеми формами жизни (см. *стартовый кодон*, *стоп-кодон*, *рамка считывания*, «*качания*» *гипотеза*, *транспортная РНК*).

Stefan Vörtler

Кодон—антикодон, взаимодействие. См. *рибосома*.

Кодона частота использования. Частота, с которой *кодон* встречается в конкретном *гене* или в среднем во всех генах организма. Из аминокислот, представленных в *генетическом коде*, только для Met и Trp не существует альтернативы, и частота использования их кодонов составляет 100%. Все остальные аминокислоты кодируются более чем одним кодоном: два кодона для Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, His, Lys, Phe, Tyr; три для Ile; четыре для Ala, Gly, Pro, Thr, Val; шесть для Arg, Leu и Ser. Однако кодоны используются не с одинаковой частотой, что можно показать с помощью частотного распределения, характерного для гена и/или организма. Это обусловлено не только *трансляционным контролем*, но и оптимизацией соответствующих *транспортных РНК* (тРНК), так как поддерживать одинаковый для всех кодонов уровень аминоацилирования индивидуальных тРНК слишком энергетически расточительно. Следствиями являются «*качание*» *при образовании пар* и различные концентрации разных тРНК, имеющих одинаковое аминокислотное соответствие (мажорные и *минорные тРНК*). Различия между разными видами по частоте использования кодонов имеют большое значение

для экспрессии гетерологичных генов, как в случае синтеза эукариотических генов в хозяйских прокариотических клетках, например в *Escherichia coli*. Существуют две стратегии преодоления часто возникающих проблем с экспрессией в таких случаях — использование вспомогательных генов тРНК в плазмидной конструкции и замена синонимичных кодонов с целью оптимизации частоты использования кодонов без изменения последовательности целевого белка.

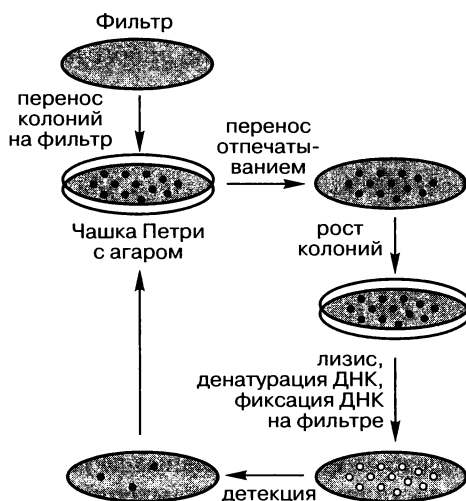
Stefan Vörtler

Количественный признак. Признак, проявления которого характеризуются непрерывным распределением.

Колоний блот-анализ. Метод идентификации бактериальных колоний, несущих химерные векторы, путем *гибридизации in situ* с меченым ДНК-зондом.

Рекомбинантные клоны бактерий, растущие на агаризованной среде, совмещают с фильтром и выращивают на поверхности фильтра, находящегося на поверхности агара. Контрольную чашку Петри получают путем отпечатывания фильтра с колониями на поверхности второй чашки, которую затем культивируют при 4 °С. После лизиса колоний на фильтре их ДНК денатурируется *in situ* и закрепляется на фильтре. Затем мембрану (фильтр) обрабатывают меченым ДНК- или РНК-зондом, комплементарным анализируемой последовательности (см. *комплементарная последовательность*). Анализируемую последовательность ДНК можно визуализировать различными способами в зависимости от свойств метки (с использованием автордиографии, *флуоресцентного красителя* или хемилюминесценции). При наличии положительного сигнала колонии, содержащие искомую последовательность, могут быть идентифицированы.

Irene Drude



Колоний гибридизация. См. *колоний блот-анализ*.

Кольцевая ДНК. Форма *двойной спирали* ДНК, в которой спираль ковалентно замкнута в кольцо. К. Д. можно обнаружить в виде плазмид, в митохондриях, хлоропластах и геномах вирусов. Особенность замкнутой К. Д. в том, что ее топологическое состояние не может быть изменено какими-либо конформационными перестройками, а требует активности *топоизомеразы*. См. *сверхспирализованная ДНК*.

Matthäus Janczyk

Компетентность. Способность определенных видов бактерий (*Neisseria gonorrhoeae*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae* и др.) к связыванию специфической ДНК из внешней среды. Эта способность может быть природной или индуцированной.

Jörn Wolf

Комплементарная ДНК. Продукт *обратной транскрипции* на РНК-матрице (обычно на матричной РНК) (см. *ДНК-копия*).

Комплементарная РНК. (1) Точный продукт *транскрипции*, полученный с ДНК-матрицы либо (2) молекула РНК, полученная на матрице смысловой РНК в результате активности *РНК-зависимой РНК-полимеразы*.

Denise Strohbach

Комплементарная цепь. Цепь ДНК, имеющая последовательность нуклеотидов, которая способна к *уотсон-криковскому взаимодействию* с цепью-матрицей, например АТ и ГС соответственно.

Комплементарное основание. Основание, способное к образованию *уотсон-криковской пары* с данным азотистым основанием. Пространственное строение и химическая структура оснований делают возможным эффективное образование *водородных связей* только между А и Т (У в РНК) или Г и С. Таким образом, у любого азотистого основания в ДНК и РНК есть единственное К. о.

Denise Strohbach

Комплементарный нуклеотид. Нуклеотид, основание которого способно образовать специфические *водородные связи* с основанием данного нуклеотида, в результате чего формируется *уотсон-криковская пара* (см. *уотсон-криковское взаимодействие*).

Комплементарный олигонуклеотид. Олигонуклеотид, который образует последовательность *уотсон-криковских пар* оснований с олигонуклеотидом антипараллельной ориентации *цепи*.

Конкатемер. Молекула ДНК или РНК, состоящая из идентичных мономерных единиц, которые повторяются линейно в одной и той же ориентации (например, мультимеры фага λ).

Конкурентная полимеразная цепная реакция (ПЦР). Количественный метод анализа ДНК с применением *полимеразной цепной реакции в реальном времени*. Он основан на совместной амплификации целевой ДНК с гомологичным или гетерологичным конкурентным стандартным образцом ДНК, который конкурирует с образцом матрицы ДНК за *праймер* для ПЦР.

Нужно, чтобы внутренний контроль отличался от целевой ДНК, например по размеру или по картине *рестрикционных фрагментов*. Кроме того, чтобы определить количество конечного продукта, необходимо знать концентрацию контрольного образца. *Продукты амплификации* можно разделить в агарозном геле, и флуоресценция этих продуктов будет пропорциональна количеству амплифицированной ДНК.

Конкурентная ПЦР отличается от ПЦР в реальном времени тем, что это метод определения по конечной точке, где количественная оценка основана на количестве амплифицированного продукта в последнем цикле амплификации.

David Lookes

Конкурентная ПЦР. См. *конкурентная полимеразная цепная реакция*.

Консенсусная последовательность. Первичная последовательность нуклеотидов или аминокислот, консервативная для ряда нуклеиновых кислот или белков и предположительно важная для осуществления функций (см. *консенсусная структура*).

Mauro Santos

Консенсусная структура. Структурный мотив, консервативный для различных нуклеиновых кислот или белков, которая предположительно важна для осуществления функций (см. *консенсусная последовательность*; *РНК, вторичной структуры предсказание*).

Mauro Santos

Консенсусный мотив. См. *консенсусная последовательность, консенсусная структура*.

Консервативная область. В одной (или более) линейных последовательностей *нуклеотидов* или аминокислот консервативные области имеют высокую степень сходства, что часто связано с их важной функцией в клетке. Высококонсервативные белки часто нужны для обеспечения основных клеточных функций, стабильности и размножения.

Mauro Santos

Консервативная последовательность. Преимущественно относится к последовательности *нуклеотидов* или аминокислот, которая сходна или даже идентична у различных организмов. Сходство последовательностей указывает на структурную и функциональную консервативность, а также на эволюционное родство последовательностей.

Mauro Santos

Консервативный нуклеотид. Нуклеотид в последовательности ДНК или РНК, необходимый для реализации их функции.

Константа диссоциации. Используется для описания равновесия между комплексом (обычно применительно к нековалентным связям между частями) и двумя вступающими в реакцию компонентами А и В. Так как эта *константа равновесия* описывает реакцию диссоциации комплекса, K_d (K_d) выражают как отношение произведения концентраций А и В к концентрации комплекса и измеряют в молях на литр.

К. д. рассчитывают по результатам титрования одного компонента другим, для этого строят зависимость отношения концентрации комплекса к максимально возможной от концентрации одного из компонентов. Если концентрация вещества А (c_A) намного больше концентрации другого компонента В, уравнение для вычисления К. д. принимает вид: $\Theta = c_A / (K_d + c_A)$. Обычно используют спектрометрический метод анализа (измеряют интенсивность флуоресценции или оптическую плотность, измеряемый параметр пропорционален концентрации).

Christian Herrmann

Константа равновесия. Термодинамическая характеристика системы. В равновесной реакции равна отношению произведения концентраций продуктов к произведению концентраций реагирующих веществ. Таким образом, чем больше значение К. р., тем больше продукта находится в равновесной смеси. Единицы, в которых получают К. р., зависят от стехиометрии реакции. К. р. обычно обозначают буквой K . Для любой реакции (это может быть суммарная реакция или стадия сложного механизма), в том числе окислительно-восстановительной, образования ковалентных связей, комплексообразования, можно записать выражение для К. р.

Christian Herrmann

Константа скорости. Кинетический параметр, отражающий молекулярный механизм реакции. Кинетика характеризуется скоростью реакции v , которая определяется как изменение концентрации реагентов с во времени. Скорость реакции зависит от концентраций реагентов и продуктов реакции. В математическое выражение, связывающее скорость реакции с концентрациями, входит коэффициент пропорциональности k , называемый константой скорости реакции. Любая стадия в сложной (многостадийной) реакции характеризуется двумя константами скорости: одна — для прямой, другая — для обратной реакции.

Самая простая реакция — необратимое образование продукта Р из исходного вещества А. Эту реакцию записывают так: $A \rightarrow P$. Тогда кинетическое уравнение этой реакции:

$$v = -dc_A/dt = dc_P/dt = k \cdot c_A$$

где k — константа скорости реакции первого порядка, имеющая размерность c^{-1} . Путем интегрирования этого кинетического уравнения можно получить экспоненциальную функцию концентрации продукта от времени.

Введем период полупревращения $t_{1/2}$:

$$(k_{\text{набл}})^{-1} = t_{1/2} / \ln 2$$

В данном примере $k_{\text{набл}} = k$, т. е. это константа скорости одной реакционной стадии.

Для обратимой реакции $A \rightleftharpoons P$ интегрирование кинетического уравнения $dc_A/dt = -k_{\text{прям}} \cdot c_A + k_{\text{обр}} \cdot c_P$ тоже приводит к экспоненциальной зависимости, но только от суммы констант прямой и обратной реакций. Таким образом, нельзя найти константу скорости прямой и обратной реакции по отдельности. Эти константы скорости связаны через константу равновесия. В данном случае константа равновесия и константа скорости связаны соотношением $K = k_{\text{прям}}/k_{\text{обр}}$.

Рассмотрим другой случай. Пусть два вещества реагируют с образованием одного продукта: $A + B = P$. Скорость этой реакции также зависит от концентраций A и B :

$$dc_A/dt = -dc_B/dt = dc_P/dt = k c_A c_B$$

Здесь k — константа скорости реакции второго порядка; ее размерность — $(\text{моль/л})^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$.

При изучении кинетики такой реакции используется следующий подход. Одно исходное вещество берут в существенно большей концентрации чем другое, например, $[A] \gg [B]$. Определяют концентрацию вещества B (c_B) во времени. $k_{\text{набл}} = k \cdot c_A$ называется константой скорости реакции псевдопервого порядка. Проводят эксперименты с различными концентрациями A , $[A] \gg [B]$, и находят константу скорости второго порядка k из зависимости $k_{\text{набл}}$ от c_A . В более сложных реакциях $k_{\text{набл}}$ определяется суммой и/или произведением констант скорости, константы равновесия и концентраций участвующих компонентов (зависит от механизма, экспериментальных условий и принятых допущений).

Christian Herrmann

Конструирование нуклеиновых кислот для кристаллизации. Вариантов условий (реагентов, концентраций, pH), которые теоретически годятся, чтобы произошла кристаллизация нуклеиновой кислоты, много. Тот факт, что биологические *макромолекулы* кристаллизуются только при вполне определенных (очень узких по вариациям) условиях, позволяет предположить, что эти макромолекулы могут кристаллизоваться при множестве других вариантов условий, но большинство из них никогда не будут выявлены. Таким образом, изменение характеристик целевых молекул является хорошей альтернативой скринингу новых составов и условий, количество которых все время увеличивается. Такая стратегия широко распространена при кристаллизации белков, она включает замену подвижных доменов или участков, а также поиск доступных природных последовательностей среди ортологов. Основная наблюдаемая закономерность заключается в том, что укладка нуклеиновых кислот с образованием кристалла основана на тех же взаимодействиях, которые участвуют в формировании природных структур, присущих нуклеиновым кислотам. Короткие двуцепочечные ДНК или РНК-дуплексы часто формируют квазибесконечные спиральные участки (см. *торцевое взаимодействие*) в кристаллах. Аналогично, *торцевое взаимодействие* является основным принципом структурной организации сложных нуклеиновых кислот, что впервые было показано на примере *транспортной РНК*. Благодаря этому стало понятно, что для кристаллизации полезны изменения длины дуплексов с тем, чтобы адаптировать винтовую симметрию спирали к симметрии кристалла. Этот принцип может быть усовершенствован благодаря введению в нуклеиновую кислоту (самокомплементарных) *липких концов*, что стимулирует образование кристаллической упаковки путем спаривания оснований (см. *оснований пара*). Для первой полученной кристаллической структуры — структуры *молотоголового рибозима* было показано, что кристаллическая упаковка обусловлена специфическими межмолекулярными взаимодействиями между *тетранетлей* в одной молекуле

и рецептором тетрапетли (см. *тетрапетли рецептор*) в соседней молекуле. Известно, что такие взаимодействия тетрапетель и их рецепторов формируют структуру больших молекул РНК. Таким образом, одна из стратегий разработки молекул РНК для кристаллизации состоит в идентификации участков, не имеющих функционального значения, с последующим введением в эти участки специальных способных к взаимодействию мотивов, таких как пара из тетрапетли и ее рецептора, которые способны только к межмолекулярным взаимодействиям.

Как правило, *третичная структура* нуклеиновых кислот определяется слабыми взаимодействиями, порождающими целый ансамбль конформаций, который сложно или невозможно кристаллизовать. Было показано, что методы селекции *in vitro* могут быть мощным средством для генерирования новых нуклеиновых кислот, которые более стабильны и конформационно однородны. Такие образцы могут легче формировать кристаллы или образовывать более упорядоченные кристаллы, чем исходные молекулы дикого типа.

Другое общее наблюдение заключается в том, что поверхность сложной свернутой молекулы нуклеиновой кислоты предоставляет очень ограниченные химические возможности для упаковки кристалла. Этим ситуация очень отличается от того, что происходит с белками, где различные боковые цепи или участки основной цепи могут выходить на поверхность и обеспечивать разнообразие центров взаимодействия для упаковки кристалла. Показано, что очень полезно добавлять белковый компонент на поверхность нуклеиновых кислот при их кристаллизации. Как правило, сайт связывания белка вводится на функционально инертном участке, и кристаллизуется искусственный комплекс РНК–белок, а не одна РНК. Обнаружено, что во многих критически важных для образования кристалла контактах в таких искусственных комплексах участвуют белковые субъединицы, а функциональные элементы РНК не повреждены. Кроме того, сконструированный сайт связывания белка стабилизирует структуру РНК вокруг себя и вносит некоторые ограничения в топологию в целом. И наконец, он может быть мощным фазообразователем, например в виде селенметионинового варианта.

Markus Wahl

Контроль транскрипции. Важный механизм регуляции экспрессии генов (см. *гена экспрессия*). Так как *транскрипция* — самый первый этап экспрессии, наиболее действенным инструментом ее регуляции может быть решение транскрибировать или не транскрибировать конкретный *ген*. К. т. — комбинаторный процесс, особенно у эукариот. Он представляет собой результат согласованного действия множества *транскрипционных факторов*, зачастую активируемых вне- и внутриклеточными сигналами. К. т. включает также эпигенетическую регуляцию (клеточную память), связанную с модификацией ДНК (см. *модифицированная ДНК*) или *гистонов*. Эти модификации влияют на степень конденсации *хроматина* и, как следствие, на доступность ДНК для транскрипционных факторов и *РНК-полимеразы*. Обычно активация транскрипции носит синергический характер, т. е. несколько регуляторных механизмов совместно действуют значительно эффективнее, чем по отдельности.

П. В. Сергеев

Контроль трансляции. Механизм регуляции экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) и адаптации набора клеточных белков (протеома) к условиям среды. Первичная регуляция активности *гена* осуществляется на уровне транскрипции путем контроля синтеза *матричных РНК* (информационных РНК, мРНК). Этот контроль достигается в результате взаимодействия между регуляторными последовательностями ДНК (см. *промотор*) и *транскрипционными факторами* (см. *контроль транскрипции, регуляция транскрипции*). К. т. охватывает все механизмы регуляции, имеющие отношение к синтезу белка, в то время как посттрансляционный контроль включает все способы модификации и обработки белков. По сравнению с *транскрипцией* оба типа К. т. обладают явным преимуществом — очень коротким временем реакции; это гарантирует прямое регулирование стабильности, места и активности синтеза продуктов *гена*.

У прокариот все регуляторные процессы сопряжены, так как происходят одновременно в одном и том же компартменте и на одной и той же молекуле мРНК. Примером может служить *аттенуация* — механизм, который регулирует биосинтез триптофана. Трансляция *полицистронной РНК* с *Тг-оперона*, кодирующего три гена, приостанавливается в условиях дефицита триптофана и отсутствия Тг-тРНК^{Тр}, в результате чего *рибосомы* застревают на молекуле мРНК. Это препятствует образованию *вторичной структуры* из последовательности, расположенной *ниже*, которая необходима при терминировании *транскрипции* и подавлении экспрессии гена. Если эта структура не образуется, *РНК-полимераза* продолжает транскрибировать лежащие дальше гены, что приводит к синтезу ферментов, интенсификации уровня биосинтеза триптофана, прекращению застоя рибосом и в итоге к образованию *вторичной структуры* из лидерной последовательности мРНК. В результате вся система прекращает функционирование. У эукариот компартиментализация клетки требует организованного транспорта мРНК и ее белковых продуктов, что дает возможность дополнительного контроля.

Существует несколько основных компонентов К. т. (а) Время, через которое синтезированная мРНК становится доступной для *трансляции*. В некоторых случаях мРНК остается неиспользуемой до более поздних стадий развития и носит название маскированной мРНК. (б) Особенности хода трансляции. Сюда относится наличие *внутренних сайтов связывания рибосомы*, которые сокращают время *инициации* путем использования внутренних *стартовых кодонов*. Могут также происходить $-1/+1$ сдвиги рамки (см. *рамки сдвига*); смещения на расстояния до 50 нуклеотидов по последовательности мРНК, изменяющие границы *рамки считывания*; *перекодирование* для встраивания селеноцистеина и пирролизина в ответ на распознавание *стоп-кодонов*; энхансерные последовательности, способствующие инициации трансляции у прокариот. (в) Скорость экспрессии гена и число копий белка, которые могут быть получены с одной *матрицы*. Часто эти параметры относятся к частоте использования кодонов (см. *кодон, частота использования*). Примером может служить наличие нескольких *стартовых кодонов*, которые все расшифровываются *инициаторной тРНК*, но с разной эффективностью. (г) Длительность трансляции, связанная со стабильностью мРНК. На стабильность могут влиять вторич-

ная структура РНК и наличие специальных белков, которые связываются с 3'-нетранслируемой областью (UTR) и препятствуют доступу *нуклеаз*. Пример — регуляция баланса железа, включающая трансляцию трансферритина (мембранного рецептора железа, необходимого для усвоения ионов этого металла). При малом содержании железа регуляторные белки IRP1 и IRP2 имеют конформацию, позволяющую им связываться со шпильками мРНК (так называемыми железочувствительными элементами, IRE). Пять из них расположены на 3'-UTR и блокируют нуклеазную деградацию. Напротив, при высоких концентрациях железа IRP1 играет роль фермента-аконитазы, участвующего в цикле трикарбоновых кислот, и неспособен связываться с мРНК трансферритина, а IRP2 разрушается протеазами. В результате происходит деградация мРНК, уменьшение содержания трансферритина и, как следствие, уменьшение усвоения железа. (д) Место прохождения трансляции. Целевой транспорт и иммобилизация мРНК дают возможность точной пространственной локализации трансляции, которая, в свою очередь, играет решающую роль для осуществления множества процессов развития. К этим процессам относятся, например, разметка; определение осей тела в ооцитах генами Vg1 и Vg2; инициация образования головы и груди у *Drosophila* генами Bicoid (*bcd*) и Nanos (*nos*); разграничение между соматическими и генеративными клетками у *Drosophila*, регулируемое геном *Oskar* (*osk*); детерминация типов спаривания в материнских и дочерних клетках у *Saccharomyces cerevisiae* (регулируется геном ASH1); синаптическая пластичность, связанная с образованием межнейронных связей в процессе обучения. (е) Механизмы посттрансляционного контроля, включающие ковалентное присоединение или отщепление низкомолекулярных компонентов, например формилметионина, углеводов, ацетильной, биотиновой или фосфорильной групп. К дополнительным механизмам относятся образование цистеиновых мостиков, специфическое расщепление для удаления лидерных пептидов, наличие внутренних последовательностей (интеинов) или модификация предшественников — как в случае инсулина или протеазы трипсина.

Stefan Vörtler

Контрольные гены. См. *регуляторные гены*.

Конфигурация. Порядок расположения в пространстве атомов и структурных мотивов молекулы без учета *конформационных* различий. К. молекул описывает их постоянную геометрию. Все стереоизомеры (кроме конформеров) являются конфигурационными изомерами.

Bettina Appel

Конформация. Определяет строение молекулы. Если молекулы имеют одинаковый состав и одинаковую природу связей — это конформационные изомеры. Они различаются только вращением относительно одинарных связей. Применительно к полимерам различные *вторичные* и *третичные структуры* называют конформерами. Например, *A-, B- и Z-ДНК* — конформеры. В *нуклеотидах* азотистое основание может существовать в двух различных ориентациях относительно *N-гликозидной связи*: *анти-* и *син-конформациях*. Различные К. одного *нуклеотида* в молекулах ДНК и РНК

могут быть описаны восемью торсионными углами, характеризующими геометрию фуранозы основания и их взаимное расположение. См. *РНК структуры*.

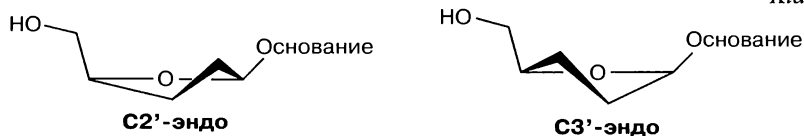
Bettina Appel

Конформация сахара. В целом конформация молекулы сахара зависит от торсионных углов вращения вокруг каждой из связей в кольце. *Рибоза* и *дезоксирибоза* образуют пятичленные кольца и в этих молекулах пять торсионных углов, которые могут быть соответствующим образом определены (см. *складчатость сахарного остатка, псевдовращение*).

Klaus Weisz

Конформация сахарного остатка. Пятичленное фуранозное кольцо не бывает плоским, так как это стерически и энергетически невыгодно. Обычно в нуклеотидах реализуются такие конформации, при которых атом кислорода С4' и соседние атомы компланарны, а С2' и С3' выведены из плоскости кольца. Фуранозное кольцо играет роль переключателя конформаций НК с преимущественно двумя устойчивыми конформерами С3'-эндо (N) и С2'-эндо (S), в которых соответственно 3'- и 2'-атомами углерода выведены в сторону основания. Конформацию пятичленного кольца также можно описать фазовым углом псевдовращения P (см. *псевдовращение, N-конформация, S-конформация*).

Klaus Weisz



Концевая дезоксинуклеотидилтрансфераза (TdT). Независимый от матрицы фермент, который катализирует добавление нуклеотидов к 3'-концу молекулы ДНК. Эта специализированная *ДНК-полимераза* нуждается в кобальте как в кофакторе (см. *независимая от матрицы ДНК-полимераза*).

Valeska Dombos

Концевая петля. См. *шпильчатые петли*.

Концевая трансфераза. См. *концевая дезоксинуклеотидилтрансфераза*.

Концевое мечение (терминальное мечение). Внедрение меток на 3'- или 5'-конец ДНК или РНК (см. *олигонуклеотидов мечение*).

Конъюгат. В химии нуклеиновых кислот частица с ковалентной связью, связывающей молекулу нуклеиновой кислоты, нуклеотида или нуклеозида с другой органической молекулой.

Snorri Th. Sigurdsson

Конъюгация. Сближение двух молекул с образованием *конъюгата*.

Корепрессор. Молекула белка или нуклеиновой кислоты, которая усиливает (аддитивно или синергически) репрессию, осуществляемую другой молекулой.

Коровая ДНК. Фрагмент ДНК размером 146 п. н., входящий в состав *коровой частицы* хроматина.

Коровая последовательность. *Консервативная последовательность*, ответственная за функции белка и соответствующая *каталитическому центру* белка или включенная в мотив *нуклеиновой кислоты*.

Коровая частица. В нуклеосоме К. ч. представляет собой фрагмент ДНК длиной 146 п. н., ассоциированную с так называемым гистоновым октамером (по две субъединицы *гистонов* H2A, H2B, H3 и H4). Кристаллическая структура К. ч. нуклеосомы была определена в 1997 г. с разрешением в 2,8 Å.
Mauro Santos

Короткий рассеянный повторенный элемент (SINE). Группа коротких рассеянных сходных последовательностей, часто обнаруживаемых в *геномах* млекопитающих. К этому семейству относятся Alu-элементы; длина их составляет около 300 п. н. и они весьма распространены в геноме человека.

Mauro Santos

Космида. Созданный средствами генетической инженерии *вектор*, содержащий генетические элементы фага и *плазмиды*; способен к встраиванию больших (в среднем 45 т. п. н.) фрагментов по сравнению с векторами на основе фагов (15 т. п. н.) и плазмид (1–10 т. п. н.). Из плазмиды заимствованы *ориджин репликации* и ген устойчивости к антибиотикам. Из фагового генома происходят *cos*-сайты, необходимые для упаковки космидных частиц. К. упакованы в капсиды и способны инфицировать хозяйские клетки. В результате этого происходит эффективное внедрение ДНК-вектора, который затем поддерживается и амплифицируется как гигантская плаزمид в хозяйской клетке.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

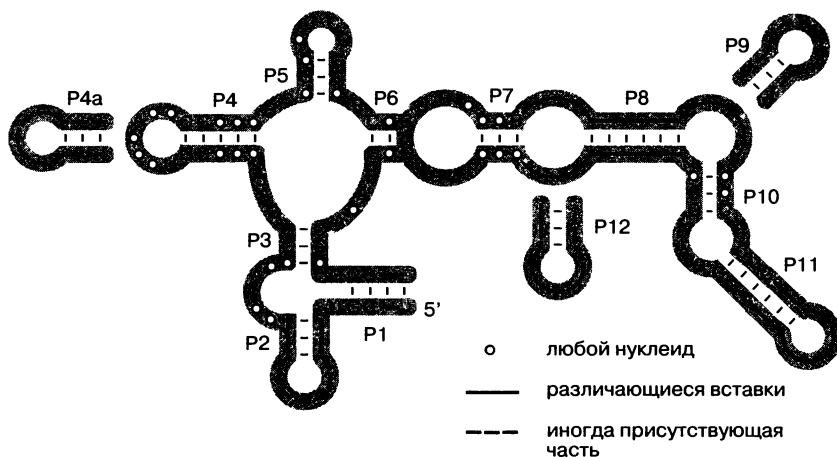
Котрансдукция. Одновременный перенос нескольких *генов* из одной клетки в другую при участии вируса (для эукариот) или фага (для бактерий).

Котрансфекция. Внедрение двух и более фрагментов ДНК в одну про- или эукариотическую клетку. Обычно используется, если требуется одновременная экспрессия двух и более *генов* в одной клетке.

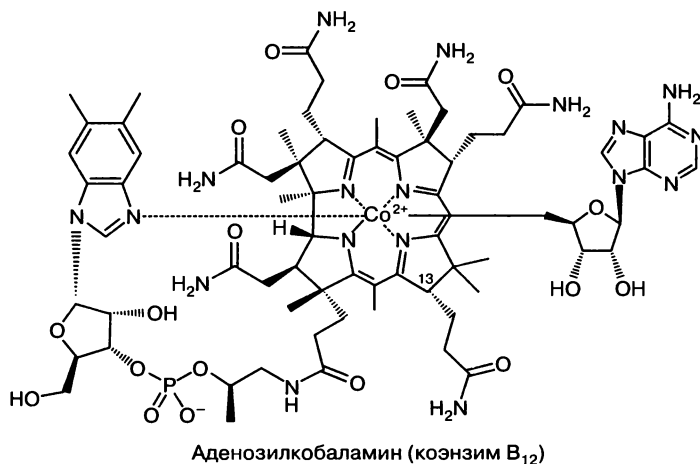
Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Коэкспрессия. Одновременная экспрессия двух и более *генов*. Обычно применительно к трансформированной или подвергнутой трансфекции клетке, содержащей различные экспрессионные конструкции.

Коэнзима В₁₂ рибопереклюатель. *Рибопереклюатель* коэнзима В₁₂ (аденозилкобаламина, AdoCbl), широко распространенный как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий, контролирует экспрессию *генов* транспорта и биосинтеза кобаламина. Филогенетически консервативный *аптамер* — одна из самых протяженных и сложно устроенных связывающих метаболиты последовательностей РНК, включающая до 12



AdoCbl-рибопереклюатель: консенсусная последовательность аптамера



субструктур типа *стебель—петля*. Эта особенность согласуется с тем, что AdoCbl одна из наиболее крупных молекул, взаимодействующих с *рибонепереклюателями*.

Узнавание AdoCbl аптамером предположительно носит модульный характер: домен P1—P7 связывает кобаламин, а домен P8—P11 — аденозиновую часть молекулы коэнзима. Этим объясняется высокая избирательность связывания аптамера с AdoCbl, но не со сходными соединениями — цианокобаламином, метилкобаламином (отличаются лигандом у центрального иона кобальта), а также, к примеру, 13-эпи-AdoCbl, который отличается от AdoCbl лишь пространственной конфигурацией у атома C13 в циклической кобинамидной системе.

Rüdiger Welz

Коэффициент закрученности (*Tw*). Используется также термин «закручение». В кольцевой молекуле ДНК *Tw* соответствует числу витков двойной спирали, а в релаксированном состоянии — отношению общего числа ну-

клеотидных пар к числу пар на один шаг спирали. Фактически — число витков двойной спирали (см. *сверхспирализованная ДНК, ДНК топология*).

Valeska Dombos

Коэффициент поглощения (коэффициент экстинкции). Коэффициент пропорциональности $a(\lambda)$ в законе Ламберта—Бера. К. п. зависит от длины волны следующим образом: $a(\lambda) = A / (c L)$, где A — *оптическая плотность*, L — длина оптического пути, а c — концентрация анализируемого вещества в растворе. К. п. зависит от длины волны. *Молярный коэффициент поглощения* ϵ — это характеристика 1 М раствора. В литературе ранее *молярный коэффициент поглощения* также называли *молярным коэффициентом экстинкции*. Обычно используется единица измерения л/(моль · см), но единица СИ — м²/моль.

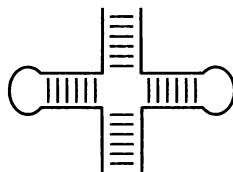
Valeska Dombos

Коэффициент скрючивания (Wr). Характеризует число сверхвитков в кольцевой молекуле ДНК и связан с формой оси спирали в пространстве. (см. *сверхспираль, сверхспирализованная ДНК*).

Коэффициент Хилла. Мера кооперативности множественного связывания лигандов с биомолекулами, получаемая экспериментально из *графика Хилла*. Чем выше К. Х., тем выше кооперативность. Наиболее известный пример — это связывание кислорода с гемоглобином, молекула которого представляет собой тетрамер из четырех белковых субъединиц. Для этой системы К. Х. равен 2,8. Значение К. Х., равное 1, указывает на то, что в системе нет кооперативного связывания (все сайты связывания независимы), а значение меньше 1 означает отрицательную кооперативность.

Christian Herrmann

Крестообразная структура. Неканоническая форма молекулы ДНК, образованная нуклеотидными последовательностями, содержащими *обращенные повторы* (*палиндромы*). В условиях отрицательной сверхспирализации вставка такой последовательности в двуцепочечной спирали В-ДНК способна к реорганизации с образованием К. с. двух двуцепочечных шпилек. Два вновь образовавшихся стебля шпилек и два стебля прерванной ДНК-спирали образуют в совокупности *четырёхстороннее соединение*. Образование К. с. связывают с различными регуляторными процессами.



Slawomir Gwiazda

Криптический ген. Молчащий *ген*, который в норме не экспрессируется в ходе клеточного цикла, но может быть активирован различными генетическими механизмами. Предполагается, что К. г. накапливают *мутации* и становятся необратимо инактивированными, так как не вносят своего нормального вклада в адаптивные способности, а потому должны быть редкими в популяциях. То обстоятельство, что такие гены широко распространены у микроорганизмов, указывает на наличие отбора в пользу их сохранения в популяции микробов.

Mauro Santos

Криптический сайт сплайсинга. Последовательность в молекуле *пре-мРНК*, которая сходна с аутентичными *консенсусными последовательностями сайтов сплайсинга*. В случае *мутации*, повреждающей естественный сайт сплайсинга в *гене*, молекулярная система сплайсинга может выбрать в качестве субстрата ближайший К. с. с. В результате формируется измененная полипептидная цепь с иными функциональными свойствами или полностью нефункциональный усеченный белок.

Bernd-Joachim Benecke

Кристаллизация нуклеиновых кислот. Разнообразие структур молекулы ДНК в норме ограничено правозакрученными формами двойной спирали (см. *В-ДНК*, *А-ДНК*); это связано с тем, что цепь ДНК в клетке всегда находит комплементарную себе. Иногда сообщается о последовательностях с более экзотическими структурами, таких как левозакрученная спираль (см. *Z-ДНК*), трехцепочечная организация, *G-квадруплексы* или *i-ДНК*). Особые структуры иного рода, например *структура Холлидея* или границы между различными формами спиралей, возникают в ДНК преимущественно или исключительно при связывании с белками. В условиях *in vitro* были синтезированы *ДНКзимы*, которые способны образовывать еще более сложные трехмерные структуры. Хотя двуцепочечные участки также являются основным структурным элементом молекул РНК, дополнительные одноцепочечные участки позволяют РНК формировать сложные пространственные конструкции, которые в итоге определяют их функцию, как это было показано в 1970-х гг. для молекулы транспортной РНК^{Phe}. Для экспериментального определения атомной структуры нуклеиновых кислот эффективно применяется рентгеноструктурный анализ. Для этого необходимо вырастить монокристаллы и анализировать дифракцию рентгеновского излучения на них.

После очистки в денатурирующих условиях изучаемая нуклеиновая кислота должна быть ренатурирована; для этого ее раствор в соответствующем буфере нагревают и медленно охлаждают. Эта процедура надежна в отношении коротких фрагментов двуцепочечных молекул нуклеиновых кислот. Для правильного сворачивания (фолдинга) молекул большего размера требуются дополнительные условия и введение в систему определенных компонентов. Во многих случаях необходимо добавить ионы двухвалентного металла, как правило, Mg^{2+} . Известны случаи, когда молекулы РНК при рефолдинге принимают нефункциональную конформацию. Иногда этого удается избежать, проводя денатурацию при высоких концентрациях мочевины, а затем — диализ. В любом случае биохимическая проверка функции целевой молекулы была бы полезна для выявления условий правильного сворачивания. Тем не менее высокая концентрация нуклеиновых кислот, необходимая для кристаллизации, может приводить к необычным результатам: например, молекулы, в норме образующие короткие шпильки, могут, наоборот, образовывать комплементарные димеры с внутренними участками, содержащими *неканонические пары оснований*. В ходе первых попыток кристаллизации РНК структуры типа *стебель—петля*, в норме образующие стабильные *тетранетли*, кристаллизовались совсем по-другому — с об-

разованием дуплексов, спаренных не по уотсон-криковским правилам. Для успешной кристаллизации образец растворяют в растворе с низкой концентрацией (например, 10 мМ) вещества, обладающего буферной емкостью, и небольшого количества компонента, необходимого для осуществления биологической функции нуклеиновой кислоты. Тогда растворы, добавляемые в ходе процедуры кристаллизации, могут оказывать наибольшее действие. При анализе РНК образец на последнем этапе должен быть проверен на наличие РНКазной активности, особенно если в систему в ходе кристаллизации добавляли белки.

При К. н. к. применимы те же подходы, что и при кристаллизации белков. Независимо от молекулярной массы при проверке на способность к кристаллизации оптимальная концентрация целевой молекулы составляет 5–10 мг/мл; 1–2 мМ для коротких олигонуклеотидов и 0,5 мМ для *рибозимов* среднего размера. К. н. к. чаще всего проводят методом диффузии примесей из газовой фазы с «сидячей» или «висячей» каплей. Для этого каплю раствора с целевыми молекулами размещают над большим объемом раствора, содержащим осадители и добавки. Систему изолируют и дают установиться равновесию путем перехода летучих компонентов из раствора в газовую фазу. Другой метод, когда для кристаллизации используют микропробу раствора нуклеиновой кислоты, содержащим осадитель; этот раствор покрывают слоем инертного масла, которое значительно уменьшает или предотвращает испарение. Пробы инкубируют при заданной температуре без дополнительной изоляции. При постановке обеих модификаций эксперимента вручную затраты образцов составляют около 1 мкл на пробу, а роботизация может уменьшить количество необходимого вещества более чем на порядок. Для дальнейшего снижения затрат образца перспективны микропроточно-матричные системы, основанные на чипах или методе свободной диффузии через поверхность раздела. В ходе проведения экспериментов по кристаллизации испытывают широкий ряд реагентов, которые могут способствовать кристаллизации. Поскольку провести полное исчерпывающее изучение всех вариантов невозможно (да и не нужно), обычно используют неполный факторный скрининг (разреженную матрицу), как и при кристаллизации белков. Можно применять любые коммерчески доступные скрины (наборы), первоначально разработанные именно для кристаллизации белков, но все-таки имеются компоненты, которые специфичны именно для кристаллизации нуклеиновых кислот и входят в состав специальных наборов. Как и в случае рефолдинга, полезными или даже необходимыми оказываются ионы двухвалентных металлов, так как они не только поддерживают собственно фолдинг, но и эффективно содействуют упаковке кристалла, играя роль противоиона к отрицательно заряженным фосфатным группам остова молекулы. То же относится и к полиаминам (таким, например, как спермин, спермидин или путресцин) или комплексам металлов с аминами (гексааммины кобальта или осмия). Последние также могут эффективно играть роль фазообразующего компонента системы. В качестве осадителей широко используют низкомолекулярные полиэтиленгликоли (PEG) или спирты (например, 2-метилпентан-2,4-диол, MPD).

После того как кристаллы получены, они должны быть подготовлены для рентгеноструктурного анализа. Традиционно измерение параметров кристаллов макромолекулярных веществ проводят в специальных тонкостенных стеклянных капиллярах, заполненных с одной стороны маточным раствором, чтобы избежать обезвоживания и потери порядка в кристаллической структуре. Проведение исследований при низких температурах позволяет существенно уменьшить потери в дифракционной картине, вызванные радиационным повреждением и его поглощением излучения. Обычно кристаллы макромолекул перед замораживанием помещают в криопротекторный раствор для предотвращения образования льда. В некоторых случаях роль криопротекторов могут играть также осадители (низкомолекулярный PEG, MPD). В других случаях требуется проверка криопротекторных свойств различных соединений, и существуют коммерчески доступные наборы криопротекторов. Синтетические маточные растворы с добавлением криопротекторов иногда вызывают дополнительное обезвоживание кристаллов, что приводит к повышению их упорядоченности и улучшению дифракционной картины.

Markus Wahl

Кроссинговер. Процесс в ходе мейоза, при котором происходит обмен генетическим материалом между *гомологичными хромосомами*. С процессом К. связана генетическая *рекомбинация*.

Mauro Santos

Кросс-линк. Связь или искусственно введенные атом или группа атомов, ковалентно соединяющие два атома из одной полимерной цепи (внутримолекулярный кросс-линк) или из двух полимерных цепей (межмолекулярный кросс-линк). См. *кросс-линкинг, кросс-линкер, кросс-линкинг в ДНК, кросс-линкинг под действием ультрафиолетового света, кросс-линкинг под действием лазерного облучения*.

Т. С. Орецкая, В. Г. Метелев

Кросс-линкер. Химический реагент, предназначенный для ковалентного соединения (*кросс-линкинга*) атомов (как правило, углерода, азота, серы) в *биополимерах*. Различают гомодифункциональные и гетеродифункциональные К.-л. Гомодифункциональные реагенты содержат две одинаковые реакционноспособные группы, и их обычно используют в одностадийных реакциях. У гетеродифункциональных реагентов две отличающиеся по химическим свойствам группы (например, одна взаимодействует с первичной аминогруппой, а другая — с меркаптогруппой), что позволяет проводить последовательные (двухстадийные) конъюгации, помогающие минимизировать нежелательную полимеризацию или самоконъюгацию. См. *кросс-линк, кросс-линкинг, кросс-линкинг в ДНК, кросс-линкинг под действием ультрафиолетового света, кросс-линкинг под действием лазерного облучения*.

Т. С. Орецкая, В. Г. Метелев

Кросс-линкинг ДНК. Происходит, когда экзогенные или эндогенные кросс-линкеры реагируют с двумя участками ДНК. При этом может происхо-

диль ковалентное связывание атомов одной и той же цепи (внутрицепочечный кросс-линкинг) или разных цепей ДНК (межцепочечный кросс-линкинг). Кросс-линкеры ДНК можно разделить на две группы. (а) *Экзогенные кросс-линкеры*, например 1,3-бис(2-хлорэтил)-1-нитрозомочевина и азотистый иприт; они образуют ковалентные связи в ДНК между N⁷ гуанинов противоположных цепей. *Цисплатин* и его производные вызывают как внутрицепочечный, так и межцепочечный кросс-линкинг, а также сшивки ДНК и связанных с ней белков. (б) *Эндогенные кросс-линкеры*, например (1) азотистая кислота, получающаяся в желудке из нитритов пищи, вызывает образование межцепочечных ковалентных связей в ДНК между аминогруппами гуанинов в d(CG) последовательностях; (2) малоновый диальдегид, который образуется в организме при перекисном окислении жиров; (3) псоралены — природные соединения (фурокумарины), встречающиеся у растений, активируются при облучении ультрафиолетовым светом и образуют ковалентные аддукты с пиримидинами. Реагируя с *timiном*, псоралены могут давать два типа моноаддуктов и один диаддукт (межцепочечный кросс-линк). Мишенями в последнем случае являются последовательности ТА в ДНК, при этом псоролены интеркалируют в ДНК и связывают тимины противоположных цепей. Аддукты псораленов вызывают остановку репликации и их используют в лечении псориаза и витилиго. (4). Акролеин и кротоновый альдегид, обнаруженные в табачном дыме и автомобильных выхлопных газах, могут вызывать кросс-линкинг ДНК. См. *кросс-линк, кросс-линкинг, кросс-линкинг под действием ультрафиолетового света, кросс-линкинг под действием лазерного облучения*.

Т. С. Орецкая, В. Г. Метелев

Кросс-линкинг под действием лазерного облучения. Имеет некоторые преимущества по сравнению с методами, где используются источники света малой интенсивности. Эти преимущества определяются большой интенсивностью излучения при низком рассеивании светового пучка или большим количеством фотонов, испускаемых лазером за один нано- или пикосекундный импульс. Индуцированное лазером образование катион-радикалов происходит с высоким квантовым выходом, что приводит к большей эффективности *кросс-линкинга* (эффективность этого метода почти на два порядка выше, чем для традиционных источников ультрафиолетового излучения). В этих условиях возможно образование *кросс-линков*, которые не могут возникнуть при использовании обычных ультрафиолетовых ламп. Образование ковалентных связей само по себе происходит гораздо быстрее, чем за 1 мкс, что позволяет избежать нежелательных «сшивков» между молекулами, поврежденными излучением, и дает возможность уловить быстрые динамические изменения во *взаимодействиях белок—ДНК*. *Кросс-линкинг под действием лазерного облучения* был использован *in vitro* для изучения различных аспектов взаимодействия белок—ДНК, включая измерение констант связывания, определения точек контакта и области связывания ДНК с белком при образовании комплекса (см. *кросс-линк, кросс-линкинг, кросс-линкинг под действием ультрафиолетового света*).

Т. С. Орецкая, В. Г. Метелев

Кросс-линкинг под действием УФ-света. Прямое ковалентное связывание немодифицированных нуклеиновых кислот с белками, подложкой или другими полимерами под действием ультрафиолетового излучения. Например, азотистые основания в РНК, особенно *урацил*, при облучении ультрафиолетовым светом становятся высокоактивными, способными к образованию ковалентных связей с аминок группами на поверхности мембраны. Нужно соблюдать предосторожность и для получения оптимальных результатов избегать слишком малых или больших доз ультрафиолетового облучения РНК. Облучение образцов в течение одной минуты при длине волны 254 нм или трех минут при 302 нм считается достаточным. Облучение ультрафиолетовым светом приводит к образованию *кросс-линков* нулевой длины и по сравнению с химическими реагентами значительно меньше нарушает структуру изучаемого комплекса.

Кросс-линкинг под действием УФ-света может происходить и в случае фотоаффинного мечения макромолекул. Например, производные арилазида стали особенно популярными среди фотоактивируемых аналогов нуклеиновых кислот в связи с их высокой реакционной способностью. *Нуклеозиды*, содержащие арилазидные группы, могут быть встроены в *нуклеиновые кислоты* ферментативными или химическими методами (см. *олигонуклеотидов синтез*). Основные недостатки арилазидов — отсутствие селективности в связывании с белками и большой размер группы, что может приводить к локальным нарушениям структуры комплекса нуклеиновой кислоты с белком и к неспецифическому *кросс-линкингу* с удаленными частями белка. Тем не менее этот тип модификации нуклеиновых кислот широко применяется при изучении структуры их комплексов с белками. Среди других часто используемых фотоактивируемых производных нуклеиновых кислот нужно отметить 5-галогенпиримидиновые и 8-галогенпуриновые нуклеозиды. Фотолит этих фотоактивируемых нуклеиновых кислот приводит к образованию стабильных радикалов, которые реагируют с аминокислотными остатками белков, особенно с ароматическими и серосодержащими боковыми группами, служащими донорами электронов. В случае бромпроизводных для отрыва атома галогена требуется излучение оптимальной длины волны 308 нм, в то время как для иода из йодированных соединений — 325 нм. При увеличении длины волны излучения уменьшаются повреждения белков и нуклеиновых кислот, однако и выход продуктов с фотоактивируемыми метками уменьшается. Благодаря малому размеру брома и иода (ван-дер-ваальсовы радиусы атомов иода и брома примерно соизмеримы с метильной группой) атомы галогенов не вызывают существенных изменений в структуре нуклеиновых кислот и не мешают их узнаванию белками. Это делает галогенпроизводные нуклеиновых кислот привлекательными инструментами для исследования взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами в *сайтах связывания биополимеров*. См. *кросс-линк*, *кросс-линкинг*, *кросс-линкинг под действием лазерного облучения*.

Т. С. Орецкая, В. Г. Метелев

Кросс-линкинг. Реакция соединения между двумя (или более) сложными макромолекулами с образованием ковалентной связи. В применении к *нуклеиновым кислотам* и/или белкам эту реакцию чаще называют биоконъю-

гацией. К.-л. может происходить под действием химических реагентов, ультрафиолетового света или при бомбардировке электронами. Образование ковалентной связи между белками и нуклеиновыми кислотами достигается при использовании неспецифических связывающих реагентов (например, формальдегида) или селективным введением реакционноспособных групп в нуклеиновую кислоту (НК-реагент) или белок. В большинстве случаев *кросс-линкеры* содержат две и более активные группы, специфичные по отношению к первичным амино-, сульфгидрильным и другим группам, которые изначально содержатся в природных *биополимерах* или искусственно введены в эти молекулы. Такие реагенты были использованы при изучении ближних взаимодействий, третичной структуры белков и молекулярных ассоциатов в клеточных мембранах. Кроме того, они оказались полезными для иммобилизации биополимеров на твердый носитель, конъюгации гаптен с белками-переносчиками, получении конъюгатов антитело—фермент, иммунотоксинов и других меченых белковых реагентов. Такие реагенты применяют при модификации нуклеиновых кислот, лекарственных препаратов и твердых поверхностей. К.-л. необратим, за исключением случаев, когда химическая природа образующихся связей отличается от того, что реализуется в биомакромолекулах. Во многих исследованиях комплексов нуклеиновых кислот с белками используются НК-реагенты, содержащие искусственно введенные реакционноспособные группы, которые без всяких внешних факторов и, как правило, селективно взаимодействуют с пространственно сближенными боковыми группами белка. Введение активных функциональных групп в заранее выбранные положения олигонуклеотидной цепи позволяет выявить участки контактов биомолекул, а при варьировании химической природы активной группы изучить селективное связывание определенного аминокислотного остатка в комплексе белка с нуклеиновой кислотой. Реакционноспособные группы можно вводить практически в любое положение нуклеиновой кислоты (в гетероцикл основания, в сахарофосфатный остов или в 5'- или 3'-конец). С помощью белковой инженерии возможна замена отдельных «неактивных» для К.-л. аминокислот белка на «активные», такие как лизин или цистеин. Например, для создания дисульфидной «ловушки» потребовалось введение цистеина в ДНК-связывающую область белка методом сайт-направленного мутагенеза и алкантиольной группы в близлежащий белоксвязывающий участок ДНК, что позволило в условиях тиолдисульфидного обмена получить продукт К.-л. с выходом более 80%. Применение этой технологии требует знания вероятных точек контакта белка и ДНК. См. *кросс-линк*, *кросс-линкинг в ДНК*, *кросс-линкинг под действием ультрафиолетового света*, *кросс-линкинг под действием лазерного облучения*.

Т. С. Орецкая, В. Г. Метелев

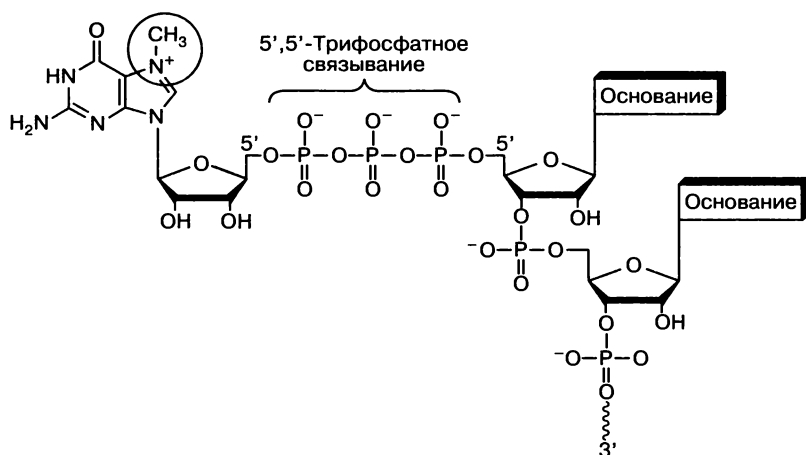
Кручение. См. *коэффициент закрученности*.

Ксилоза. Моносахарид из группы пентоз ($C_5H_{10}O_5$; 150,13 г/моль); существует в двух энантиомерных конформациях: D(–)-ксилоза и L(+)-ксилоза.

Ксилонуклеотиды. Структурные аналоги *рибонуклеотидов*, в которых *рибоза* заменена на *ксилозу*.

Кэп. Ранняя посттранскрипционная модификация 5'-конца растущей эукариотической *пре-мРНК*, осуществляемая гуанилилтрансферазой. Преобразование заключается в добавлении дополнительного остатка *ГМФ* к стартовому нуклеотиду (+1), который всегда является пурином. В ходе этой реакции происходит удаление фосфата на стартовом нуклеотиде, а остаток ГМФ присоединяется к цепи РНК с необычным 5'–5'-трифосфатным мостиком с образованием уникального элемента m^7GpppN . Структура кэпа подвергается нескольким реакциям метилирования. На первой стадии всегда метилируется положение N7 дополнительного ГМФ, в результате чего образуется 7-метилгуанозиновый нуклеотид (m^7G). Обычно затем происходит метилирование 2'-гидроксила стартового нуклеотида, что приводит к образованию 2'-О-метильной группы. Дальнейшее метилирование может происходить по положению N6, если стартовый нуклеотид — аденин. У некоторых видов 2'-О-метилирование происходит также в третьем нуклеотиде кэпированной мРНК. Процесс кэпирования мРНК эукариот важен для успешной инициации *трансляции*. К. иной структуры присутствует в молекулах *U-мяРНК* и *малой ядрышковой РНК*.

Bernd-Joachim Benecke, Tina Persson



Структура кэпа

Кэпирование. Маскирование функциональных групп на твердофазной подложке с целью защиты их в последующем цикле синтеза. См. *олигонуклеотидов синтез*.

Кэпсвязывающий белок. Белок с молекулярной массой 24 кДа, имеющий сродство к *кэпу* на 5'-конце *матричной РНК* (мРНК), который предположительно содействует другим факторам инициации *трансляции* и способствует связыванию мРНК с 40S-субъединицей рибосомы.

Georg Sczakiel

Л

Ламберта—Бера закон (Бера закон). Описывает взаимосвязь *оптической плотности* и концентрации светопоглощающего компонента:

$$A = a(\lambda) \cdot L \cdot c$$

где A — измеренная оптическая плотность, $a(\lambda)$ — *коэффициент поглощения*, зависящий от длины волны, L — длина пройденного светом пути, c — концентрация анализируемого вещества в растворе. Л.—Б. з. часто применяют при фотометрическом определении концентрации растворов нуклеиновых кислот в растворе. При работе с молярными концентрациями требуется знание *молярного коэффициента поглощения* ε :

$$A = \varepsilon \cdot L \cdot c$$

Л.—Б. з. имеет ряд ограничений, связанных с химической природой вещества и техническими возможностями приборного оснащения, один из них — высокая концентрация вещества в анализируемом растворе. При концентрациях более 0,01 моль/л молекулы в анализируемом растворе сближаются настолько, что между ними возникают электростатические взаимодействия, изменяющие *коэффициент поглощения*. Рассеяние света искажает результаты измерений, равно как и фосфоресценция и флуоресценция образца, а также зависящее от концентрации смещение химического равновесия. Кроме того, высокая концентрация анализируемого раствора влияет на показатель преломления раствора, причем наблюдается нелинейная зависимость.

Valeska Dombos

Лариат. Кольцевой (точнее, лассоподобный) элемент РНК, образующийся в ходе *сплайсинга* из интронов *пре-мРНК*. В результате нуклеофильной атаки 2'-гидроксильной группы А-нуклеотида *точки ветвления* на 5'-сайт сплайсинга образуется 2',5'-*фосфодиефирная связь* и образуется кольцевая структура РНК. После расщепления в 3'-сайте сплайсинга примерно на 30 нуклеотидов *ниже* точки ветвления *интрон* высвобождается в форме Л. Для последующей деградации Л. требуется специфическая *рибонуклеаза*.

Bernd-Joachim Benecke

Латентные гены. *Гены*, которые не экспрессируются, но имеют все элементы для нормальной экспрессии при определенных условиях.

Левозакрученная ДНК. В противоположность традиционным правозакрученным двойным спиральям ДНК (А-, В-, С- и D-формы) в Л. Д. (см. *Z-ДНК*) поворот между соседними основаниями (парами оснований) происходит против часовой стрелки при движении вдоль оси спирали от начала к концу.

Н. Г. Долинная

Лигаза. Фермент, который катализирует соединение двух молекул с образованием новой химической связи — *фосфодиефирной связи* между соседними 5'-фосфатным и 3'-гидроксильными группами в молекуле ДНК или РНК. Соединяет также *тупые концы* и *липкие концы*, репарирует одноцепочечные *ники* в молекулах нуклеиновых кислот.

Annegret Wilde

Лигазная цепная реакция. Метод детектирования *однонуклеотидных мутаций*, особенно часто используется при выявлении *однонуклеотидных полиморфизмов*. *Праймер* конструируют таким образом, что два коротких *олигонуклеотида* отжигаются на *матрице*, которая может содержать *мутацию* на границе двух фрагментов праймера. *ДНК-лигаза* может произвести лигирование двух фрагментов только в том случае, если есть точное соответствие последовательности матрицы. Последующая *полимеразная цепная реакция* приведет к амплификации, только если происходит успешное лигирование частей праймера.

David Loakes

Лиганд. Молекула, которая специфически связывается с другой молекулой. В биологии этот термин относят к небольшим молекулам, которые связываются с белком, рецептором или нуклеиновой кислотой, тем самым вызывая ответ (например, активацию или инактивацию фермента). Связывание Л. приводит к конформационным изменениям в молекуле-мишени, изменяя ее реакционную способность. Процесс обратим, равно как и вызываемый эффект. См. *рибопереклюватели*.

Valeska Dombos

Лиганд-индуцированное рибопереключение. См. *рибопереклюватели*.

Лигирование в ходе амплификации (LDA). Метод *мутагенеза* по отношению к определенному *нуклеотиду* в *плазмиде* (см. *сайт-направленный мутагенез*).

Лигирование шиной. Ферментативный метод для соединения двух *фрагментов* молекул нуклеиновых кислот. Для достижения эффективного лигирования два фрагмента гибридизируют с короткой *комплементарной ДНК-матрицей* (шиной), которая соединяет части сайта лигирования и ориентирует два конца, подлежащих соединению (см. *ДНК-лигаза*, *лигаза*, *лигирование*).

Sabine Müller

Лигирование. Ферментативное образование *фосфодиэфирной связи*, соединяющей концы двух молекул *нуклеиновых кислот* (ДНК или РНК) с участием *лигаз*.

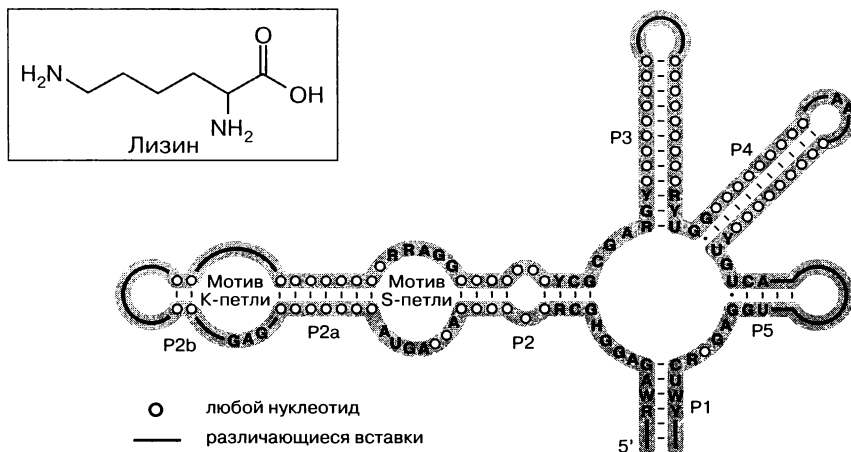
Лидерная последовательность. (а) Транскрибируемая часть эукариотического *гена*, которая следует за *кэпом* и предшествует *стартовому кодону*. (б) Специальная последовательность на 5'-конце прокариотической *матричной РНК*, которая не транслируется в белок. Она содержит *сайт связывания рибосомы*, также известный как последовательность Шайна–Дальгарно (см. *Шайна–Дальгарно последовательность*). (в) N-концевая аминокислотная последовательность секретируемых белков. В ходе или по окончании процесса секреции эта последовательность отщепляется.

Matthäus Janczyk

Лидирующая цепь. Цепь молекулы ДНК, которая в ходе *репликации* синтезируется непрерывно в 5'-3'-направлении.

Лизиновый рибопереклюатель. Консервативный домен на матричной РНК нескольких видов бактерий. Он находится *выше генов*, участвующих в биосинтезе лизина, и по механизму *терминации транскрипции* подавляет их экспрессию при повышенном уровне лизина (см. *рибопереклюатели*). Определенная филогенетическим анализом *консенсусная последовательность аптамера* укладывается в структуру из пяти доменов *стебель—петля* или шпилек, окружающих центральное ядро, которое почти полностью состоит из очень *консервативных нуклеотидов*. Консервативная петля между стеблями P2 и P2a формирует консенсусную последовательность мотива LS-поворота, что приводит к появлению резкого изгиба в спиральях РНК (в некоторых случаях петли P2a/P2b, вероятно, несут дополнительный мотив *K-поворота*). Возможно, именно это позволяет РНК сворачиваться в компактную структуру для специфического связывания L-лизина при наличии множества очень похожих природных соединений. Аптамер отсекает аналоги, такие как орнитин и гомолизин, которые отличаются только по длине боковой цепи, и даже эффективен против D-лизина. Интересно, что лизиновый рибопереклюатель проявляет высокую аффинность в отношении S-(2-аминоэтил)-L-цистеина (АЕС) — соединения, которое может заменять L-лизин в клеточных реакциях (т. е. антиметаболит) и токсичное для многих бактерий. В соответствии с этими данными, *мутации*, приводящие к возникновению устойчивых к АЕС штаммов бактерий, можно картировать по лизиновому аптамеру, в консервативной структуре которого они и вызывают нарушения. Таким образом, рибопереклюатели могут стать потенциальными мишенями для лекарств. См. *тиаминафосфатный рибопереклюатель*.

Rüdiger Welz



Консенсусная последовательность аптамера лизинового рибопереклюателя

Линкер. Связывающая молекула, например, между *флуоресцентной меткой* и *нуклеиновой кислотой*. Обычно представляет собой гибкую цепь длиной 3–12 атомов.

Snorri Th. Sigurdsson

Липкие концы. Короткие выступающие одноцепочечные концы линейной молекулы *двуцепочечной ДНК*, обычно формирующиеся под действием *эндонуклеаз рестрикции* (например, *HindIII*). Комплементарные одноцепочечные концы часто используют для соединения фрагментов ДНК (см. *лигирование*). К природным Л. к. относятся *cos*-сайты (*cohesive sites*) ДНК фага λ . ДНК этого фага на обоих концах молекулы содержит одонуклеотидные выступы из 12 нуклеотидов комплементарных друг другу. После заражения хозяйской клетки молекулы фаговой ДНК замыкаются в кольцо с использованием Л. к.

Annegret Wilde

Липких концов лигирование. Ферментативное соединение *липких концов* рестриктных фрагментов, осуществляемое *ДНК-лигазой* (см. *тупых концов лигирование, лигирование*).

Логические вентили на основе дезоксирибозимов и рибозимов. Молекулярные логические вентили взаимодействуют с одним (или более) компонентом в растворе и изменяют свои свойства (функции) согласно целому набору правил. Эти правила могут быть интерпретированы как булевы функции. Катализаторы на основе нуклеиновых кислот функционируют как логические вентили, если они интегрируют информацию о присутствии (1) или отсутствии (0) одного или нескольких аллостерических модуляторов и если они производят (1) или не производят (0) конечный продукт. Правила, соотносящие значения функционального продукта (1 или 0) со всеми возможными комбинациями входных условий, могут быть представлены в виде таблицы истинности. Описаны логические вентили, анализирующие наличие в системе небольших молекул и *олигонуклеотидов*. К логическим вентилям относятся: (а) сенсорные вентили (например, *каталитические молекулярные маяки, рибопереключатели и аптазимы*); (б) НЕ-вентили, которые анализируют присутствие или отсутствие одного начального фактора и производят продукт, если этот фактор отсутствует; (в) И-вентили (анализ присутствия/отсутствия двух факторов и производство конечного продукта, если присутствуют оба); (г) ИЛИ-вентили (анализ присутствия/отсутствия двух факторов, производство продукта, если присутствует один или оба фактора); (д) ИЛИ-НЕ-вентили (моделирование присутствия или отсутствия двух условий и функционирование, если первое присутствует, а второе — нет); (е) И-И-НЕ-вентили, которые анализируют присутствие или отсутствие в системе трех факторов и функционируют при наличии первых двух в сочетании с отсутствием третьего. Известны примеры логических вентилях на основе ферментов *фосфодиэстеразы* и *лигазы*.

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

Логические вентили. См. *логические вентили на основе дезоксирибозимов и рибозимов*.

Локус. Специфический сайт, занимаемый *геном* на *хромосоме*. Все аллели одного гена расположены в одном и том же Л.

Локусы количественных признаков (QTL). *Гены*, контролирующие развитие *количественных признаков*.

М

Мажорная тРНК. *Транспортная РНК* (тРНК) в семействе *изоакцепторов*, которая чаще других используется для расшифровки определенной аминокислоты (см. *кодон*, *частота использования*) и присутствует в клетке в высоких концентрациях. Остальные, используемые реже тРНК, обычно называют *минорными тРНК*.

Stefan Vörtler

Макромолекула. Молекула с большой молекулярной массой. Термин обычно относят к полимерам, в том числе и *биополимерам* (полипептидам, полисахаридам, нуклеиновым кислотам). Цепь ДНК или РНК представляет собой пример такой М.

Matthäus Janczyk

Макросателлит. Изменчивый *тандемный повтор нуклеотидов* длиной от 500 до нескольких тысяч пар нуклеотидов (т. п. н.). Может иметь протяженность более 100 т. п. н.

Mauro Santos

Максизим. *Аллостерический рибозим*, состоящий из двух структурных единиц — *минизимов*. Один из них связывает мишень и таким образом выполняет аллостерический контроль. Второй расщепляет субстрат в ответ на событие связывания. Название представляет собой анаграмму от «минимизированный, активный, Х-образный, интеллектуальный рибозим».

Denise Strohbach

Малая субъединица рибосомы. См. *рибосома*.

Малая цитоплазматическая РНК (мцРНК). Любая из многочисленного класса мцРНК, которые присутствуют преимущественно или исключительно в цитоплазме эукариотических клеток. Напротив, *малые ядерные РНК* встречаются только в ядре клетки.

Georg Sczakiel

Малая шпилечная РНК. См. *мшРНК*.

Малая ядерная РНК (мяРНК). Небольшие стабильные молекулы РНК, преимущественно локализованные в ядре. Часто термин относят исключительно к сплайсосомным РНК (см. *сплайсосома*), хотя к этой же группе, безусловно, принадлежат и другие виды РНК (например, *7S К-РНК*). Молекулы мяРНК синтезируются *РНК-полимеразами* II и III. В некоторых случаях мяРНК синтезируются в виде предшественников, которые для получения зрелых мяРНК должны быть процессированы (см. *РНК процессинг*). Это созревание может происходить в цитоплазме. Молекулы мяРНК перемещаются, как челноки, между ядром и цитоплазмой, хотя большинство молекул находятся в ядре. За исключением *7S К-РНК*, молекулы мяРНК входят в состав стабильных комплексов — *малых ядерных рибонуклеопротеинов*.

Bernd-Joachim Benecke

Малые интерферирующие РНК (сиРНК). Молекулы РНК длиной 21–25 нуклеотидов, которые у эукариот участвуют в *репрессии* экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) по механизму, зависящему от последовательности *РНК-интерференции* (РНКи). Природная роль сиРНК связана с подавлением экспрессии вирусных генов и элементов *повторяющейся ДНК*, тем самым обеспечивая защиту клетки от вирусов и повышая стабильность *генома*. Однако наиболее широкое применение сиРНК связано с их возможностями в качестве детерминанта специфичности при нокауте целевых *генов*. Эта особенность сделала сиРНК ценным инструментом функциональной геномики и потенциальным терапевтическим средством при лечении различных вирусных и наследственных заболеваний. Механизм действия сиРНК сходен с таковым для миРНК, но их биогенез различен. Эндогенные сиРНК образуются из длинных *двуцепочечных РНК*-предшественников при их расщеплении *эндонуклеазой Dicer*, подобной *РНКазе III*. Молекулы сиРНК доставляются несколькими способами, которые различны у разных организмов. Нематоды могут быть погружены в раствор сиРНК или их можно кормить бактериями, продуцирующими *двуцепочечные РНК*. Применительно к клеткам человека используют две стратегии. С одной стороны, *малая шпилечная РНК* может быть транскрибирована *полимеразой III* после *трансфекции* соответствующего *вектора*. С другой стороны, *дуплексы* сиРНК, имитирующие продукты расщепления эндонуклеазой *Dicer*, могут быть напрямую трансфецированы в клетку. При конструировании сиРНК необходимо учесть ряд важных обстоятельств. Так, только одна цепь из *двуцепочечных* продуктов расщепления участвует в РНКи. Важно принять во внимание, что мишенью действия одной сиРНК могут быть несколько генов, пусть даже с меньшей комплементарностью (так называемый нецелевой эффект).

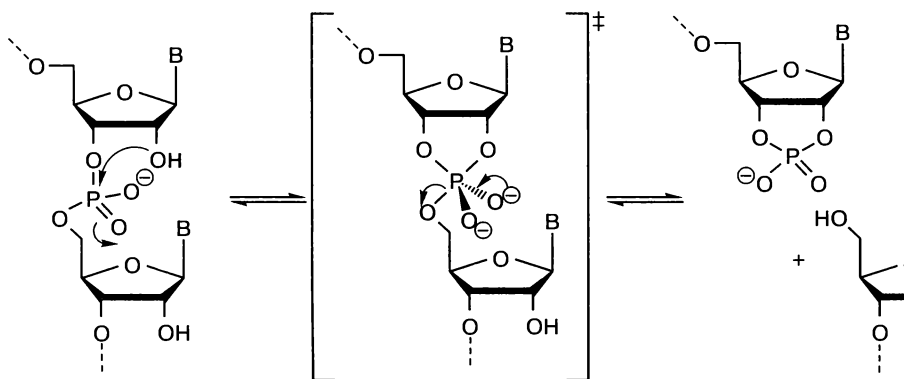
Nicolas Piganeau

Малые нуклеолитические рибозимы. Класс *рибозимов*, к которым относятся *шпилечный рибозим*, *молотоголовый рибозим*, *рибозим вируса гепатита дельта* и *рибозим сателлита Варкуд*. Эти рибозимы представляют собой небольшие молекулы РНК примерно из 40–160 нуклеотидов, которые катализируют сайтспецифическое обратимое расщепление РНК. Они обнаруживаются в вирусной, вирусоидной и *сателлитной* РНК, где принимают участие в процессинге мультимерных продуктов амплификации по типу *катающегося кольца* в *полногеномных* цепях. Недавно еще два каталитических мотива РНК, катализирующих такой же тип реакций расщепления, были обнаружены в мРНК некоторых грамположительных бактерий (см. *рибозим glmS*) и в *транскрипте* β -глобиновых генов человека (см. *рибозим CoTS*). Реакция расщепления происходит с помощью *атаки «в линию»* 2'-гидроксильной группы по ближайшему атому фосфора, что приводит к переносу 5'-атома кислорода на ближайшую *рибозу* и к образованию *2',3'-циклического фосфата*. Реакция проходит по механизму S_N2 , сопровождающемуся инверсией конфигурации фосфора. *Переходным состоянием* является оксифосфорановый интермедиат с тригональной бипирамидальной структурой, содержащей атакующий 2'-О и уходящий 5'-О в апикальных позициях. Обратная реакция также эффективно катализируется при атаке кислорода свободной 5'-гидроксильной группы одного фрагмента РНК на фосфор *циклической 2',3'-фосфатной группы* другого, что приводит к агрегирова-

нию двух фрагментов посредством разрыва кольца и освобождения 2'-гидроксила.

Малые нуклеолитические рибозимы катализируют ту же реакцию, что и многие белковые *РНКа*зы. Однако они действуют только на специфические фосфодиэфирные связи. В размещении сайта расщепления внутри *активного центра* рибозима в основном участвуют спаривание *оснований* и иногда *третичные взаимодействия*. Стратегии катализа, используемые этими рибозимами, включают *общий кислотно-основной катализ*, стабилизацию заряда и конформационные эффекты, такие как сближение и ориентация для расположения атакующего нуклеофила «в линию».

Sabine Müller



Малые ядрышковые РНК (мякРНК). *Малые ядерные РНК*, расположенные в ядрышке; их число постоянно увеличивается (известно более 150). Вовлечены в процессинг и модификацию предшественников *рибосомной РНК* (рРНК, см. *пре-рРНК*, *РНК процессинг*). Транскрибируются *РНК-полимеразами* II и III, некоторые закодированы в *интронах* других *генов*. Транскрибируемые полимеразой II мякРНК неинтронного происхождения претерпевают экпирование — присоединение *триметилгуанозинового кэпа*. Содержащие С/D-бокс мякРНК объединены в семейство *гидовых рибосомных РНК* для 2'-О-метилирования. Содержащие Н/АСА-бокс мякРНК контролируют псевдоуридилирование рРНК (см. *псевдоуридин*). Некоторые РНК обоих семейств участвуют в расщеплении молекул *пре-рРНК*.

Bernd-Joachim Benecke

Малый желобок. *Сахарофосфатные остовы* двух цепей ДНК, спаренные основания которых уложены стопкой внутри дуплексной структуры, образуют на поверхности двойной спирали стенки большого и малого желобков, которые обвиваются вокруг оси. Параметры желобка (глубина и ширина) зависят от *вторичной структуры* спирали ДНК. М. ж. по сравнению с *большим желобком* обладает меньшими возможностями для считывания информации о нуклеотидной последовательности участков ДНК. В М. ж. обращены кислород (O2) пиримидинов и азот (N3) пуринов. Это имеет важное функциональное значение. В частности, именно М. ж. ДНК в В-форме контактирует с ядром *гистонов*.

Н. Г. Долинная

Малый желобок связывающие полиамиды. Полиамиды, которые могут быть сконструированы на основе трех ароматических аминов: гидроксипиррола (Hr), имидазола (Im) и пиррола (Py). Пара Im/Py специфически узнает пару G-C, пара Hr/Py — пару C-G. Аналогичным образом пара Hr/Py специфически связывается с T-A, а Py/Hr — с A-T. С помощью этого трехбуквенного «аминного кода» могут быть синтезированы пиррол-имидазольные полиамиды, которые образуют шпилькоподобную структуру со спариванием аминов и могут специфически взаимодействовать с целевой последовательностью ДНК. Эта концепция была предложена Питером Дерваном с коллегами и используется для разработки стратегий молекулярного распознавания, регуляции экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) и создания искусственных *транскрипционных факторов*.

Sabine Müller

Малый ядерный рибонуклеопротейн (мяРНП). Стабильный комплекс, образованный молекулами *малых ядерных РНК* и несколькими белками. Белки этих комплексов могут различаться для разных РНП или, как в случае сплайсосомного РНП, быть общими для нескольких комплексов.

Bernd-Joachim Benecke

Малый ядрышковый рибонуклеопротейн. Комплекс белков и *малых ядрышковых РНК* (мякРНК) в ядрышке. Ответствен за модификацию *рибосомных РНК* (рРНК). М. я. р., в состав которых входят содержащие C/D-бокс малые ядрышковые РНК, катализируют 2'-О-метилование рРНК. Комплексы с H/ACA-боксосодержащими РНК катализируют псевдоуридилрование рРНК.

Valeska Dombos

Манипуляция с генами. Модификация генетического материала (ДНК) *гена* с использованием методов на основе рекомбинации ДНК.

Маркер молекулярной массы. Молекула ДНК, РНК или белка с известным размером, используемая для приблизительной оценки массы ДНК, РНК или белка в агарозном или полиакриламидном геле. Если размер молекулы неизвестен, часто используют «лестницу» фрагментов ДНК, РНК или белка, содержащую пул фрагментов различной (но известной) массы. Из-за того что фрагменты различаются по размеру, в ходе *гель-электрофореза* маркер образует «лестницу». Сравнивая анализируемый фрагмент с фрагментами маркера, можно определить размер его молекулы.

Irene Drude

Маркерная хромосома. *Хромосома* с аномальной структурой, отличимая по виду, но не идентифицируемая полностью; не «маркер» в клиническом смысле, т. е. не связана с риском развития определенного заболевания; ее маркерные свойства связаны с возможностью отличить ее от нормальных хромосом при микроскопировании.

Mauro Santos

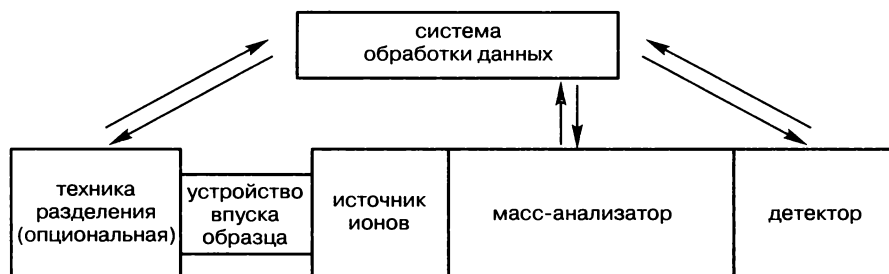
Маркерная экспрессирующаяся последовательность (EST). Сайт с известной последовательностью, непосредственно соответствующий экспрессирующемуся *гену*.

Маскированный нуклеозид/нуклеотид. См. *связанный нуклеозид/нуклеотид*.

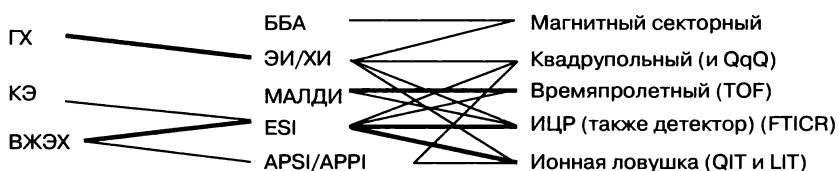
Масс-спектрометрия (МС) в исследованиях ДНК. Метод предоставляет широкие возможности для анализа ДНК. На рисунке схематически показаны наиболее распространенные комбинации методов разделения компонентов, ионных источников и масс-анализаторов. Расшифровки сокращений см. *масс-спектрометрия (МС): термины и определения*.

МС дает возможность количественной оценки (особенно в комбинированных методах: *газовая хроматография—масс-спектрометрия*, *МС—капиллярный электрофорез*, *жидкостная хроматография—масс-спектрометрия*) и позволяет осуществить одновременный анализ смесей компонентов (*МС с матрично-активированной лазерной десорбцией-ионизацией и времяпролетным масс-анализатором*, *МС с ионизацией электрораспылением*). Дополнительную структурную информацию дает фрагментация аналита. Предел обнаружения составляет несколько фемтомолей (10^{-15} моль), т. е. метод лишь ненамного менее чувствителен, чем ^{32}P -постмечение. Столь высокая чувствительность в сочетании с возможностью структурного анализа неразделенных или минорных компонентов позволяет проводить анализ неизвестных компонентов. В частности, это означает уникальный потенциал метода МС в исследованиях ДНК, хотя перенос ДНК и сходных с ней веществ в газовую фазу представляет собой задачу еще более сложную, чем ионизация пептидов. Могут быть проанализированы аддукты, образованные путем *метилования* и алкилирования, под действием *цисплатина* и прочих противоопухолевых препаратов, а также ую-

а



б



Масс-спектрометрия (МС) в исследованиях ДНК. а — принципиальная схема масс-спектрометра. После устройства для предварительного разделения (необязательное) располагается система напуска. Образование ионов происходит в далее расположенном источнике ионов под атмосферным давлением или в вакууме. Разделенные на масс-анализаторе ионы детектируют. б — соединение отдельных узлов в приборе. Жирные линии показывают предпочтительную схему, тонкие — наиболее часто используемую

родукты вызванного ультрафиолетом окисления и *перекрестные сшивки*. Кроме того, анализу доступны ДНК-белковые комплексы, ДНК-дуплексы и даже целые *геномы* вирусов.

Эффективное сочетание с существующими базами данных или автоматическим анализом последовательности ускоряет обработку данных, хотя анализ белков и пептидов разработан более детально. Наличие других очень мощных средств анализа последовательности (см. *последовательности анализ*), небольшое число повторяющихся элементов и сравнительно малое количество модификаций в молекулах ДНК до сих пор ограничивают применение МС, но все-таки потенциал метода используется далеко не полностью.

Andreas Springer

Масс-спектрометрия (МС): методы ионизации. Ионизация — критически важная операция во всех исследованиях с применением метода. В слишком мягких условиях ионы не образуются, поэтому никакой информации об образце получить невозможно. Слишком жесткие условия ионизации приведут к разрушению образца и, как следствие, к слабовыраженным масс-спектрам или к их отсутствию. Однако хорошее знание процесса ионизации — единственный способ получить масс-спектры, дающие информацию о составе образца, природе аналита, а иногда и о его количестве. У каждого метода ионизации свои требования к составу и чистоте образца. Наиболее важные методы ионизации см. ниже.

Бомбардировка быстрыми атомами (ББА). Этот революционный метод открыт в 1980-хх гг., применяется для анализа полярных или ионных частиц малых и средних размеров, включая (*олиго*-)*нуклеотиды*. Позже разработаны методы более мягкой ионизации, такие как МАЛДИ и ИЭР, и ББА теперь не применяется.

Ионизация электронным ударом, электронная ионизация (ИЭУ, ЭИ) — метод ионизации для небольших (1500 а.е.м. или менее), летучих и сравнительно неполярных органических соединений. Аналит испаряют нагреванием и ионизируют пучком электронов, обычно с кинетической энергией ~70 эВ, чтобы обеспечить высокий выход ионов. Как правило, образуются осколочные ионы (ионы фрагментов) и молекулярные ионы (M^+). ЭУ-ионизация смесей может приводить к получению очень сложных масс-спектров. Она широко используется как источник ионов в методе ГХ-МС.

Ионизация электрораспылением, или электроспрей (ИЭР, ИЭС). Раствор образца распыляют из узкого электропроводящего капилляра в область неоднородного электрического поля. Вынужденное разделение зарядов приводит к образованию высокозаряженных капель. Они постепенно теряют растворитель, пока не сформируются свободные ионы заряженного аналита. Удалению растворителя можно содействовать нагреванием или повышением давления газа. В зависимости от полярности приложенного напряжения обнаруживаются положительно заряженные ($[M + nCat]^{n+}$) или отрицательно заряженные ионы ($[M - nH]^{n-}$). Возникновение высокозаряженных ионов ($n > 1$) — характерная особенность ИЭР-МС-спектров при исследованиях высокомолекулярных соединений. Обычно одновременно обнаруживаются различные зарядовые состояния. Это обстоятельство,

а также неизбежный обмен протонов и катионов может приводить к очень сложным масс-спектрам при анализе образцов, загрязненных солями. Такие загрязнители, как полиэтиленгликоль или ПАВ, могут подавлять сигнал.

Ионизацию при очень низких скоростях потока (200 нл или менее) называют *ионизацией распылением в нанопотоке (НИР)*. ИЭР можно с легкостью использовать для ионизации в методе *ВЭЖХ-МС*. Кроме того, МС можно комбинировать с *капиллярным электрофорезом (КЭ-МС)*. Очень мягкая ионизация позволяет не только проводить анализ полярных или ионных соединений малых и средних размеров (например, модифицированных) нуклеозидов или (олиго-)нуклеотидов, но и *дуплексов ДНК–ДНК, ДНК–РНК* и других двуцепочечных структур смешанного состава и даже менее стабильных многоцепочечных образований из ДНК с сохранением их структуры в газовой фазе.

Лазерная десорбция/ионизация из матрицы (МАЛДИ). Аналиты наносят на твердую, реже в жидкую, матрицу. Для олигонуклеотидов в качестве матрицы чаще всего выступает α -циано-4-гидроксикоричная кислота, 2,5-дигидроксibenзойная (гентиизиновая) кислота, дитранол или 2,4,6-тригидроксиацетофенон, для одно- и двухцепочечной ДНК — 3-гидроксипиколиновая кислота. Как правило, соотношение матрицы к аналиту составляет примерно 1000 : 1. Обычно матрица сильнолетучая и поглощает фотоны лазера. Первоначально десорбированные кластеры теряют молекулы матрицы, что приводит к образованию ионов $[M + n\text{Cat}]^{n+}$ (обычно по количеству ионы с разными зарядами n соотносятся так: $1 \gg 2 \gg n$) в режиме регистрации положительных ионов или $[M - H]^-$ (ионов $[M - 2H]^{2-}$ намного меньше) в режиме регистрации отрицательных ионов. Этот метод требует минимального количества образца, позволяет достигать очень низких пределов обнаружения, но его применение в количественном анализе ограничено. Метод МАЛДИ используется в основном для исследования полярных (*био*)молекул среднего и большого размера. Методика сравнительно нечувствительна к таким загрязнителям, как соли. Примеры практического применения этого метода см. *масс-спектрометрия в исследованиях ДНК*. См. *жидкостная хроматография—масс-спектрометрия, масс-спектрометрия в исследованиях ДНК, масс-спектрометрия: термины и определения*.

Химическая ионизация (ХИ) включает предварительную ионизацию газа-реагента (например, метана), который на следующей стадии ионизирует испаряемые молекулы аналита. ХИ обычно приводит к образованию ионов $[M + H]^+$ и аддуктов газа-реагента и аналита, а также некоторых осколочных ионов. Используется для ионизации в методе ГХ-МС.

Andreas Springer

Масс-спектрометрия: термины и определения. В любой области исследований, как правило, множество специальных терминов и определений. Это затрудняет понимание литературы новичками в данной области. Далее представлен небольшой обзор основных терминов и определений, связанных с МС и относящихся к исследованиям нуклеиновых кислот.

M — исходная молекула, обычно нейтральная; $M^{+\cdot}$ — молекулярный ион (формально: $[M - e^-]^+$); $[M + n\text{Cat}]^{n+}$ — катион, молекула, лишенная n электронов, Cat обычно H или Na; $[M - nH]^{n-}$, n — число депротонирования молекулы.

m/z — отношение массы к заряду; абсцисса масс-спектра, безразмерная величина. Иногда используют единицу томсон [Th].

Атмосферное давление (АД) ~1,013 гПа.

Времяпролетные (TOF, от англ. time-of-flight) анализаторы создают максимальный разброс по массам и очень стабильны. Обычно их используют с методом лазерной десорбции/ионизации из матрицы (МАЛДИ; MALDI). TOF-Анализаторы работают очень быстро. Рефлекторно-времяпролетные (rTOF) анализаторы дают лучшее разрешение, но охватывают меньший диапазон масс, их обычно совмещают с ионизацией электрораспылением (ИЭР). TOF масс-спектрометры, как правило, применяют для обнаружения олигонуклеотидов, продуктов полимеразной цепной реакции и для выявления однонуклеотидных полиморфизмов.

Гибридные масс-спектрометры сочетают преимущества различных типов масс-спектрометров и могут увеличить возможности МС/МС; например, существуют приборы Q /TOF (квадрупольно-времяпролетный), TOF/TOF (времяпролетный-времяпролетный), qQ /ИЦР ПФ (квадруполь-квадрупольный с масс-анализатором ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье) и ЛИЛ/ ИЦР ПФ-МС (LIT/FTICR; линейная ионная ловушка с масс-анализатором ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье).

Единицы массы: [а.е.м.] (атомная единица массы), [Да] (дальтон), $1/12$ массы нуклида ^{12}C , $1,66053886(28) \times 10^{-27}$ кг.

Ионная ловушка (ИЛ; ИТ): облегчает получение (МС)ⁿ-спектров и особенно полезна для выявления структуры. Квадрупольная ионная ловушка (КИЛ; QIT) и линейная ионная ловушка (ЛИЛ; LIT) очень распространены и часто используются как детекторы в методе газовой хроматографии—масс-спектрометрии (ГХ-МС) или совмещаются с ионизацией электрораспылением (ИЭР; ESI).

Квадрупольные (Q) масс-спектрометры широко используются при количественном анализе низкомолекулярных органических соединений. Они обычно применяются в качестве масс-анализатора при ГХ-МС, сравнительно дешевые и очень стабильные, хотя и дают небольшое разрешение. МС с тройным квадруполем — улучшенный вариант МС/МС (ДИС).

МС — масс-спектрометрия, масс-спектр.

(МС)ⁿ: n — число стадий фрагментации (например, (МС)³ — выделение, фрагментация, повторное разделение и снова фрагментация). МС/МС или тандемная МС обычно обозначается (МС)². Методы, используемые для фрагментации, основаны на столкновении (диссоциация, индуцируемая (активируемая) соударением, ДИС/ДАС, CID/CAD; поверхностно активированная диссоциация, ПАД, SID; распад после источника, РПИ, PSD; индуцированная столкновениями диссоциация с непрерывным нерезонансным возбуждением, SORI-CID), термическом возбуждении (диссоциация ИК-излучением абсолютно черного тела, BIRD), в мультифотонных процессах (инфракрасная мультифотонная диссоциация, ИКМФД, IRMPD) или при захвате электрона (диссоциация при захвате электрона, ДЭЗ, ECD). BIRD, ДЭЗ, ИКМФД и SORI-CID применяются исключительно в ИЦР ПФ-МС (см. *масс-спектрометрия в исследованиях ДНК*).

МС ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (ИЦР ПФ; FTICR) дает очень высокое разрешение и лучшую точность по массе (≤ 2 ppm), что гарантирует высокую достоверность в определении элементного состава, но это дорогостоящий метод и требует больших затрат на обслуживание. Как правило, способами ионизации для ИЦР ПФ служат ионизация электрораспылением (ИЭР; ESI) или лазерная десорбция/ионизация из матрицы (МАЛДИ; MALDI). Он позволяет провести ряд независимых МС-процедур ((МС)ⁿ) для выявления структуры или при анализе *последовательности олигонуклеотидов*.

Орбитальная ионная ловушка — новый тип масс-анализатора с высоким разрешением, совмещенного с линейной ионной ловушкой (ЛИЛ). Она хуже для выявления уникальной структуры, чем ИЦР ПФ-анализаторы, но выгоднее по затратам.

См. *жидкостная хроматография—масс-спектрометрия, масс-спектрометрия в исследованиях ДНК, масс-спектрометрия: методы ионизации*.

Andreas Springer

Матрица. Молекула, которая играет роль матрицы для синтеза другой молекулы при определении структуры. Например, РНК функционирует как М. для ДНК при *обратной транскрипции*.

Valeska Dombos

Матрицы изостеричности. Двенадцать семейств основных типов геометрических взаимодействий *азотистых оснований*, наблюдаемых в кристаллических структурах РНК. Впервые эти матрицы были предложены Эриком Вестхофом с соавт., чтобы суммировать геометрические взаимоотношения между 16 парными комбинациями четырех природных оснований для каждого из 12 семейств типов спаривания оснований. См. *геометрическая номенклатура и классификация пар оснований РНК, взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*.

Sabine Müller

Матричная (информационная) РНК (мРНК). Играет роль *матрицы* при синтезе белка. Образуется в ядре в ходе процесса *транскрипции* с использованием кодирующего белок *гена* как матрицы и фермента *РНК-полимеразы II*. Первоначальная версия синтезируемой мРНК называется *пре-мРНК* и содержит кодирующие (*экзоны*) и некодирующие (*интроны*) белок фрагменты. Пре-мРНК в ядре претерпевает *процессинг*, который включает в себя экспонирование (см. *кэп*), *сплайсинг* и *полиаденилирование* и приводит к образованию *зрелой РНК*. В ходе сплайсинга интроны удаляются, и зрелая мРНК состоит только из белок-кодирующих последовательностей — экзонов. 5'-Конец мРНК изменяется в ходе экспонирования, а 3'-конец вначале модифицируется путем сайтспецифического расщепления, а затем полиаденилируется. В совокупности эти процедуры приводят к формированию готовой для трансляции *открытой рамки считывания*, которая защищена от преждевременной дегградации до созревания (см. *РНК дегградация*). Недавно установлено, что стадии процессинга пре-мРНК тесно взаимосвязаны между собой и с процессом *транскрипции*. Предполагается, что в координировании этих процессов основную роль играет С-концевой домен

большой субъединицы РНК-полимеразы II, который, кроме того, одновременно с транскрипцией мРНК упаковывается белками с целью последующего транспорта из ядра в цитоплазму.

Tina Persson

Матричный рибонуклеопротеин (мРНП). Эукариотическая *матричная РНК* (мРНК) обрабатывается различными ферментами и упаковывается с белками в ядре, чтобы образовать перед транспортом в цитоплазму функциональный мРНП. мРНП называют также *гетерогенными ядерными рибонуклеопротеинами*. Они представляют собой комплексы с различными белками, в том числе гетерогенным ядерным рибонуклеопротеином А и более специфичными белковыми факторами, связанными со *сплайсингом* и экспортом мРНК, например TREX-комплекс (T**R**anscription/**E**Xport). Процессинг и упаковка происходят с мРНК одновременно с транскрипцией с целью превращения *пре-мРНК* в мРНП. TREX-комплекс представляет собой ключевой компонент транспорта мРНК и состоит из мультимолекулярного комплекса ТНО и экспортных белков (у человека — UAP56 и Aly). Структура TREX-комплекса высококонсервативна у многих видов, от дрожжей до человека.

Tina Persson

Мегабаза. Миллион пар оснований (млн п. н.) в двойной цепи ДНК.

Межгенный участок. Полная последовательность ДНК между кодирующими белки областями расположенных рядом *генов*.

Межнуклеотидное соединение. См. *фосфодиэфирная связь*.

Межцистронные участки. Термин *цистрон* (введен Сеймуром Бензером) используется как эквивалент понятию «ген», подразумевая единицу наследственности, связанную с регуляторными областями, транскрибируемыми районами и другими функциональными последовательностями. М. у. — это области ДНК, в которых нет цистронов. См. *межгенный участок*.

Mauro Santos

Метаболит-индуцируемое рибопереключение. См. *рибопереклюватели*.

Метиладенин (N6-метиладенин). См. *ДНК метилирование*.

Метилаза. См. *ДНК-метилтрансфераза*.

Метилирование. См. *ДНК метилирование*.

Метилтрансфераза. См. *ДНК-метилтрансфераза*.

5-Метилурацил. См. *редкие основания, редкий нуклеотид*.

Метилцитозин (N4-метилцитозин). См. *ДНК метилирование*.

5-Метилцитозин. См. *редкие основания, редкий нуклеотид, ДНК метилирование*.

Метионил-тРНК. *Транспортная РНК* (тРНК), расшифровывающая метионин. Во всех клетках присутствует два различных акцептора метионина. Один из них — *элонгаторная тРНК*, используемая в ходе всей *трансляции*, второй — *инициаторная тРНК* (*формилметионил-тРНК* у прокариот), которая способствует ассоциации рибосомы с инициаторными *факторами трансляции*.

Stefan Vörtler

Метод задержки в геле. См. *бэнд-шифт*.

Мечение. См. *олигонуклеотидов мечение*.

Миграция ветвей. Миграция *точки ветвления* в нуклеиновых кислотах достаточно распространена. Этот процесс можно наблюдать в ходе *кроссинговера*, когда точка ветвления *структуры Холлидея* скользит по дуплексу ДНК. В результате формируется *гетеродуплекс* ДНК, содержащий по одной цепи от каждого из родительских ДНК-дуплексов. Длину этого гетеродуплекса определяет расстояние между точками начала и окончания миграции. М. в. также происходит в ходе *репликации ДНК*, когда родительский ДНК-дуплекс разветвляется на два *двуцепочечных* дочерних ДНК-дуплекса. Кроме того, имеются сообщения о М. в. в структурах *РНК*, особенно в процессах типа фолдинга *рибосомной РНК* или *сплайсинга*.

Slawomir Gwiazda

Микроинъекция. Инъекция молекул (обычно ДНК или РНК) в ядро или цитоплазму клетки с помощью микропипетки или микроинъектора.

микроРНК. См. *миРНК*.

Микросателлит. Описанные в начале 1980-х гг. микросателлиты (или простые повторы) — это участки тандемно повторяющихся коротких (1–6 п. н.) последовательностей, например GTGTGTGTGTGT (для краткости (GT)_n). М. представляют собой высокополиморфные последовательности, которые стали инструментом генетического маркирования в таких областях, как криминалистика, генетическое картирование и популяционная генетика. Эти последовательности характеризуются высокой частотой мутаций (около 10⁻³–10⁻⁴), на несколько порядков выше, чем для прочей ДНК. Такая высокая частота возникновения *мутаций* зачастую связана с «проскальзыванием репликации» — смещением цепей ДНК, в результате которого происходит неверное спаривание комплементарных последовательностей. Некоторые болезни у человека связаны с экспансией тринуклеотидных повторов. Например, болезнь Хантингтона (тяжелое неврологическое расстройство) вызвана экспансией тринуклеотида GAG: нормальный аллель включает повтор от (GAG)₁₀ до (GAG)₃₅, а у больных число звеньев повтора превышает 40. Для болезней, связанных с тринуклеотидными повторами, как правило, характерно явление «генетической антиципации» — необычный характер наследования, при котором в каждом последующем поколении симптомы проявляются в более раннем возрасте и более остро.

Mauro Santos

Миниизим. *Молотоголовый рибозим* с упрощенной структурой, но с сохраненной каталитической активностью.

Минимальный геном. Наименьшая допустимая группа *генов*, достаточная для поддержания функционирующей клеточной формы жизни в присутствии полного набора питательных веществ и в отсутствие давления отбора со стороны внешней среды. Недавние оценки показывают, что М. г. (или «минимальный набор генов») составляет около 200 генов, но эти результаты получены методом нисходящей оценки с использованием сравнительной геномики.

Mauro Santos

Минисателлит. Повтор простых последовательностей, также называемый варибельным тандемным нуклеотидным повтором (см. *тандемный повтор*). Характеризуется большей длиной повторяющегося мотива, чем *микросателлиты* (от 9 до 100 п. н.). Известные из литературы примеры, как правило, описывают М. с длиной мотива 12 п. н. и более. Число *тандемных повторов* изменчиво (обычно менее 100). М. менее распространены, чем *микросателлиты*, но обладают сходными характеристиками: частые *мутации* с изменением числа звеньев и влияние числа повторов на функционирование генов.

Gemma Marfany, Mauro Santos

Минихромосома. Небольшое сходное по структуре с *хромосомой* образование, например упакованная в нуклеосомы и в вирионе, и в инфицированном ядре кольцевая ДНК вируса SV40 протяженностью 5200 п. н.

Mauro Santos

Минорная сплайсосома. *Рибонуклеопротеин* (РНП), ответственный за *атас-сплайсинг*, т. е. удаление *интронов* U12-типа. В целом своей структурой и функциями М. с. сходна с мажорной *сплайсосомой*. Однако из-за малой распространенности интронов U12-типа М. с. значительно более редкая. В состав активного комплекса также входят пять *U-мяРНП*, состоящих из различных *U-мяРНК* и отчасти различных белков. В структуре М. с. U11- и U12-мяРНК функционально гомологичны U1- и U2-мяРНК мажорного комплекса. Сходным образом U4_{атас}- и U6_{атас}-мяРНК функционально замещают U4- и U6-мяРНК мажорной сплайсосомы. Однако у обеих сплайсосом есть одинаковый U5-мяРНП. Что касается белкового компонента М. с., можно выделить две группы белков: восемь Sm-белков встречаются у всех минорных мяРНП, но 3–8 различных белков оказываются специфичными.

Хотя в целом особенности строения М. с. представляются очень сходными с мажорной сплайсосомой, существует одно очевидное различие. На начальных стадиях сборки 3'- и 5'-сайты *сплайсинга* распознаются одновременно, что приводит к образованию А-комплекса. Биохимическое фракционирование показало, что U11- и U12-мяРНП действительно существуют в виде стабильного сформированного заранее димера *снурнов*. Этот гетеродимер посредством комплементарного спаривания оснований связывается с 5'-сайтом сплайсинга и областью точки ветвления *пре-мРНК*, что сходно с процессом, наблюдаемым в мажорной сплайсосоме.

Bernd-Joachim Benecke

Минорная тРНК. *Транспортная РНК*, член семейства *изоакцепторов*, которая отличается от других членов (см. *мажорная тРНК*) и редко используется для расшифровки определенной аминокислоты (см. *кодон, частота использования*). Ее концентрация в клетке ниже, чем у мажорной тРНК.

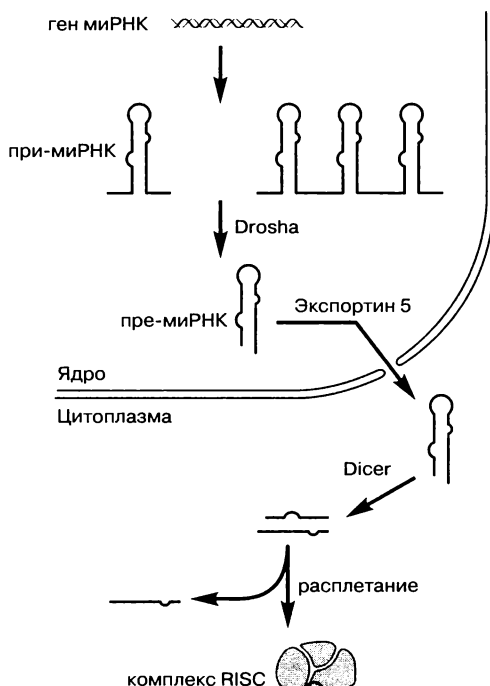
Stefan Vörtler

Минорное основание. См. *редкие основания*.

Минус-цепь. Цепь молекулы ДНК, которая транскрибируется в *матричную РНК* (мРНК). Образующаяся мРНК комплементарна минус-цепи и по последовательности идентична соответствующей *плюс-цепи* (с той разницей, что Т в молекулах РНК заменен на U).

Slawomir Gwiazda

миРНК (микро-РНК). Небольшие (обычно 21–26 нуклеотидов) молекулы РНК, участвующие специфичным образом в *репрессии* экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) путем *РНК-интерференции*. У позвоночных, двукрылых, червей, растений и даже вирусов описано более 2000 различных миРНК. миРНК — продукт двух этапов созревания. На первом из них *растущая РНК* (транскрипт; см. *при-миРНК*) процессируются в ядре с образованием 70-нуклеотидных *шпильчатых структур* (см. *пре-миРНК*) за счет эндонуклеолитического расщепления *РНКазой Drosha*. Пре-миРНК затем экспортируются в цитоплазму при участии экспортина 5 и затем процессируются до миРНК в ходе второго эндонуклеолитического расщепления



белком *Dicer*. Образующиеся короткие *двуцепочечные РНК* затем расплетаются и встраиваются в комплекс *RISC*. Расщепление белком *Dicer* и встраивание в *RISC*, по-видимому, сопряжены между собой.

Nicolas Piganeau

Миссенс-мутация. Изменение в кодирующей последовательности ДНК, часто *точечная мутация*, в результате чего *триплет нуклеотидов*, кодирующий определенную аминокислоту, на уровне РНК превращается в триплет, кодирующий другую аминокислоту. См. *нонсенс-мутация*.

Hans-Joachim Fritz

Миссенс-РНК. РНК, которая транскрибирована с *гена*, содержащего изменение в *кодирующей последовательности*, и потому кодирует нефункциональный продукт (см. *миссенс-мутация*).

Sabine Müller

Митоторибосома. Митохондриальная *рибосома*. М. относятся к прокариотическим рибосомам (70S), но встречаются исключительно в эукариотических клетках. Они меньше бактериальных рибосом и состоят из меньшего числа белков.

Denise Strohbach

Митохондриальная ДНК (мтДНК). ДНК, содержащаяся в митохондриях. В отличие от ядерной ДНК мтДНК обычно наследуется по материнской линии и поэтому дает возможность реконструировать родословную потомков от предшественника женского рода. Митохондрии также могут быть случайно унаследованы от отца. В таких случаях может быть документировано наличие более одного типа мтДНК у одного индивида — гетероплазмия. Однако, если разные гаплотипы в гетероплазмическом организме достаточно близки, варианты могли возникнуть в результате *мутаций*, а не экзогенного внедрения со сперматозоидом. Хорошо известен пример гетероплазмии у двустворчатых моллюсков, но у людей она тоже описана. Для мтДНК характерна сравнительно высокая скорость мутирования, которая порождает различия в нуклеотидных последовательностях на межвидовом уровне. Область мтДНК длиной в 648 п. н., известная как ген цитохромоксидазы I, была предложена в качестве ДНК-штрих-кода для быстрой и легкой идентификации видов. Этот метод, названный *ДНК-штрих-кодированием*, становится все более популярным.

Mauro Santos

Митохондриальная РНК. Митохондрии обладают собственной генетической системой и играют центральную роль в преобразовании энергии («энергетические станции» эукариотической клетки), а также участвуют в осуществлении ряда других важных функций. *Митохондриальная ДНК* содержит гены некоторых белков; их *матричные РНК* транслируются митохондриальными белок-синтезирующими системами, также кодируемыми митохондриальным *геномом*.

Mauro Santos

Михаэлиса константа. См. K_m значение, *Михаэлиса—Ментен модель*.

Михаэлиса—Ментен кинетика. Реакция фермента с субстратом, подчиняющаяся закономерностям кинетики первого порядка, что означает линейное увеличение скорости с повышением концентрации субстрата. Такое действительно наблюдается при низких концентрациях последнего (но при высоких концентрациях зависимость изменяется). Скорость не превышает верхнего порога, который специфичен для пары фермент—субстрат. Причина заключается в том, что одна или несколько мономолекулярных стадий с участием фермент-субстратного комплекса определяют верхнюю границу активности всего каталитического процесса. Эти особенности отражены в модели Михаэлиса—Ментен (см. *Михаэлиса—Ментен модель*). М.—М. к. используется также как термин при описании ситуации, когда наблюдается гиперболическая зависимость скорости образования продукта от концентрации субстрата в соответствии с уравнением Михаэлиса—Ментен (см. *Михаэлиса—Ментен уравнение*).

Christian Herrmann

Михаэлиса—Ментен модель. Описывает кинетику ферментативных реакций, в которых начальное связывание субстрата происходит быстрее, чем собственно каталитический процесс на второй стадии. Это приводит к образованию комплекса между ферментом и субстратом. Концентрация комплекса не изменяется во времени, т. е. устанавливается стационарное состояние. Если концентрация субстрата значительно превышает концентрацию фермента, ситуация остается стабильной в течение достаточно длительного времени, и можно измерить константу скорости реакции. Скорость v , определяемая как увеличение концентрации продукта c_p за некоторое время, описывается *уравнением Михаэлиса—Ментен*:

$$v = d c_p / d t = k_2 \cdot c_E \cdot c_S / \{(k_1 + k_2) / (k_{+1} + c_S)\}$$

где c_s — концентрация субстрата, c_E — концентрация фермента, k_2 — константа скорости стадии катализа, k_{+1} и k_{-1} — константы скорости образования и диссоциации комплекса фермент—субстрат. $K_M = (k_{-1} + k_{+1}) / k_{+1}$ — *константа Михаэлиса*. Скорость демонстрирует гиперболическую зависимость от концентрации субстрата, а параметры k_2 и K_M рассчитывают методом нелинейной регрессии экспериментальных данных или после перестраивания уравнения в линейную форму (см. *график Лайнуивера—Берка, график Иди—Хофсти*). K_M измеряется в моль/л, как и *константа диссоциации*. Следует подчеркнуть, что даже в простой двухстадийной модели K_M равна константе диссоциации фермент-субстратного комплекса только в предельном случае, когда k_2 значительно меньше, чем k_{-1} .

Большинство ферментативных реакций имеют значительно более сложный механизм, нежели описанная выше простая двухстадийная модель. В них появляются такие реакционные стадии, как конформационные изменения или высвобождение продукта, и константы скорости этих стадий могут влиять на скорость суммарной реакции. Тем не менее скорость образования продукта характеризуется той же зависимостью от концентрации субстрата, что и описанная выше, и для анализа можно применять уравнение Михаэлиса—Ментен. В таком случае выражение для K_M имеет более сложный вид и включает константы скорости различных стадий в зависи-

мости от модели механизма реакции. Но ее все равно можно рассматривать как кажущуюся константу равновесия диссоциации, так как она указывает, при какой концентрации субстрата происходит насыщение фермента, т. е. он работает с максимальной активностью (см. уравнение выше; половина максимальной активности при $c_S = K_M$). Аналогично константу скорости катализа k_2 в упрощенной модели можно заменить сложным выражением, включающим *константы скорости* каждой стадии механизма реакции, ее обычно обозначают как k_{cat} (см. *число оборотов*). Таким образом, обобщенное уравнение Михаэлиса—Ментен может быть представлено в виде

$$v = k_{cat} \cdot c_E \cdot c_S / (K_M + c_S) \text{ или } v = v_{max} \cdot c_S / (K_M + c_S)$$

где максимальная скорость образования продукта, v_{max} , равна произведению *числа оборотов* и концентрации фермента.

Christian Herrmann

Михаэлиса—Ментен уравнение. Уравнение, используемое для описания скорости образования продукта (v) в ферментативных реакциях в зависимости от концентраций фермента (c_E) и субстрата (c_S) (см. *Михаэлиса—Ментен модель*):

$$v = k_{cat} \cdot c_E \cdot c_S / (K_M + c_S)$$

Два параметра этой реакции — *число оборотов* k_{cat} и K_M (см. K_M *значение*) — описывают каталитическую активность и специфичность фермента. Используя выражение для максимальной скорости $v_{max} = k_{cat} \cdot c_E$, уравнение Михаэлиса—Ментен часто представляют в виде $v = v_{max} \cdot c_S / (K_M + c_S)$. См. K_M *определение*.

Christian Herrmann

Многокопийная плазида. *Плазида*, которая может поддерживаться в прокариотической клетке во многих копиях. Большинство плазмид, используемых для *клонирования* и *амплификации ДНК*, а также получения белка путем экспрессии в бактериях, являются М. п. Напротив, некоторые природные плазмиды содержат регуляторные элементы (связанные с их *ориджином репликации*), которые сохраняют число копий этих плазмид небольшим.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Многоспиральная петля. См. *соединяющая петля*.

Множественные обороты. В ферментативных реакциях фермент играет роль *катализатора* для химического превращения субстрата, т. е. субстрат преобразуется ферментом постепенно, молекула за молекулой. Обычно концентрация субстрата значительно выше концентрации фермента, в результате одна молекулами фермента участвует в превращении множества молекул субстрата (осуществляет множество оборотов). Такие условия необходимы для осуществления кинетики Михаэлиса—Ментен (см. *Михаэлиса—Ментен кинетика*), при которой устанавливается стационарная концентрация промежуточного комплекса. Кинетика М. о. определяется ферментативной стадией реакции и/или стадией высвобождения продукта

в зависимости от отношения *констант скорости*, в то время как кинетика *одного оборота* обычно контролируется стадией связывания (включая последующие структурные перестройки фермент-субстратного комплекса) и/или каталитической стадией.

Christian Herrmann

Множественный сайт клонирования. См. *полилинкер*.

Мобильные генетические элементы. См. *мобильные элементы, транспозон*.

Мобильный элемент. Обособленная последовательность ДНК, обнаруживаемая в *геномах* эукариот и прокариот. Способна изменять собственную локализацию и встраиваться в различные негомологичные последовательности-мишени. *Транспозоны* делят на два класса: перемещающиеся в виде ДНК и распространяющиеся с образованием РНК-интермедиата, который затем подвергается *обратной транскрипции* и встраивается в новое положение в геноме.

Mauro Santos

Модифицированная ДНК. ДНК, которая структурно отличается от нуклеиновой кислоты, построенной исключительно из четырех стандартных конструкционных элементов — *дезоксиаденозина, дезоксицитидина, дезоксигуанозина и тимидина*. Модификации могут касаться структуры *остова*, остатков сахаров или азотистых оснований, быть естественными или внедренными искусственно ферментативным или химическим методом. М. д. часто имеет отношение к *антисмысловым олигонуклеотидам* и повреждениям ДНК (см. *ДНК повреждение*). Автоматизированный твердофазный синтез олигонуклеотидов дает возможность сайтспецифического внесения модификаций в синтезируемый олигодезоксинуклеотид. См. *олигонуклеотидов синтез*.

Ronald Micura

Модифицированная РНК. РНК, которая структурно отличается от нуклеиновой кислоты, построенной исключительно из четырех стандартных конструкционных элементов — *аденозина, цитидина, гуанозина и уридина*. Модификации могут касаться структуры *остова*, остатков сахаров или азотистых оснований, быть естественными или внедренными искусственно ферментативным или химическим методом. Структура молекулы РНК демонстрирует широкий спектр разнообразных природных модификаций. К настоящему времени известны более 90 модифицированных нуклеозидов, большинство которых встречаются в молекулах транспортных РНК, *малых ядерных РНК и рибосомных РНК* (см. *редкие основания*). Причины для их модификации во многих случаях неясны. Автоматизированный твердофазный синтез олигонуклеотидов дает возможность сайтспецифического внесения модификаций в синтезируемый олигорибонуклеотид. См. *олигонуклеотидов синтез*.

Ronald Micura

Модифицированное основание. *Азотистое основание*, которое было изменено после синтеза (см. *редкие основания*) или аналог азотистого основания, который был встроен в молекулу ДНК или РНК в ходе синтеза. См. *модифицированная ДНК, модифицированная РНК, олигонуклеотидов синтез*.

Sabine Müller

Модифицированные нуклеиновые кислоты. См. *модифицированная ДНК, модифицированная РНК*.

Модульные аптамерные сенсоры. Флуоресцентные сенсоры, сконструированные путем слияния двух независимых *аптамеров*. Один из аптамеров (связывающая молекула) распознает анализируемое соединение, в то время как второй (флуорогенный модуль или флуоромодуль) распознает *флуоресцентную метку*. Последняя изменяет флуоресцентные свойства при связывании. Аптамеры соединяются через *связующий модуль*, который аллостерически передает информацию о происходящих изменениях с одного модуля на другой. Например, аптамер малахитового зеленого может быть использован как флуорогенный модуль, поскольку малахитовый зеленый — слабый *флуоресцентный краситель*, пока не связан со своим аптамером. При слиянии с аптамером *аденозина* через короткий олигонуклеотидный мостик из малахитового зеленого становится репортером связывания производных аденозина из-за повышения уровня флуоресценции, так как связывание с аденозином стабилизирует аптамер малахитового зеленого.

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

Мозаичные гены. Называются также раздробленными или прерывистыми генами. Гены, состоящие из чередующихся *интронов* и *экзонов*. Интроны удаляются в ходе *сплайсинга* из первичного РНК-*транскрипта*, давая начало *зрелой РНК*.

Mauro Santos

Молекулярные автоматы. См. *автоматы на основе дезоксирибозима, автомат Шапиро—Бененсона—Ротемунда*.

Молекулярный маяк. Молекула, сконструированная для связывания с молекулой-мишенью и сообщения о связывании посредством испускания светового сигнала. М. м. на основе нуклеиновых кислот содержат *флуоресцентный краситель*, который испускает свет в ответ на облучение, и молекулу-гаситель. До связывания с мишенью молекула нуклеиновой кислоты имеет такую *конформацию*, которая физически сближает гаситель с флуоресцентным компонентом, что эффективно блокирует световой сигнал. После связывания с *молекулой-мишенью* конформация М. м. изменяется так, что теперь гаситель оказывается вдали от флуорофора, и световой сигнал включается. Наиболее простая конструкция М. м. на основе нуклеиновых кислот — олигомер, на одном из концов которого расположен флуорофор, а на другом — гаситель. Последовательность олигомера такова, что в отсутствие молекулы-мишени он принимает конформацию *шпильки*. В результате флуоресцирующий компонент оказывается в непосредственной близости от га-

сителя. В присутствии фрагмента ДНК или РНК, комплементарного М. м., между мишенью и маяком образуется *дуплекс*, гаситель отдаляется от флуорофора, и загорается свет. Этот метод обладает чувствительностью и избирательностью, позволяющей даже разделить молекулы, последовательность которых отличаются только на один нуклеотид. Однако любое событие, которое удаляет гаситель от молекулы красителя, может быть детектировано, и это свойство используется, например, для обнаружения расщепления ДНК и РНК — тест на наличие в среде *нуклеаз*. Молекулярные сенсоры, использующие технологии М. м., созданы и на основе *аптамеров* — нуклеиновых кислот, которые связываются с широким кругом различных *лигандов*. М. м. лежат в основе *полимеразной цепной реакции в реальном времени*, при которой *амплификация* определенной последовательности оценивается количественно по уровню свечения М. м., который, в свою очередь, связывается с амплифицируемой последовательностью. М. м. нашли применение в биосенсорах на присутствие генетического материала бактерий и вирусов и даже используются для мониторинга экспрессии ряда *генов* в живых системах.

Snorri Th. Sigurdsson

Молотоголовый рибозим. Самый маленький и наиболее хорошо изученный из встречающихся в природе *рибозимов*. Молотоголовые мотивы РНК первоначально были найдены в вирусной *сателлитной РНК* и вириодах. Они осуществляют нарезание на мономерные фрагменты длинных линейных *конкатемеров* в ходе репликации циклических РНК патогенов по механизму *катящегося кольца*. После самовырезания молотоголовый рибозим также может катализировать обратную реакцию, которая приводит к замыканию кольца в мономерах. Молотоголовые мотивы были найдены в *геномах* представителей всех царств живых организмов. Учитывая их распространенность и простоту, было сделано предположение об их неоднократном возникновении в ходе эволюции.

Его название получено из-за формы *вторичной структуры*, напоминающей головку молотка (рис. 1, а). Минимальная голова-молот состоит приблизительно из 40 *нуклеотидов*, содержит три спирали, которые расходятся от ядра из *консервативных нуклеотидов*, включающих *активный центр*. Исследования кристаллической структуры показали, что спирали II и III расположены одна над другой. Ядро инвариантных нуклеотидов включает мотив CUGA [от C3 до A6] из уридинового поворота (см. *U-поворот*), который прилежит расщепляемому фосфату. В природных молотоголовых РНК спирали I и II увенчаны внутренними или апикальными *петлями* (L1 и L2), неконсервативными по последовательности (рис. 1, б). Эти петли связаны между собой благодаря *третичным взаимодействиям*, что приводит к формированию *активной конформации* уже при концентрациях ионов Mg^{2+} 0,1 мМ. Минимальный молотоголовый рибозим, у которого отсутствуют эти петли, работает только *in vitro* при миллимолярных концентрациях ионов магния, при этом скорость вырезания на один-два порядка ниже, чем у природного молотоголового рибозима, и редко превышает 1 мин⁻¹. Кристаллическая структура полноразмерного молотоголового рибозима из *Schistosoma mansoni*, полученная на основе множества биохимических исследований, позволяет объяснить механизм его катализа. Основные вы-

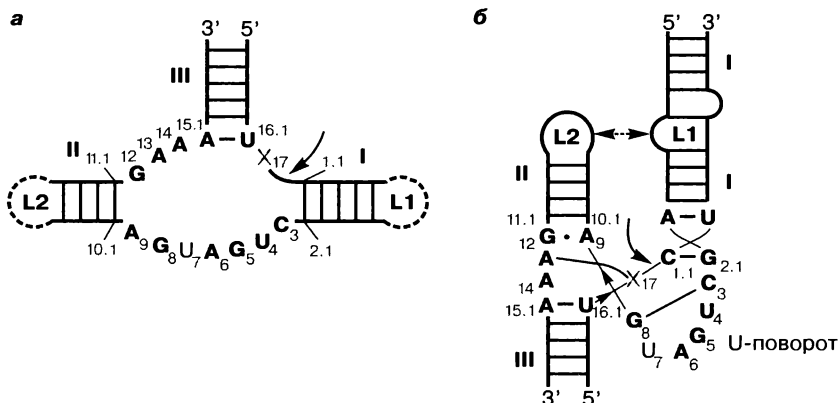


Рис. 1. Данные о вторичной структуре минимального (а) молотоголового рибозима и его каталитически полноценного варианта (б) получены на основании кристаллической структуры полноразмерного молотоголового рибозима *S. mansoni*. Показаны нуклеотиды каталитического центра (стандартная нумерация нуклеотидов жирным шрифтом; X = C, [U, A]); одиночные стрелки указывают на сайт разрезания, двойные стрелки — стабилизацию третичной структуры посредством взаимодействия петель природного рибозима. В бимолекулярных конструкциях минимальных голов-молотов могут отсутствовать терминальные петли, что показано прерывистыми линиями. Существуют также конструкции, в которых стебель III завершается петлей

воды, касающиеся структуры, следующие. (1) изогнутый и частично раскрученный стебель I, (2) перекрученный стебель II до позиции G12, A13 и A14 против $\times 17$, так, что 2'-ОН нуклеофил C17 позиционирован для атаки в линию, (3) обширная сеть водородных связей скрепляет инвариантные нуклеотиды ядра головы-молота, (4) близость G8 и G12 разрезаемому фосфату согласуется с их предполагаемой ролью в кислотно-основном катализе, (5) отсутствие доказательств специфической роли ионов металла в катализе головы-молота, (6) наименьшее расстояние между немостиковыми атомами кислорода 5'-фосфата A9 и 3'-фосфата C17 сокращается до 4 Å по сравнению с 20 Å в структуре минимального рибозима.

Как и другие известные малые рибозимы, молотоголовый рибозим катализирует сайтспецифическое самовырезание, что приводит к формированию 2',3'-циклических фосфатов и 5'-гидроксильного конца. Химическая реакция протекает по механизму S_N2 (в линию), который основан на нуклеофильной атаке расщепляемого фосфата соседним 2'-О рибозы. В условиях очень высокой ионной силы реакция вырезания молотоголовым рибозимом может протекать без двухвалентных катионов. Тем не менее предполагается, что при низких концентрациях соли по крайней мере один ион двухвалентного металла образует связь во *внутренней сфере* с немостиковым кислородом про-*Rp* в разрезаемом фосфодиэфире. Линейная зависимость логарифма скорости реакции от pH интерпретируется как показатель того, что гидроксил, координированный тем же ионом металла, депротонирует 2'-гидроксил для нуклеофильной атаки. Предполагается также, что для формирования пентакоординированного *переходного состояния* необходима конформационная перестройка (рис. 2), поэтому число ионов металла и их точная роль до сих пор обсуждается.

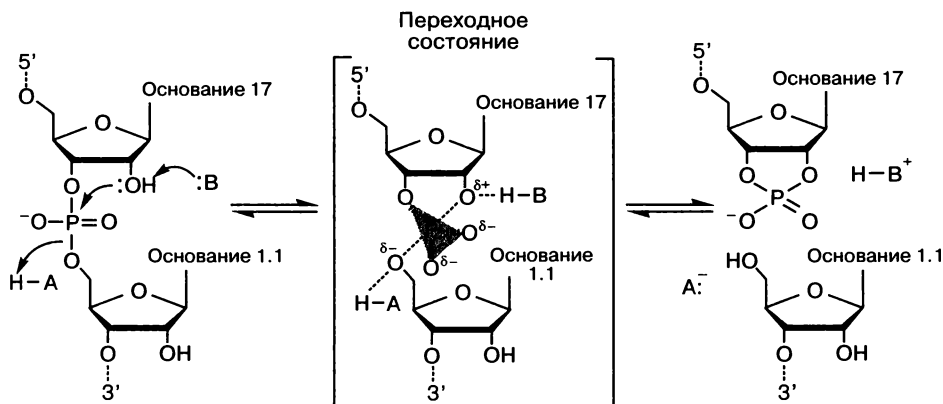


Рис. 2. Предположительный механизм реакции вырезания молотоголовым рибозимом

Методическое и терапевтическое применение молотоголовых рибозимов основано на том факте, что их можно специфически изменять для *цис*- или *транс*-вырезания из РНК-субстрата. В конструкциях, используемых для *транс*-вырезания целевой РНК, петля I разорвана (рис. 1, а) и цепь «субстрата» дает 5'-концы спиралей III и I для образования структуры головы-молота. В такой бимолекулярной системе остальная часть головы-молота может быть истинным *транс*-действующим рибозимом, способным к осуществлению *множественных оборотов*. Кроме того, путем слияния с *рибопереключателем* минимальные формы молотоголового рибозима превращаются в *аллостерические рибозимы*, функционально зависящие от небольших лигандов (см. *рибозим сателлита Варкуд*, *рибозим вируса гепатита дельта*, *шпилечный рибозим*).

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Молчащая мутация. Структурное изменение в последовательности ДНК (и, как следствие, РНК), не приводящее к изменению кодирующих свойств нуклеиновой кислоты. В пределах *кодирующей последовательности* М. м. обычно представляет собой *замещающую мутацию* по третьему положению кодона.

Hans-Joachim Fritz

Молярный коэффициент поглощения. Ранее молярный коэффициент экстинкции. Обозначается как ϵ , измеряется в л · моль⁻¹ · см⁻¹.

Мономер. Строительный блок более крупной молекулы (полимера).

γ -Монометилфосфатный кэп. Модифицированная 5'-концевая структура некоторых *малых ядерных РНК* (например, *U6-мЯРНК* или *7S К РНК*), синтезируемая *РНК-полимеразой III*.

Мононуклеотид. Молекула, состоящая из *рибозы* или *дезоксирибозы* (см. *2'-дезоксирибоза*), присоединенного к C5' рибозы/дезоксирибозы фосфата и *пуринового* или *пиримидинового основания*, присоединенного к C1'. М. и дезоксимононуклеотиды представляют собой мономеры нуклеиновых кислот. Пуриновые и пиримидиновые азотистые основания, входящие

в состав природных ДНК, — *аденин, цитозин, гуанин и тимин*. В молекуле РНК пиримидиновое основание тимин заменено на *урацил*. В природных процессах синтеза олигомеров (см. *ДНК репликация, транскрипция*) М. активируются путем присоединения двух дополнительных фосфатных групп, которые связаны ангидридными связями с первым фосфатом. В ходе синтеза эти группы высвобождаются в виде *пирофосфата*.

М. и активированные мононуклеотидтрифосфаты также играют важную роль в процессах переноса энергии в организмах. См. *нуклеозидфосфаты*.

Slawomir Gwiazda

Моноцистронная мРНК. Моноцистронная *матричная РНК* может быть найдена в клетках эукариот и несет *генетическую информацию* о продукте единственного гена.

Морфолиновые олигонуклеотиды. Аналоги ДНК, в молекулах которых фуранозное кольцо заменено на морфолин. М. о. связываются с *комплементарной ДНК* или РНК с образованием *уотсон-криковских пар оснований*. В результате этого может изменяться уровень экспрессии (см. *гена экспрессия*), что делает возможным применение М. о. в качестве *антисмысловых медикаментов*. Из-за особенностей строения *остова* молекулы М. о. устойчивы к действию *нуклеаз*; это обстоятельство также делает их перспективным инструментом для терапии.

Irene Drude



мРНК деградация. Деградация *матричной РНК* (мРНК) — важная стадия экспрессии генов (см. *гена экспрессия*). Бактериальные мРНК характеризуются коротким временем полужизни и подлежат деградации в ходе высокоорганизованного клеточного процесса при участии мультиферментного комплекса, называемого *деградосомой*. Ключевой фермент, отвечающий за начальную эндонуклеолитическую атаку и сборку деградосомы, — РНКазы Е. Эндонуклеолитическое расщепление происходит в направлении 5'→3' за *рибосомой*. Образующиеся *фрагменты* деградируют за счет активности *эндонуклеаз* в направлении от 3'- к 5'-концу.

У эукариот характер и скорость М. д. подчиняются более сложным закономерностям и зависят от специфических цитоплазматических структур — мРНК-процессирующих телец (P-bodies). В структуре эукариотических

мРНК есть два неизменных элемента, придающие ей стабильность: *кэп* на 5'-конце и *поли(А)*-«хвост»; оба элемента внедряются в ходе транскрипции. Для инициации деградации любой из них должен быть расщеплен в ходе атаки эндонуклеаз. Большинство эукариотических мРНК разрушаются после деаденилирования (удаления поли(А)-последовательности). *Поли(А)*-«хвост» удаляется за счет деаденилазной активности (PARN). Вслед за деаденилированием возможны два механизма деградации мРНК: декэпирование с последующим 5'-3'-расщеплением или расщепление в направлении от 3'-к 5'-концу. В первом случае комплекс Lsm1-7 ассоциируется с 3'-концом мРНК и индуцирует декэпирование с участием комплекса DCP1-DCP2. Последний делает молекулу мРНК восприимчивой к расщеплению 5'-3'-экзорибонуклеазой Xrn1. В другом случае деаденилированная мРНК может быть деградирована в 3'→5'-направлении за счет активности экзосомы, а остающаяся структура кэпа гидролизует декэпирующим ферментом DcpS. Оба пути не являются взаимоисключающими, и конкретный путь деградации мРНК может варьировать.

Альтернативный механизм деградации у дрожжей, не зависящий от деаденилирования, требует наличия декэпирующего комплекса и осуществляется экзонуклеазой Xrn1. Опосредованное эндонуклеазами расщепление мРНК начинается с расщепления внутри молекулы мРНК, в результате которого образуются два фрагмента, каждый с одним незащищенным концом, которые разрушаются Xrn1 и экзосомой.

Beatrix Süss

мРНК процессинг. См. *РНК процессинг*.

мРНК. См. *матричная РНК*.

МС. Масс-спектрометрия (см. *анализ последовательности ДНК масс-спектрометрией, газовая хроматография—масс-спектрометрия, жидкостная хроматография—масс-спектрометрия, масс-спектрометрия в исследовании ДНК, масс-спектрометрия: методы ионизации, масс-спектрометрия: термины и определения*).

мтДНК. См. *митохондриальная ДНК*.

Мультиплексная полимеразная цепная реакция (ПЦР). *Полимеразная цепная реакция (ПЦР)*, при которой в одной реакции участвуют более одного набора *праймеров*. В результате с одной матрицы может быть одновременно получено несколько продуктов ПЦР. М. ПЦР применяется во многих приложениях анализа ДНК, включая анализ *делеций, мутаций и полиморфизмов*, а также *ПЦР с обратной транскрипцией*. Часто применяется в процедурах генотипирования, при которых требуется одновременный анализ многих маркеров, при детектировании патогенов или в анализе *микросателлитов*. Однако, так как используются несколько пар *праймеров*, необходима оптимизация для получения достоверных и воспроизводимых результатов.

David Loakes

Мультиплексное секвенирование. Технология параллельного анализа последовательностей (см. *последовательности анализ*) многих различных фрагментов ДНК. Эти фрагменты иммобилизуют на мембранах (см. *иммобилизация нуклеиновых кислот*) и идентифицируют путем *гибридизации* с синтетическими *олигонуклеотидами* известной последовательности. Детектирование может быть осуществлено внедрением радиоактивных или флуоресцентных меток.

Susanne Brakmann

Мусорная ДНК. Общее обозначение всех последовательностей ДНК в геноме, функция которых неизвестна. Существуют две конкурирующих теории (адаптации и мусорной ДНК), которые описывают эволюцию размера генома и пытаются объяснить значительное содержание *некодирующей ДНК* (до 98% генома человека). Такая ДНК обнаруживается в геномах большинства видов, особенно эукариот (организмов, у которых генетический материал расположен в ядре). Теория адаптации предполагает наличие некой особой функции у *добавочной ДНК*, в то время как теория мусорной ДНК постулирует, что она действительно избыточна, бесполезна и неадаптивна. Увеличение размера генома у эукариот обычно связано с изменениями в некодирующих областях — *интронах*, *мобильных элементах* и других формах внегенной ДНК (см. *межгенный участок*). Теория мусорной ДНК предполагает, что из-за низкой эффективности естественного отбора в популяциях с малой численностью такие бесполезные последовательности не могут быть удалены. Так как размер популяции коррелирует со сложностью организации (популяции прокариот значительно больше, чем эукариот), малое содержание некодирующей ДНК у прокариот можно легко объяснить более высокой эффективностью отбора в больших популяциях, направленного на элиминацию адаптивно малоценной ДНК.

Mauro Santos

Мутаген. Вещество, обладающее способностью индуцировать *мутации*. М. характеризуются реакционной способностью в отношении ДНК и приводят к химической модификации остатков *нуклеотидов*, которые затем неверно прочитываются при *репликации* или блокируют продвижение *репликативной вилки*.

Hans-Joachim Fritz

Мутагенез по Кункелю. Метод, используемый для индукции *мутаций* в *одноцепочечной ДНК* (также называется дезоксиуридиновым мутагенезом, системным дУТФ мутагенезом). Представляет собой сайтспецифичный мутагенез, который применяется для отделения мутировавших *генов* от генов дикого типа.

Мутагенез. Генерация *мутаций* — структурных изменений в молекуле ДНК (РНК), которые передаются последующим поколениям. М. может происходить спонтанно или быть индуцированным в ходе эксперимента при действии таких агентов, как рентгеновское и ультрафиолетовое излучения, химические мутагены (см. *мутаген*). В большинстве случаев М. реализуется через состояние премутации, т. е. структуры, которая отличается

от канонической структуры ДНК и склонна к неверному прочтению, когда служит *матрицей* при *репликации*. Примерами премутационных повреждений ДНК (см. *ДНК повреждение*) являются *цис-син-тиминовые димеры*, возникающие под действием ультрафиолетового излучения, и остатки O⁶-метилгуанина. М. также используется в генной инженерии как *направленный мутагенез* (точное внесение структурно predetermined мутаций) или *случайный мутагенез* (в этом случае сегмент ДНК насыщают случайными мутациями с той или иной частотой).

Hans-Joachim Fritz

Мутация. Такое изменение в наследуемом признаке, при котором новое проявление признака также оказывается стабильно наследуемым. М. основаны на изменениях последовательности ДНК или РНК. Они вызваны ошибками при копировании или структурными изменениями, происходящими с остатками ДНК или РНК под действием физических (ультрафиолетовое излучение, ионизирующая радиация) или химических *мутагенов*. М. можно классифицировать по их структурной природе (см. *делеция, инсерция, замена*), по влиянию на кодирующие свойства последовательности (см. *миссенс-мутация, нонсенс-мутация, молчащая мутация, мутация сдвига рамки*) или по фенотипическому проявлению (см. *гипоморфная мутация, ноль-мутация, гиперморфная мутация, гена мутация*).

Hans-Joachim Fritz

Мутация сдвига рамки. См. *мутация сдвига рамки считывания*.

Мутация сплайсинга. Мутация в последовательности *интрона* или *экзона*, которая препятствует прохождению *сплайсинга* и может нарушить биосинтез белка. К таким мутациям могут относиться следующие типы: (а) мутации в *сайте сплайсинга*, приводящие к потере функции этого сайта, которая в свою очередь может вызывать появление преждевременного *стоп-кодона*, потерю экзона или включение интрона; (б) мутация в *сайте сплайсинга*, которая снижает его специфичность и приводит к изменению его структуры. В результате возможны *инсерция* или *делеция* аминокислот или, что более вероятно, потеря структуры *рамки считывания*; (в) *транспозиция* сайта сплайсинга, приводящая к включению или исключению большего, чем ожидалось, количества ДНК и образованию более длинных или более коротких гибридных экзонов.

Stéphanie Vauléon

мцРНК. См. *малая цитоплазматическая РНК*.

мшРНК (малая шпилечная РНК). Предшественник *малых интерферирующих РНК*, имитирующий *при-миРНК*.

мякРНК. См. *малая ядрышковая РНК*.

мякРНП. См. *малый ядрышковый рибонуклеопротеин*.

мяРНК. См. *малая ядерная РНК*.

мяРНП. См. *малый ядерный рибонуклеопротеин, сплайсосомный РНП*.

Н

«**Навесная**» ДНК. См. *Н-ДНК*.

НАД. См. *никотинамидадениндинуклеотид*.

НАД-Н. Восстановленная форма *никотинамидадениндинуклеотида*.

НАДФ. Никотинамидадениндинуклеотидфосфат. См. *никотинамид-адениндинуклеотид*.

НАДФ-Н. Восстановленная форма *никотинамидадениндинуклеотидфосфата* (см. *никотинамидадениндинуклеотид*).

Нанозолото. Система мечения для биологических молекул (белков, ДНК и др.). Метод очень похож на мечение *флуоресцентными красителями*. Метки — частицы золота размером в нанодиапазоне — химически сшиваются с молекулой-мишенью посредством дисульфидных или амидных связей. Визуализацию меченого материала можно осуществить с помощью электронной микроскопии или, если сигнал усилен при *окрашивании серебром*, увидеть невооруженным глазом (например, на простом полиакриламидном геле) или в световой микроскоп.

Slawomir Gwiazda

Направленный мутагенез. См. *сайт-направленный мутагенез*.

Наследуемость. Статистическая величина, определяющая долю фенотипической изменчивости, которую можно объяснить генетической изменчивостью применительно к *количественному признаку*. Если фенотическая изменчивость целиком определяется генетической вариансой, то отношение генетической изменчивости к общей называют наследуемостью в широком смысле. Если генетическая варианса представляет собой так называемую аддитивную генетическую вариансу (т. е. связанную с *аллелями*, передающимися от родителей потомству), то отношение называют Н. в узком смысле; она очень важна в селекционных программах.

Mauro Santos

Нативная ДНК. ДНК в естественных физиологических условиях. Н. Д. может быть денатурирована под действием денатурирующих агентов (например, мочевины), в присутствии высоких концентраций ионов металлов, при нагревании или дегидратации.

Slawomir Gwiazda

Нативная конформация. *Конформация*, которую молекула (белок, нуклеиновая кислота) принимает в нативных (физиологических) условиях.

Начальная скорость. Скорость химической реакции зависит от механизма. Скорость реакции описывается кинетическими уравнениями, согласно кинетическим законам скорости (см. *константа скорости*): изменение концентраций участников реакции во времени пропорционально соответ-

ствующим *константам скорости* и концентрации. Так как концентрации реагирующих веществ уменьшаются в процессе реакции, скорость реакции также уменьшается. Тем не менее в начале реакции можно упрощенно принять скорость реакции постоянной (Н. с.); в простом случае она является функцией константы скорости и начальных концентраций реагентов. Измерение Н. с. делает возможным простое определение константы скорости без интегрирования уравнений скорости. При определении Н. с. обратимых реакций можно пренебречь обратной реакцией, так как концентрации продуктов низки. Описание ферментативных реакций также подразумевает измерение скорости первых 10–20% оборотов, так как изменение концентрации субстрата влияет на скорость в соответствии с уравнением Михаэлиса–Ментен (см. *Михаэлиса–Ментен уравнение*).

Christian Herrmann

Независимая от матрицы ДНК-полимераза. Фермент, который катализирует *полимеризацию дезоксирибонуклеотидов* без использования *матрицы*. Например, независимая от матрицы *концевая дезоксирибонуклеотидилтрансфераза* катализирует периодически повторяющееся добавление дезоксирибонуклеотидов к 3'-гидроксильному концу дезоксирибонуклеотидов, *одноцепочечных ДНК* или *двухцепочечных ДНК*.

Valeska Dombos

Независимая от матрицы РНК-полимераза. Фермент, который катализирует независимую от *матрицы полимеризацию отдельных нуклеотидов*. Например, поли(А)-РНК-полимераза катализирует добавление мономеров *аденина* к 3'-концу *матричной РНК* (см. *полиаденилирование*, *поли(А)-«хвост»*).

Valeska Dombos

Нейтральная инсерция. См. *нейтральная мутация*.

Нейтральная мутация. Мутационное изменение в последовательности ДНК или РНК, которое не приводит к изменениям в транслируемом белке. Возможность возникновения Н. м. связана с тем фактом, что существует больше возможных *кодонов* (64), чем кодируемых аминокислот (21), т. е. некоторые аминокислоты кодируются несколькими кодонами. Таким образом, изменение структуры кодона необязательно прямо изменяет соответствующую аминокислоту (см. *«качания» гипотеза*).

Slawomir Gwiazda

Неканоническая пара оснований. Любая пара взаимодействующих азотистых оснований, которая не соответствует общему правилу образования пар: А с Т/У и Г с С (и наоборот), а потому не является *уотсон-криковской парой оснований*.

Sabine Müller

Некодирующая ДНК. Области ДНК, не содержащие информации, которая может быть превращена в белок в ходе *трансляции*.

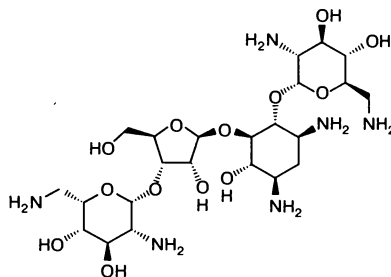
Некодирующая область. См. *некодирующая ДНК*.

Некодирующая последовательность. См. *некодирующая ДНК*.

Некодирующая РНК (нкРНК). Все РНК, которые транскрибируются эндогенно и не транслируются в белковый продукт. Все они, предположительно, имеют важное биологическое значение. К наиболее значимым примерам относятся малые РНК, участвующие в процессинге/*сплайсинге матричных РНК*, *транспортные РНК* (тРНК) и *рибосомные РНК* (рРНК), вовлеченные в процесс *трансляции* белка. Описано множество новых Н. р., включая следующие типы: (а) *малые ядерные РНК*, которые обнаруживаются в ядрах эукариот в составе *малых ядерных рибонуклеопротеинов* и участвуют в разнообразных процессах (*сплайсинг РНК*, контроль состояния *теломера*); (б) *малые ядрышковые РНК*, принимающие участие в химической модификации рРНК и содержащиеся в *малых ядрышковых рибонуклеопротеинах*; (в) обширное семейство *миРНК*, которые, предположительно, регулируют экспрессию генов (см. *гена экспрессия*) путем комплементарного взаимодействия с *5'-нетранслируемыми областями* мРНК-мишеней; (г) *гидовые РНК*, функция которых — *редактирование РНК*; (д) длинные некодирующие РНК, выполняющие регуляторную, а иногда и структурную функцию (функционалирование *области контроля локуса*, установка и поддержание *геномного импринтинга*, *инактивация X-хромосомы* и т. п.). Гены, кодирующие Н. р., называются генами некодирующих РНК (иногда *РНК-генами*). Вероятно, к ним относится и часть так называемых *псевдогенов*.

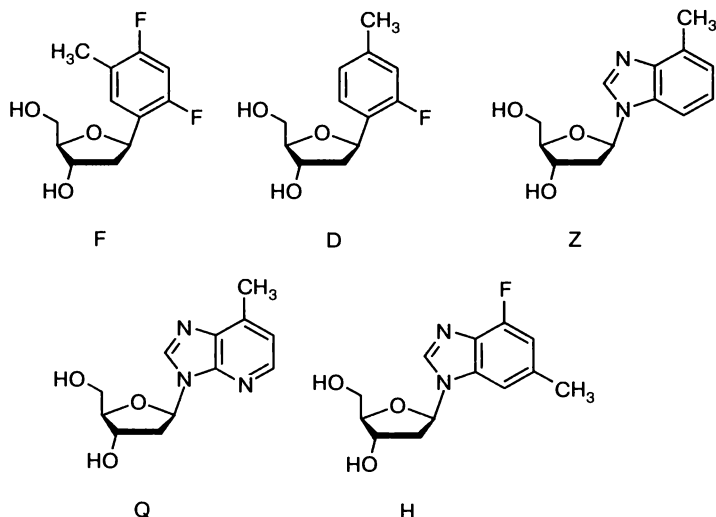
Georg Sczakiel

Неомицин. Аминогликозид, антибиотик широкого спектра, в природе синтезируемый в клетках бактерии *Streptomyces fradiae*. Эффективен против широкого круга грамотрицательных (например, *Escherichia coli*) и большинства грамположительных бактерий. Чрезвычайно нефротоксичен, в том числе и по сравнению с другими аминогликозидами. Очень активный и триплекс-селективный стабилизирующий агент, не влияющий на двуспиральную структуру ДНК или РНК. *In vitro* Н. обнаруживает способность к ингибированию взаимодействия Tat/TAR, т. е. к подавлению связывания Tat-подобных белков с *транс-действующим* участком (TAR) РНК ВИЧ-1. Из-за побочных эффектов Н. не используют при терапии ВИЧ, но на его основе могут быть разработаны новые ингибиторы. Для Н. показана ингибиторная способность в отношении реакции расщепления *молотоголового рибозима*. См. *взаимодействие нуклеиновых кислот с аминогликозидами*.



Bettina Appel

Неполярные изостеры нуклеозидов. Молекулы, имеющие те же пространственные характеристики, что и *нуклеозиды ДНК и РНК*, но неспособные к образованию стандартных уотсон-криковских *водородных связей* (см. *уотсон-криковская пара оснований*). Пиримидины заменяются на замещенные бензолы, а пурины — на замещенные бензимидазолы или 4-азабензимидазолы. Экзоциклические функциональные группы также модифицируются; аминогруппы заменяются на метильные группы, а карбонильные



группы — на атомы фтора; образующиеся молекулы обладают небольшой полярностью, но чрезвычайно сходны с природными нуклеозидами в растворе и спиралах ДНК. Аналоги тимидина (F) и гуанина (H) практически идентичны по размеру и форме соответствующим природным основаниям. Аналоги цитозина (D) и аденина (Z и Q) являются хорошими, но несовершенными изостерами, так как атом азота в цикле в этих соединениях заменен группой СН.

Несмотря на свою неспособность образовывать уотсон-криковские водородные связи, некоторые из этих молекул способны сохранять ряд функций нормальной ДНК. Например, некоторые *ДНК-полимеразы* встраивают аденин комплементарно F практически с той же эффективностью и точностью, что и природный тимин. Серия аналогов на основе F с атомом фтора, замещенным водородом, хлором, бромом или иодом, используется для оценки размеров и точности *активного центра* полимераз в масштабах порядка ангстрема. Дихлорзамещенный вариант F способен реплицироваться в живых бактериях.

Н. и. н. используются в многочисленных исследованиях роли *водородных связей*, размера и формы *пары оснований* в узнавании ДНК и РНК ферментами. Эти эксперименты включают изучение связывания и *изгибания* молекулы ДНК *транскрипционными факторами*, узнавания ДНК белками *репарации* и РНК в ходе *РНК-интерференции*, а также стерических характеристик *активного центра* в *РНК-полимеразах*.

Adam P. Silverman, Eric T. Kool

Непрямой перенос гена. См. *гена перенос*.

Несимметричная пара оснований. Любая пара азотистых оснований, которая не имеет оси симметрии второго порядка, например уотсон-криковская пара.

Неснаряженная тРНК. *Транспортная РНК*, не несущая аминокислоты.

Неспаренное основание. Возникает, когда два некомплементарных нуклеотида образуют пару оснований (см. *оснований пара*). Н. о. в *двуцепочечной ДНК* чаще всего возникает в результате неверного включения *нуклеотида* в ходе *репликации*. Другим частым вариантом оказывается дезаминирование *азотистого основания*, например дезаминирование цитидина приводит к его превращению в уридин. Н. о. в *двуцепочечной ДНК in vivo* распознаются и подлежат репарации.

Slawomir Gwiazda

5'-Нетранслируемая область (5'-UTR). Участок молекулы *матричной РНК*, который содержит *кэп* (обычно 7-метилгуанозин, см. *триметилгуанозин*), *стартовый кодон* для синтеза белка и *сайт связывания* для *рибосомы*. У прокариот сайт связывания рибосомы носит название последовательности Шайна–Дальгарно (см. *Шайна–Дальгарно последовательность*). Сравнительно недавно в 5'-нетранслируемом районе у прокариот обнаружены регуляторные генетические элементы, например *рибопереклюкатели*.

Tina Persson

Неустановленная рамка считывания (НРС). См. *открытая рамка считывания*.

Нижне. В сторону 3'-конца от определенного положения в направленной цепи нуклеиновой кислоты.

Ник. Разрыв *фосфодиэфирного остова* между двумя соседними *нуклеотидами* в одной цепи *двуцепочечной ДНК* (дцДНК). Может быть результатом действия *эндонуклеазы* или повреждающих факторов, например простого механического стресса. Н. в *двуцепочечной ДНК in vivo* распознается и репарируется клеточной системой репарации ДНК.

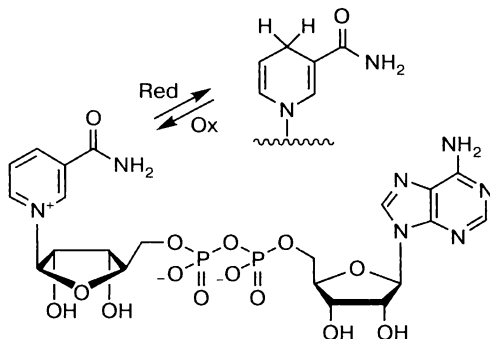
Slawomir Gwiazda

Никированная кольцевая ДНК. *Двуцепочечная ДНК*, образующая кольцо с *ником* в одной из цепей. Наиболее часто возникает в процессе репарации ДНК и изменения топологии кольцевой ДНК, катализируемого *топоизомеразой I*.

Slawomir Gwiazda

Никотинамидадениндинуклеотид (НАД, или англ. NAD). *Кофермент* на основе пиридинового *нуклеотида*, который участвует в биохимических окислительно-восстановительных процессах многих НАД-специфичных субстратов. В окисленной форме катион пиридиния в молекуле никотинамида связан N-гликозидной связью с атомом C1 *D-рибозы*, которая в свою очередь соединена с *аденозином* через пиррофосфатный мостик (см. *пиррофосфат*). В окислительно-восстановительных реакциях НАД восстанавливается путем обратимого связывания атома водорода (реакция переноса гидрид-иона). Из-за положительного заряда катиона пиридиния окисленную форму НАД обозначают как НАД⁺, а восстановленную — НАД-Н. НАД существует в клетках преимущественно в окисленной форме и служит коферментом оксидоредуктаз.

Sabine Müller



Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ, или англ. NADP). Отличается от *никотинамидадениндинуклеотида* (НАД) наличием дополнительной фосфатной группы на 2'-атоме *аденозина*. НАДФ так же, как и НАД, функционирует в качестве кофермента в окислительно-восстановительных реакциях. Однако в клетке существует преимущественно в восстановленной форме и поэтому действует как восстанавливающий агент в процессах синтеза, катализируемых дегидрогеназами и гидрогеназами.

Sabine Müller

Ник-трансляция. Метод, который использует клеточные механизмы репарации для создания меченых ДНК. ДНК-мишень обрабатывают *ДНКазой* для внесения одонитевых *ник*ов. Клеточные системы репарации (в данном случае *ДНК-полимераза I*) детектируют эти *ники* и начинают репарацию, удаляя несколько *нуклеотидов* из никированной цепи за счет собственной экзонуклеазной активности (см. *экзонуклеаза*). Брешь затем заполняется специально мечеными *нуклеотидами* (например, несущими радиоактивную метку).

Slawomir Gwiazda

нкДНК. См. *некодирующая ДНК*.

НМФ. См. *нуклеозидмонофосфат*.

Нозерн-блот. Перенос молекул РНК на носитель. В молекулярной биологии методика Н. используется для идентификации и количественной оценки РНК, экспрессирующихся в клетке. В большинстве случаев вся популяция РНК разделяется по размеру в ходе *гель-электрофореза*, а затем переносится на мембрану (дiazобензилоксиметилловый фильтр, нитроцеллюлозу или нейлон). Анализируемые последовательности РНК можно детектировать *гибридизацией* с мечеными РНК- или ДНК-зондами.

Irene Drude

Нозерн-вестерн, методика. Метод, который сочетает подходы *нозерн-блота* и *вестерн-блота* для идентификации взаимодействий белков с РНК. Сначала фракция белков разделяется по размеру путем *гель-электрофореза*, а затем подвергается переносу (*блоттингу*) на мембрану. Мембрану обрабатывают буферным раствором, который содержит меченую РНК. Белки,

способные к связыванию с молекулами РНК, можно идентифицировать по меткам (радиоактивным, *флуоресцентным красителям* или иным специфическим меткам, которые могут быть связаны с антителами). См. *блоттинг*.

Irene Drude

Нонсенс-кодон. См. *стоп-кодон*.

Нонсенс-мутация. Изменение в кодирующей последовательности ДНК, часто *точечная мутация*, в результате чего (на уровне РНК) кодирующий *триплет* превращается в один из трех *стоп-кодонов*: UAG («амбер»), UAA («охра») и UGA («опал»). Любая Н. может быть классифицирована как амбер-, охра- или опал-мутация (см. *миссенс-мутация*).

Hans-Joachim Fritz

НТФ. См. *нуклеозидтрифосфат*.

Нуклеаза. Фермент (белок или РНК), который расщепляет нуклеиновые кислоты. Н. чрезвычайно важны для круговорота (синтеза и распада) нуклеиновых кислот во всех живых клетках, а также встречаются в некоторых вирусах (ретровирусах). К основным представителям Н. относятся рибо- и дезоксирибонуклеазы (*РНКазы* и *ДНКазы*). И те, и другие подразделяют на *эндонуклеазы* и *экзонуклеазы*.

Uli Hahn

Нуклеиновая кислота. *Биополимер*, состоящий из *нуклеотидов*. Н. к. относятся к наиболее значимым компонентам всех живых организмов. В 1869 г. Фридрих Мишер впервые выделил нуклеиновые кислоты из ядер клеток гноя и назвал полученное вещество «нуклеин». Из-за кислотных свойств молекулы позднее было предложено название «нуклеиновые кислоты». Два основных класса Н. к. составляют дезоксирибонуклеиновые (см. *ДНК*) и рибонуклеиновые (см. *РНК*) кислоты. ДНК и РНК обладают во многом сходной структурой, но значительно различаются по функциям. ДНК служит носителем генетической информации, а РНК преимущественно участвует в процессах реализации и регуляции экспрессии генов (см. *матричная РНК, рибосомная РНК, транспортная РНК, рибосома, некодирующая РНК, рибопереключател*), хотя также может выступать в роли носителя генетической информации.

Молекулярная масса Н. к. варьирует от 20 до 10^6 кДа. *Мононуклеотиды*, из которых построены молекулы Н. к., состоят из трех различных по химической природе компонентов: (а) *пуриновое* или *пиримидиновое основание* (*аденин, гуанин, цитозин и тимин* в ДНК или *урацил* в РНК, а также целый ряд *модифицированных оснований* в РНК (см. *редкое основание*)); (б) остаток сахара — *2-дезокси-D-рибоза* в ДНК и *D-рибоза* в РНК; (в) остаток фосфорной кислоты. Мономеры связаны *фосфодиэфирными связями*, которые образуются между 3'-положением одного нуклеотида и 5'-положением другого нуклеотида. В результате образуется линейная цепь нуклеотидов. *Азотистые основания* в нуклеиновой кислоте участвуют в образовании специфических *водородных связей*, а также в *ван-дер-ваальсовых, гидро-*

фобных и электростатических взаимодействиях, благодаря которым возможно образование широкого круга *вторичных* и *третичных структур*. Н. к. поглощают ультрафиолетовый свет с максимумом около 260 нм благодаря наличию сопряженных двойных связей в гетероциклических системах азотистых оснований (см. *ДНК структура, РНК структура*).

Sabine Müller

Нуклеиновая кислота-зонд. Зонды используются для детектирования известных нуклеиновых кислот (РНК или ДНК) в образце. Такой зонд состоит из мотива ДНК, РНК или искусственной нуклеиновой кислоты и репортерной системы. *Последовательность* зонда сконструирована таким образом, что она комплементарна мишени, что делает возможным гибридизацию между мишенью и зондом. В качестве репортерной группы могут быть использованы хромофоры (см. *флуоресцентное мечение*), радиоактивные изотопы (см. *радиоактивное мечение*) или группы, делающие возможным детектирование в ходе последующей ферментативной реакции (см. *биотинное мечение*).

Зонды на основе нуклеиновых кислот могут быть использованы для гетерогенного детектирования целевых нуклеиновых кислот. Гетерогенный характер реакции основан на прикреплении мишени или зонда к твердой фазе или гелевой подложке. Наиболее часто применяют *саузерн-блот*, *нозерн-блот*, «*дот-блот*» (см. *блот-анализ*), *ДНК-чип* и *ДНК-микроматрицы*. Гетерогенная фаза нужна для *гибридизации* зонда. После осуществления гибридизации несвязанные избыточные молекулы зонда отмывают. Области, в которых произошло связывание, детектируют с использованием репортерной группы.

Зонды на основе нуклеиновых кислот также используют для гомогенного детектирования целевых нуклеиновых кислот без удаления избыточных количеств зонда. Следовательно, успешная гибридизация должна сопровождаться детектируемым изменением определенных свойств зонда. Одно из преимуществ детектирования в гомогенной системе заключается в том, что можно проследить гибридизацию нуклеиновых кислот в реальном времени, при необходимости даже в живой клетке. Детектирование *in vitro* часто сопряжено с *полимеразной цепной реакцией в реальном времени* для амплификации целевых нуклеиновых кислот. Многие зонды для ПЦР в реальном времени основаны на взаимодействии двух хромофоров, которое зависит от расстояния (см. *FRET*). Часто используют такие типы зондов, как *молекулярные маяки*, *TaqMan-зонды* и подобные репортерные системы. Локализация *генов* на хромосоме (см. *гена локализация*) может осуществляться путем обработки фиксированных клеток зондами на основе нуклеиновых кислот. Предсказуемое взаимное распознавание зонда и мишени позволяет провести детектирование и локализацию целевых нуклеиновых кислот даже в многокомпонентных биологических системах.

Lucas Bethege, Oliver Seitz

Нуклеиновая кислота-катализатор. См. *дезоксирибозим, рибозим*.

Нуклеиновые кислоты для кристаллографических исследований. Кристаллизация (см. *кристаллизация нуклеиновых кислот*) требует достаточ-

но большого количества химически и конформационно однородного материала. Хотя одним из побочных технологических результатов структурной геномики стала разработка роботизированных методов кристаллизации, для которой необходимо по крайней мере на порядок меньше материала, для успешного кристаллографического эксперимента все еще нужно несколько миллиграммов образца. Лишь немногие нуклеиновые кислоты могут быть получены прямым выделением из клеток (например, *транспортные РНК* или *рибосомы*, которые можно рассматривать как молекулы РНК, связанные с белками).

Приготовление ДНК для кристаллографических исследований обычно связано с продуктивным химическим синтезом с использованием *фосфорамидитов*. Химический синтез РНК оказывается более затратной и менее эффективной процедурой, чем синтез ДНК, так как требуется дополнительная защита 2'-гидроксильной группы. Для получения синтетических РНК в количествах, достаточных для кристаллизации, могут быть использованы сравнительно крупные лабильные в присутствии фторид-ионов 2'-силилэфирные защитные группы. Альтернативный путь, позволяющий получить большие количества РНК, связан с синтезом на основе 5'-силил-2'-ацетоксиэтиловых ортоэфиров. Химический синтез пока еще остается инструментом получения относительно коротких *олигонуклеотидов* (до 50 нуклеотидов). Тем не менее преимущество таких методик состоит в возможности внедрения *модифицированных нуклеотидов* в специфических положениях, например модификации 2'-гидроксильной группы, которые применяются при изучении работы *рибозимов*, или внедрение бромированных или иодированных мономеров, позволяющих осуществить точное фазирование.

Кроме того, для получения РНК был развит эффективный ферментативный метод на основе *РНК-полимеразы фага Т7*. Необходимое для такой работы большое количество РНК-полимеразы легко получить методами геной инженерии. В качестве *матрицы* можно использовать синтетическую ДНК, в которой двуцепочечной достаточно быть только области *промотора*. Другой вариант — клонировать матрицу для целевой РНК в *многокопийную плазмиду* под контролем промотора фага Т7 так, чтобы она завершалась *сайтом рестрикции*. После подготовки и линеаризации плазмиды РНК можно синтезировать путем *стоковой транскрипции*. Ферментативный синтез практически не накладывает ограничений на размер образующейся РНК. Однако для эффективной транскрипции с участием РНК-полимеразы транскрипт должен начинаться с одного (или большего числа) остатка гуанозина, а это также сужает круг возможных синтезируемых РНК. Кроме того, РНК-полимеразы Т7 имеет свойство добавлять 1–3 нуклеотида (в дополнение к непосредственно кодированным в матрице) к 3'-концу транскрипта, что порождает неоднородность транскрибированных последовательностей и в дальнейшем затрудняет кристаллизацию. Это ограничение удастся снять добавляя небольшие фрагменты со свойствами рибозимов к 5'- и 3'-концам РНК-гена. Целевая РНК высвобождается из транскрипта большего размера путем расщепления (например, при добавлении ионов Mg^{2+}). Наконец, при получении длинных молекул РНК с модификациями в определенных

положениях можно сочетать химический и ферментативный пути синтеза. Фрагменты, получаемые синтетически и ферментативно, состыковывают с использованием ДНК-матриц и лигируют ДНК-лигазой фага Т4 или РНК-лигазой.

В случае очень коротких синтетических олигомеров очистка с целью их кристаллизации сводится к простому осаждению этанолом; в случае фрагментов среднего размера высоко эффективны методы хроматографии. Наиболее широко распространенный метод очистки — электрофорез в полиакриламидном денатурирующем геле с добавлением мочевины, который позволяет разделить даже длинные фрагменты, различающиеся по длине в один нуклеотид. Целевую нуклеиновую кислоту детектируют путем ультрафиолетового оттенения, фрагмент вырезают из геля и элюируют отмыванием или переносом в электрическом поле. Альтернативный метод — аффинная хроматография. Необходимая РНК синтезируется в ходе транскрипции, катализируемой РНК-полимеразой Т7, с присоединенными на концах рибозимными фрагментами, кроме того, к одному из концов присоединена белок-связывающая последовательность. Образующаяся при синтезе РНК может быть отделена на аффинной колонке, заполненной соответствующим белком. Затем целевую РНК можно селективно выделить при индуцированном рибозимном расщеплении.

Markus Wahl

Нуклеиновых кислот аналоги. См. *модифицированные ДНК, модифицированные РНК, морфолиновые олигонуклеотиды, ГНК, ТНК, ЦеНК, АНК, гекситолнуклеиновая кислота.*

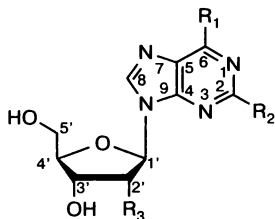
Нуклеиновых кислот библиотека. См. *последовательностей набор.*

Нуклеиновых кислот метаболизм. Состоит из трех основных процессов, происходящих в живых клетках: *репликации*, репарации и рекомбинации. Синтез нуклеиновых кислот представляет собой анаболический процесс, разрушение нуклеиновых кислот — катаболический. См. *ДНК репликация, ДНК репарация, ДНК рекомбинация.*

Bettina Appel

Нуклеиновых кислот химия. Химия *нуклеозидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот.* К этой области относят и мечение *нуклеиновых кислот.*

Нуклеозид. N-Гликозид гетероциклического азотистого основания. Особое биологическое значение имеют Н., образованные из пентоз и *пуриновых оснований (аденина и гуанина)* или *пиримидиновых оснований (цитозина и тимина в ДНК, цитозина и урацила в РНК)*. Углеводный компонент представлен *рибозой* (в РНК) или *2'-дезоксирибозой* (в ДНК) в фуранозной форме. Атом С1 остатка сахара присоединен к N9 пуринового основания или N1 пиримидинового N-гликозидной связью. Чтобы различать атомы в сахарном остатке и в азотистом основании, атомы углерода в пентозе нумеруют от 1' до 5'. В дезоксинуклеотидах рибоза заменена на 2'-дезоксирибозу. Некоторые молекулы РНК (например, *транспортные РНК*) содержат *редкие нуклеотиды* с химически модифицированными сахарами или основаниями.

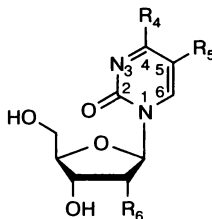


$R_1 = \text{NH}_2$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{H}$
2'-дезоксиаденозин

$R_1 = \text{NH}_2$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$
аденозин

$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{NH}_2$, $R_3 = \text{H}$
2'-дезоксигуанозин

$R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{NH}_2$, $R_3 = \text{OH}$
гуанозин



$R_4 = \text{NH}_2$, $R_5 = \text{H}$, $R_6 = \text{H}$
2'-дезоксидитидин

$R_4 = \text{NH}_2$, $R_5 = \text{H}$, $R_6 = \text{OH}$
цитидин

$R_4 = \text{OH}$, $R_5 = \text{CH}_3$, $R_6 = \text{H}$
тимидин

$R_4 = \text{OH}$, $R_5 = \text{H}$, $R_6 = \text{OH}$
уридин

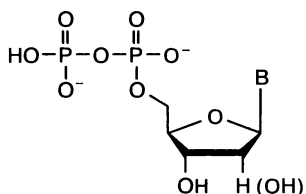
Нуклеозиды

Только сочетания рибозы или 2'-дезоксирибозы с пятью основаниями в том виде, в каком они существуют в молекулах нуклеиновых кислот, представляют собой нуклеозиды в строгом смысле. Тем не менее любую комбинацию остатка сахара с гетероциклическими основаниями зачастую тоже называют нуклеозидом.

Sabine Müller

Нуклеозиддифосфат. *Нуклеозид*, в котором *пирофосфат* присоединен к 5'-гидроксильной группе. Биологическое значение имеют рибонуклеозид- и 2'-дезоксирибонуклеозиддифосфаты.

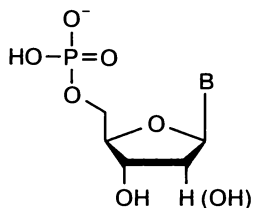
Sabine Müller



$B =$ Аденин
Цитозин
Гуанин
Тимин
Урацил

Нуклеозидмонофосфат. *Нуклеозид*, в котором фосфатная группа присоединена к 5'-гидроксильной группе. Биологическое значение имеют рибонуклеозид- и 2'-дезоксирибонуклеозидмонофосфаты.

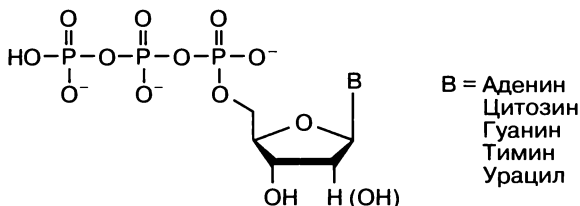
Sabine Müller



$B =$ Аденин
Цитозин
Гуанин
Тимин
Урацил

Нуклеозидтрифосфаты. *Нуклеозид*, в котором к 5'-гидроксильной группе присоединена трифосфатная группа. Биологическое значение имеют рибонуклеозид- и 2'-дезоксирибонуклеозидтрифосфаты.

Sabine Müller



Нуклеозидфосфаты. См. *нуклеотиды*.

Нуклеосома. Основная повторяющаяся единица эукариотического *хроматина*, состоящая из ДНК и четырех пар гистонов (см. *коровая ДНК*, *коровая частица*).

Нуклеотид. *Моноэфир фосфорной кислоты и нуклеозида*. Эфир с фосфорной кислотой образует 5'- или 3'-гидроксильная группа. В случае *рибонуклеозидов* 2'-гидроксильная группа также может быть связана с фосфатом. Кроме того, две гидроксильных группы одного нуклеозида могут реагировать с фосфорной кислотой с образованием *циклических фосфатов*. Особое биологическое значение имеют 5'-фосфаты. Они могут существовать в виде моно-, ди- или трифосфатных производных, в которых с 5'-гидроксильной группой связываются фосфорная, пиррофосфорная или трифосфорная кислоты. Нуклеотиды и 2'-дезоксинуклеотиды являются мономерами *олигонуклеотидов* и нуклеиновых кислот. В частности, 5'-нуклеозидтрифосфаты играют роль активированных реагентов в синтезе *полинуклеотидов* (см. *нуклеозиддифосфат*, *нуклеозидмонофосфат*, *нуклеозидтрифосфат*, *репликация*, *транскрипция*).

Циклические 3',5'-фосфаты также играют очень важную роль в клеточном метаболизме (см. *циклические фосфаты*).

Sabine Müller

Нуклеотида выворачивание. См. *оснований выворачивание*.

Нуклеотида инцизионная репарация. См. *ДНК репарация*.

Нуклеотида эксцизионная репарация. См. *ДНК репарация*.

Нуклеотидная последовательность. Буквенная запись, отражающая последовательность *оснований* на *сахарофосфатном остове*. По умолчанию последовательность записывают в направлении 5'→3'. Используются следующие буквенные обозначения: А — аденин, С — цитозин, G — гуанин, Т — тимин. В молекуле РНК тимин замещен урацилом (U). В конкретных случаях в Н. п. могут встречаться и другие нуклеотиды. Для учета таких случаев однобуквенные обозначения были дополнены буквами, которые отражают любую возможную комбинацию нуклеотидов. Эта кодировка была определена решением Международного союза теоретической и прикладной химии:

A = аденин; C = цитозин; G = гуанин; T = тимин; U = урацил; R = G, A; Y = T(U), C; K = G, T(U); M = A, C; S = G, C; W = A, T(U); B = G, T(U), C; D = G, A, T(U); H = A, C, T(U); V = G, C, A; N = A, G, C, T(U).

Slawomir Gwiazda

Нуклеотидный выступ. Выступающий одноцепочечный конец в молекуле *двуцепочечной ДНК*, обычно образующийся в результате действия ферментов *рестрикции*, *нуклеаз* или после гибридизации *комплементарных цепей* в условиях *in vitro*. Обычно выделяют 5'- и 3'-выступы, что подчеркивает, какой из концов молекулы выступает.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Нуклеотидный состав. Содержание четырех нуклеотидов в составе *олигонуклеотида*. Н. с. определяет *температуру плавления* олигонуклеотидного дуплекса.

Slawomir Gwiazda

Нуклеотидный триплет. См. *оснований триплет*, *антикодон*, *кодон*.

Нуль-мутация. *Мутация*, вызывающая полное отсутствие нормальной функции гена. *Фенотип* нуль-мутации может быть вызван, например, делецией целого гена (см. *гипоморфная мутация*, *гиперморфная мутация*).

Hans-Joachim Fritz

О

Области контроля локуса (LCR). Определяются по способности повышать уровень экспрессии сцепленных с ними *генов* в *эктопических сайтах хроматина* до физиологического уровня в зависимости от ткани и числа копий. Компоненты LCR обычно совпадают по локализации с сайтами повышенной чувствительности к ДНКазе I в *хроматине* клеток с высоким уровнем экспрессии генов. Основным элементом этих областей являются многочисленные *сайты связывания* повсеместных и специфических *транскрипционных факторов*. Этот вид регуляторных элементов описан для очень многих генных систем у млекопитающих, хотя их состав и расположение по отношению к сцепленным с ними генам различны.

Beatrix Süß

Область контроля локуса. *цис-Действующая последовательность* ДНК, способная к усилению экспрессии сцепленного с ней гена при интеграции в *эктопические сайты хроматина*. О. к. л. впервые идентифицированы у трансгенных мышей и фенотипически охарактеризованы в ходе сравнения уровней экспрессии сцепленных с ними генов в различных тканях и при разных физиологических состояниях, по активации *транскрипции транс-генов*, зависящей не от положения, а от числа копий и при определении времени и *ориджина* репликации (см. *ДНК репликация*).

Mauro Santos

Образование сшивки между цепями. См. *сшивок в ДНК образование*.

Обратная транскриптаза. Катионзависимая ДНК-полимераза, которая синтезирует ДНК, используя ДНК или РНК в качестве *матрицы*. Основной белок в механизме *обратной транскрипции*. О. т. найдены в ретровирусах, ретровирусоподобных частицах, а также в клетках эукариот. Эукариотические клетки используют О. т. с интегрированными в них цепями РНК для амплификации G-обогащенных *повторяющихся последовательностей* в *теломерах*. *Теломеразы* ответственны за поддержание длины теломер, что в свою очередь играет важную роль в процессе старения. Ингибиторы О. т. (например, сумарин или дезоксицитидин) используют в терапии ретровирусных инфекций.

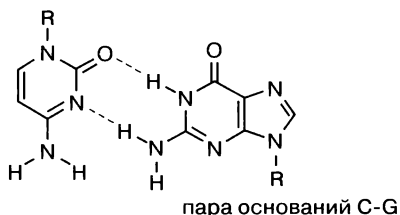
Irene Drude

Обратная транскрипция. Механизм синтеза ДНК на *матрице* РНК с участием фермента *обратной транскриптазы*. Для получения ДНК-копии с РНК обратная транскриптаза использует короткий *праймер*, к которому присоединяются *дезоксинуклеотиды* в направлении 5'→3'. Внутренний домен *РНКазы* Н позволяет осуществить деградацию РНК-матрицы в *ДНК-РНК-гибриде* сразу после синтеза *ДНК*. Синтезированная цепь ДНК становится матрицей для катализируемого обратной транскриптазой синтеза *двуцепочечной ДНК* (дцДНК). Для осуществления каталитической активности этот фермент нуждается в двухвалентных катионах (например, магния или марганца). Обратная транскриптаза не обладает *проверочной активностью*, что часто приводит к неточному синтезу ДНК. В ходе *полимеризации* фермент также может менять матрицы, что приводит к *рекомбинации*.

Ретровирусы используют О. т. для синтеза *двуцепочечной ДНК* на основе собственного РНК-генома. Затем полученная ДНК может интегрироваться в хозяйский геном путем трансфекции. В эукариотических клетках О. т. играет важную роль в процессе старения. *Теломераза* содержит интегрированную РНК-матрицу для амплификации G-обогащенных повторяющихся последовательностей в *теломерах*. В генной инженерии обратную транскриптазу используют для синтеза *кДНК* на матрице мРНК для дальнейшего *клонирования в векторы* или для количественного определения содержания специфических *матричных РНК* путем *полимеразной цепной реакции*.

Irene Drude

Обратная уотсон-криковская пара оснований. Взаимодействие *азотистых оснований уотсон-криковскими сторонами*, но таким образом, что *гликозидная связь* оказывается в *транс-положении*, а псевдоось второго порядка проходит перпендикулярно плоскости пары. Цепи нуклеиновой кислоты, участвующие в таком взаимодействии, должны находиться в *параллельной ориентации*. В частности, термин относится только к комбинациям А-Т(У) и С-Г. Однако в различных *структурах РНК* обнаружено



R = дезоксирибоза

множество пар оснований, которые взаимодействуют так, что гликозидные связи находятся в *транс*-положении (см. *геометрическая номенклатура и классификация пар оснований РНК*).

Sabine Müller, Bettina Appel

Обратный сплайсинг. Механизм, по которому *интроны* переносятся в новые *гены* (см. *интрона хоуминг, ретрохоуминг*).

Обращенная повторяющаяся последовательность. См. *обращенный повтор, палиндром*.

Обращенно-фазовая хроматография. Метод хроматографии, позволяющий разделять молекулы в соответствии с их полярностью. Этим методом могут быть успешно разделены только неполярные вещества. Отрицательно заряженные фосфатные группы нуклеиновых кислот необходимо маскировать положительно заряженными алкиламмониевыми группами. Обычно в буфер добавляют ионы тетрабутил- или триэтиламмония. Синтетические нуклеиновые кислоты, которые нужно очистить с помощью обращенно-фазовой хроматографии, содержат, кроме того, диметокситритильные группы (ДМТ; ДМТ-группы на 5'-конце не удаляются на последней стадии синтеза). Твердые сорбенты, используемые в очистке нуклеиновых кислот, обычно содержат C_{18} -алкильные цепи, которые связывают длинные нуклеиновые кислоты лучше, чем короткие цепи. Последующее элюирование достигается повышением количества неполярных компонентов (например, ацетонитрила) в составе буфера. См. *ионообменная хроматография*.

Jörn Wolf

Обращенный повтор. Последовательность ДНК, повторенная на той же ориентации на комплементарной цепи, например 5'-ACACAT-ATGTGT-3'. Если между частями О. п. нет промежуточной последовательности, говорят о *палиндроме*.

Mauro Santos

Общий кислотно-основной катализ. Для облегчения переноса протона *функциональные группы в активном центре катализатора* играют роль кислоты или основания. Принцип — использовать небольшие *рибозимы* для осуществления *трансэтерификации*. В ходе *катализа* атакующая 2'-гидроксильная группа депротонируется за счет функциональных групп боковой цепи, что повышает ее нуклеофильность. Одновременно вторая боковая цепь, выступая в качестве кислоты, стабилизирует 5'-гидроксильную группу за счет донирования протона.

Denise Strohbach

Оголенная ДНК. Чистая ДНК, которая не связана и не переносится белками (например, *гистонами* или вирусными белками).

Одиночный оборот. Ферментативные реакции характеризуются кинетикой различной сложности. Варьирование экспериментальных условий позволяет анализировать начальные или конечные стадии реакции. Изучение кинетики О. о. предполагает, что субстрат смешивается со значительным

избытком фермента, что обуславливает связывание по реакции второго порядка, которую можно соответствующим образом проанализировать (см. *константа скорости*). За связыванием следует ферментативный процесс (в одну или несколько стадий), и кинетика О. о. предполагает, что каждая молекула фермента реагирует с только одной молекулой субстрата. Таким образом, в условиях О. о. стадия высвобождения продукта не оказывает влияния на наблюдаемую скорость ферментативной реакции (см. *множественные обороты*).

Christian Herrmann

Однобуквенный код. Классические однобуквенные обозначения нуклеотидов: А — adenine (аденин), С — cytosine (цитозин), G — guanine (гуанин), Т — thymine (тимин), U — uracil (урацил). В русскоязычной литературе, как правило, эти обозначения переводят: А, Ц, Г, Т, У. В дополнение к ним, для записи вырожденных последовательностей нуклеотидов был придуман однобуквенный шифр, основанный на простых мнемонических правилах. S — это С или G (strong — сильный, так как нуклеотидная пара G-C удерживается тремя водородными связями) и W — это А или Т (weak — слабый, так как нуклеотидная пара А-Т удерживается только двумя водородными связями). R — это А или G (purine — пуриновое основание) и Y — это С или Т (pyrimidine — пиримидиновое основание). М — это А или С (amino, так как молекулы этих оснований содержат аминогруппу) и К — это G или Т (keto, так как молекулы этих оснований содержат кетогруппу). В — это С или G или Т (т. е. не А (не аденин); буква В следует за А), D — это А или G или Т (т. е. не С (не цитозин); буква D следует за С), Н — это А или С или Т (т. е. не G; буква Н следует за G), V — это А или С или G (т. е. не Т; следовало бы использовать букву U, но она уже обозначает урацил, поэтому берут следующую после нее V). Часто встречается также I — inosine (инозин — нуклеотид, азотистым основанием которого является гипоксантин). N — nucleotide (любой нуклеотид; другой вариант — any). В отличие от основных четырех (пяти) обозначений, остальные даже в русских текстах традиционно пишут латиницей. Все эти обозначения приведены в таблице. Стоит отметить, что в зависимости от контекста коды могут означать и азотистые основания, и (чаще) нуклеозиды или нуклеотиды. Исключения составляют I (всегда только нуклеотид) и обозначения редких нуклеотидов, например Ψ — псевдоуридин (только нуклеозид). Иногда обозначения используются иначе, чем обычно, например D при обсуждении tРНК означает дигидроуридин.

Однокопийная последовательность. *Кодирующие последовательности* (или *некодирующие последовательности*), присутствующие в геноме в виде единственной копии.

Однокопийные гены. Активные копии *генов*, не имеющие сходных последовательностей в геноме.

Однонитевой обмен. См. *гомологичная рекомбинация*.

Однонитевой разрыв (SSB). Разрыв одной из двух цепей *двуцепочечной ДНК*. Хромосомные О. р. — распространенный тип повреждений в клетках,

когда ДНК повреждается эндогенными свободными радикалами и *алкилирующими агентами*. Кроме того, О. р. могут быть вызваны также некоторыми генотоксинами окружающей среды, ионизирующей радиацией, противораковыми препаратами или *топоизомеразами*.

Matthäus Janczyk

Однонуклеотидные полиморфизмы (снипы, SNP). Наследуемые замены нуклеотидов (см. *точечные мутации*), характерные для отдельных особей вида и присутствующие в популяции с частотой не менее 1%. SNP представляют собой наиболее распространенный тип *мутаций* у человека, составляющие в среднем примерно 0,1% *генома*. В геноме человека описано более миллиона SNP. Их классифицируют по локализации в геноме.

Тип SNP	Расположение в геноме
Геномные SNP (gSNP)	В некодирующей части <i>генома</i>
Кодирующие SNP (cSNP)	В кодирующих частях <i>генов</i>
Регуляторные SNP (rSNP)	В регуляторных областях генов (см. <i>регуляторный ген</i>)
Интронные SNP (iSNP)	В <i>интронах</i>

Предполагается, что большинство SNP расположены в 95% *генома*, не кодирующих белки (см. *некодирующая ДНК*). SNP могут изменять функцию ДНК, РНК и белков. cSNP влияют на последовательность белков за счет несинонимичных замен (см. *генетический код*). SNP с известным влиянием на *фенотип* могут быть обнаружены при изучении ассоциаций, в то время как фенотипически неотличимые SNP выявляются при скрининге SNP или анализе структуры *генома*. С SNP связан риск развития определенных заболеваний, например таких, как серповидноклеточная анемия, кистозный фиброз, фенилкетонурия и семейная гиперхолестеринемия. Кроме того, комбинация нескольких SNP могут быть причиной повышенного риска онкологических и других заболеваний.

Tom N. Grossmann, Oliver Seitz

Одноосновная мутация. См. *точечная мутация*.

Окрашивание серебром. Метод гистохимического окрашивания, впервые примененный в отношении белков и полипептидов, а затем для окрашивания нуклеиновых кислот. Образцы разделяют в ходе *гель-электрофореза* и обрабатывают раствором, содержащим ионы серебра, которые связываются с *основаниями* и восстанавливаются в ходе химической реакции или под действием света. О. с. в 100 раз более чувствительно, чем другие методы окрашивания (например, кумасси) или по сравнению с радиоизотопными методами.

Jörn Wolf

2',5'-Олигоаденозин. Необычный нуклеотид pppA-(2'p5'A)_n, где *n* = 1–10, выступает в роли активатора неактивной РНКазы L. Этот фермент разрушает *матричные РНК* для ингибирования биосинтеза белка в клетках, пораженных вирусами.

2',5'-Олигоаденозинсинтетаза. Фермент, поддерживающий синтез 2',5'-*олигоаденозина*, олигонуклеотида, обеспечивающего активацию РНК-разрушающего фермента (см. 2',5'-*связывание*).

Олигодезоксирибонуклеотид. См. *олигонуклеотид*.

Олигомер. Молекула, состоящая из небольшого числа повторяющихся структурных элементов.

Олигонуклеотид. Короткая нуклеиновая кислота, состоящая менее чем из 50 *нуклеотидов*, которую можно искусственно синтезировать (см. *синтез олигонуклеотидов*).

Олигонуклеотидный чип. См. *ДНК-чип*, *ДНК-микроматрица*.

Олигонуклеотидов зонд. См. *нуклеиновая кислота-зонд*.

Олигонуклеотидов мечение. Введение метки в ДНК или РНК, обычно с целью проследить за нуклеиновой кислотой, выяснить ее функцию или изменить ее характеристики. Например, флуоресцентная метка, биотиновая метка, радиоактивная и изотопная метки. Некоторые подходы позволяют использовать олигонуклеотидные метки также вместе с химическими и ферментативными метками.

Химическое мечение позволяет ввести модифицированные нуклеозиды в специфические положения в цепи ДНК или РНК. Модификации могут быть внесены химически на 3'- или 5'-концы или во внутренние части молекулы. Некоторые атомы нуклеозида могут быть изменены, как в нуклеозидном основании, так и в сахаре. Для химического мечения можно использовать две различные стратегии. Одна стратегия состоит в том, чтобы создать модифицированный нуклеозид путем химического синтеза и внедрить его в нуклеиновую кислоту с помощью *фосфорамидитного метода синтеза олигонуклеотидов*. Согласно второй стратегии, относящейся к постсинтетическому мечению, *фосфорамидитный метод* применяется для внедрения в молекулу нуклеиновой кислоты трансформируемого нуклеозида, содержащего реакционную группу, которая после синтеза олигонуклеотида избирательно модифицируется с использованием определенной метки. В качестве реакционной группы, как правило, выступает тио- или аминогруппа. Основное преимущество постсинтетического мечения состоит в том, что как только нуклеиновая кислота, включающая трансформируемый нуклеотид, создана, становится возможным быстрый и эффективный синтез разнообразных *модифицированных нуклеиновых кислот*. Другое преимущество в том, что чувствительные метки, которые могут быть нестабильны в условиях твердофазного олигонуклеотидного синтеза, легко включаются в нуклеиновые кислоты.

Для включения меток в нуклеиновые кислоты используются также ферменты, чаще всего они применяются для *концевого мечения*, т. е. для внедрения метки на 3'- или 5'-конец молекулы нуклеиновой кислоты. *Киназы* применяют для присоединения радиоактивного фосфата (^{32}P) на 5'-конец (см. *радиоактивное мечение*), а для включения модифицированных ну-

клеотидов на 3'-конец молекулы могут быть использованы *лигазы*. Для последнего подхода нужны модифицированные нуклеозиды, содержащие 5'-фосфат. Для внедрения меток во внутренние части ДНК и РНК можно также применять *полимеразы*, и их обычно используют при биофизических исследованиях нуклеиновых кислот для создания олигомеров, содержащих изотопные метки. Такой подход, впрочем, не работает для одиночного сайт-специфического включения метки и, как правило, проводится для единообразного мечения олигомеров. Для включения *тиофосфата* на 5'-конец РНК в процессе синтеза РНК на *матрице* ДНК может быть использована РНК-полимераза Т7. Тиофосфат может затем реагировать с разнообразными метящими реагентами.

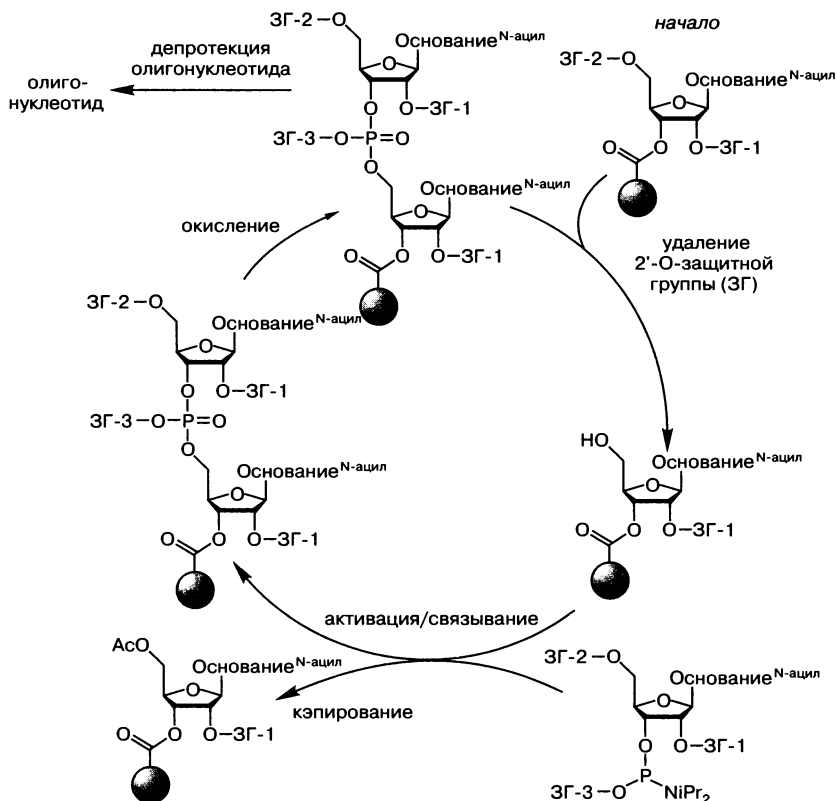
Snorri Th. Sigurdsson

Олигонуклеотидов мутагенез. См. *сайт-направленный мутагенез*.

Олигонуклеотидов синтез. Химический синтез *олигонуклеотидов* наиболее эффективен в твердофазном варианте, основанном на фосфорамидитных нуклеозидных строительных блоках (см. *фосфорамидитный метод*). Другие методы, такие как *фосфодиэфирный метод*, *фосфотриэфирный метод* или *Н-фосфонатный метод*, представляют сегодня в основном исторический интерес и применяются крайне редко.

Химический синтез олигонуклеотидов реализуется на *твердом носителе* пошаговым добавлением соответствующим образом активированных и защищенных нуклеозидных строительных блоков, до тех пор пока не будет получена заданная последовательность. Далее все *защитные группы*, необходимые в процессе элонгации цепи, удаляются одновременно с отсоединением олигонуклеотида от твердой подложки. Длина и состояние (чистота) продукта определяется качеством связывания и удаления защитных групп.

На протяжении последних 30 лет многие исследовательские группы внесли свой вклад в развитие синтеза ДНК-олигонуклеотидов; метод стал одной из наиболее продвинутых областей химического синтеза, он характеризуется высокой эффективностью и в значительной степени автоматизирован. В настоящее время используется практически исключительно *фосфорамидитный метод*. Он основан на нуклеозид-3'-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидитных) строительных блоках, которые активируются *in situ* слабыми кислотами, чаще всего с помощью 1Н-тетразола и его производных. Их присоединение к 5'-гидроксильным группам растущих олигонуклеотидных цепей приводит к образованию фосфорсодержащих триэфиров (фосфитных триэфиров), которые в дальнейшем окисляются до соответствующих триэфиров фосфорной кислоты (фосфотриэфиров). Положения 5'-О фосфорамидитных строительных блоков, как правило, защищены лабильными в кислой среде 4,4'-диметокситритильными группами, которые обеспечивают удобный одновременный мониторинг эффективности связывания. После того как синтез цепи ДНК закончен, высвобождение последовательности с твердой подложки и удаление ацетильных защитных групп с азотистых оснований и фосфодиэфирных фрагментов проводят в одну стадию в щелочной среде; как правило, используется концентрированный раствор аммиака в смеси вода/этанол.



Фосфорамидитный метод применяется также для химического синтеза РНК. По сравнению с ДНК, каждый нуклеотид в цепи РНК содержит 2'-гидроксильную группу, которая делает РНК нестабильной в щелочных условиях. Эта гидроксильная группа должна быть защищена при сборке олигорибонуклеотида. Поскольку РНК-продукты подвержены щелочному гидролизу, удаление этих дополнительных 2'-О-защитных групп производится отдельно после стадии щелочной депротекции. Как следствие, на выбор защитной группы для 2'-гидроксила накладываются наибольшие ограничения. Она должна быть строго ортогональна (инертна) по отношению ко всем остальным активируемым кислотами и основаниями в стадиях синтеза и удаления защитных групп.

Известные защитные группы для 2'-гидроксила можно разделить на неустойчивые к кислотам, фотолabile и неустойчивые к фторид-ионам. Наиболее широкое применение получила неустойчивая к фторид-ионам *трет*-бутилдиметилсилильная группа (см. *TBDMS-метод*). В современных подходах весьма успешно используется ([триизопропилсилил]окси)метильная группа (см. *TOM-метод*) и неустойчивая к кислотам бис(ацетоксиэтокси)метильная группа (см. *ACE-метод*).

Ronald Micura

Олигорибонуклеотид. См. *олигонуклеотид*.

Онкоген. *Ген*, продукт которого может так изменять эукариотическую клетку, что она приобретает способность к неконтролируемому делению (рост опухоли). Если обсуждаемый ген собственный для данной клетки, его также называют протоонкогеном. Некоторые вирусы могут переносить онкогены, т. е. клеточный ген, способный изменить клетку, внедряется в вирусный геном. В этом случае вирусный и клеточный гены называют v-онс и с-онс соответственно.

Mauro Santos

Опал-кодон. UGA-*стоп-кодон*, узнаваемый специфической супрессорной транспортной РНК. Пришедшее из лабораторной практики название *нонсенс-мутации* происходит от штамма *E. coli*, демонстрирующего опал-мутацию (Op); обыграно название минерала «опал» по аналогии с амбер-кодами.

Stefan Vörtler

Опал-мутация. Частный случай *нонсенс-мутации*.

Оператор. См. *оперон*.

Оперон. Единица экспрессии и регуляции бактериальных *генов*. Группа соседних *генов*, транскрибируемых под одним *промотором* и контролируемых как единое целое, дающее начало *полицистронной РНК*. Включает один или более структурных *генов* и регуляторную часть. В регуляторной последовательности находится промотор — сайт *связывания РНК-полимеразы*. Обязательными регуляторными элементами являются операторы — сайты связывания *репрессорных* и *активаторных белков*. Транскрипция структурных *генов* происходит до тех пор, пока репрессор не свяжется с оператором или пока присутствует активатор.

Beatrix Süs

Оптическая плотность. Параметр, используемый в спектрофотометрии. $A = \lg I_0 / I$, где A — оптическая плотность; I_0 и I — интенсивности падающего и проходящего света при данной длине волны. Ранее эту величину называли также *экстинкцией* (см. *Ламберта—Бера закон*).

Valeska Dombos

Ориджин. Репликация ДНК начинается с особой последовательности *нуклеотидов*, называемой О. (точкой начала). Эта последовательность определяется особым комплексом белков, распознающим ориджин (ОРК). *Ориджин хромосомы Escherechia coli (oriC)* определен и его структура очень хорошо охарактеризована. ДНК эукариотических *хромосом* имеет множество О.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

ОРС. См. *открытая рамка считывания*.

Осаждение. Выделение растворенного компонента из раствора. Может быть индуцировано добавлением к раствору вещества, которое уменьшает растворимость компонента, или при изменении температуры раствора. Чаще всего в химии ДНК и РНК используют О. этанолом. Добавление эта-

нола к водным растворам ДНК или РНК вызывает их О. Эффект может быть усилен путем оптимизации рН и ионной силы, а также при охлаждении. Осажденная ДНК или РНК может быть получена путем центрифугирования в виде осадка, который используют для дальнейших процедур.

Slawomir Gwiazda

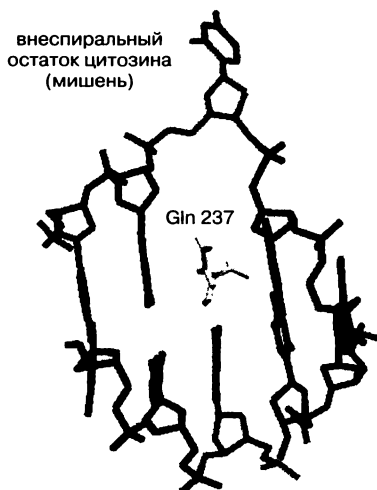
Основание нуклеиновой кислоты. См. *азотистое основание*.

Основание. См. *азотистое основание*.

Оснований выворачивание. Явление выворачивания оснований ДНК впервые наблюдали в кристаллической структуре *цитозин(С5)-метилтрансферазы* из *Haemophilus haemolyticus* (М. *HhaI*) в комплексе с коротким дуплексным олигодезоксирибонуклеотидом и кофактором S-аденозил-L-гомоцистеином. В этом комплексе остаток цитозина, включая 2'-дезоксирибозу и два соседних фосфата, «выворачивался» из двойной спирали ДНК на 180° (поэтому этот процесс также называют выворачиванием нуклеотида) и оказывался в *активном центре* в непосредственной близости от кофактора. Это энергетически невыгодная конформация ДНК стабилизируется рядом специфических и неспецифических взаимодействий между ферментом и деформированной ДНК. Полость, возникающая в двойной спирали ДНК, заполняется остатком глутамина (Q237) молекулы М. *HhaI*, который образует водородные связи с неспаренным остатком гуанина.

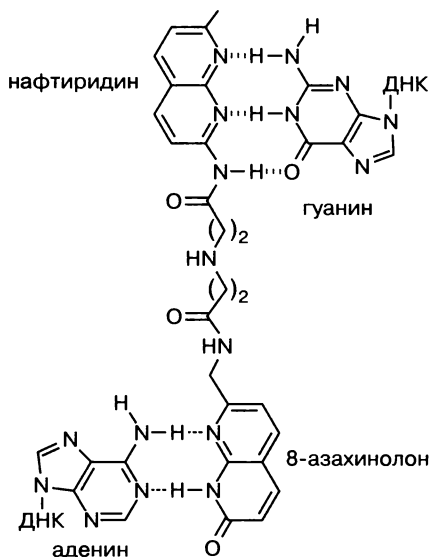
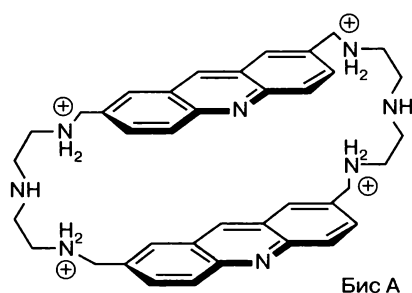
Кроме того, выворачивание оснований наблюдают в структурах, образующихся при совместной кристаллизации цитозин(С5)-метилтрансферазы М. *HaeIII* и аденин(Н6)-метилтрансфераз М. *TaqI* и *Dam* бактериофага Т4. Разработаны несколько биохимических подходов детектирования выворачивания оснований путем встраивания *модифицированного основания* в сайт-мишень ДНК-метилтрансфераз. Такая модификация может приводить к более тесному связыванию с *неспаренными основаниями* ДНК, более высокой эффективности *фотосшивания* с 5-иодурацилом, высокой реакционной способности тимина к перманганату и интенсивной флуоресценции *2-аминопурина*. Изменение интенсивности *флуоресценции* 2-аминопурина также используют при изучении кинетики выворачивания, индуцированного ДНК-метилтрансферазами. Эти ферменты вначале связываются со своими *сайтами узнавания* в молекуле ДНК, а затем вызывают выворачивание азотистых оснований с константами скорости (время полужизни в миллисекундах), которые значительно превышают их *число оборотов*. Результаты биохимических исследований показывают, что все ДНК-метилтрансферазы используют механизм выворачивания.

Однако выворачивание не ограничивается только ДНК-метилтрансферазами; оно наблюдался во многих структурах, возникающих при совместной кристаллизации белков с ДНК, например с участием *гликозилаз*, которые осуществляют *эксцизионную репарацию оснований* и распознают поврежденные основания в молекуле ДНК. Например, специфичная к пиримидиновым димерам ДНК-гликозилаза фага Т4 (эндонуклеаза V); *урацил-ДНК-гликозилаза* (UDG), 3-метиладенин-ДНК-гликозилаза (AAG); специфичная к неспаренным основаниям урацил-ДНК-гликозилаза



См. рис.V на цветной вклейке

(MUG); 3-метиладенин-ДНК-гликозилаза II (AlkA); 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза (hOGG1); эндонуклеаза VIII (Nei) и формамидопиримидин-ДНК-гликозилаза (Fpg, или MutM). Кроме того, при изучении кристаллических структур β -гликозилтрансферазы фага T4 и ДНК-фотолиазы (осуществляет светозависимую репарацию циклобутан-пиримидиновых димеров) показано, что они связываются со своими мишенями, когда те находятся во внеспиральном положении. Эти многочисленные примеры показывают, что выворачивание оснований представляет собой важный этап в механизме работы многих ДНК-модифицирующих ферментов (например, ДНК-метилтрансфераз и ДНК-гликозилаз), предоставляя доступ к их мишеням, которые обычно скрыты в стопке оснований молекулы ДНК.



Помимо ферментов, с *неспаренными основаниями* ДНК могут связываться небольшие синтетические молекулы, вызывая при этом выворачивание. Например, предполагается, что бисакридиновый макроцикл BisA интеркалирует в ДНК, вытесняя одно из неспаренных оснований за пределы спирали. Другой пример — присоединение двух нафтиридин-8-азахинолоновых конъюгатов к молекуле ДНК, содержащей повторы CAG (неспаренные основания А и А). Остатки 8-азахинолона распознают неспаренные группы аденина, а нафтиридиновые группы связываются с соседними остатками гуанина, что приводит к вытеснению двух остатков цитозина из двойной спирали ДНК.

Elmar Weinhold

Оснований замена. См. *точечная мутация*.

Оснований модификация. См. *редкие нуклеотиды*.

Оснований пара. Пара оснований *нуклеиновых кислот*, связанных водородными связями. *Водородные связи* между amino-, imino- и карбонильными группами *пуриновых и пиримидиновых оснований* являются одним из важнейших типов взаимодействий в *нуклеиновых кислотах*. Они имеют в основном электростатическую природу. Если предположить, что стабильная пара оснований должна содержать как минимум две водородные связи, то четыре нуклеотидных основания способны образовать 28 различных гомо- и гетеропар. Уотсоном и Криком в 1953 г. были определены (постулированы) наиболее важные типы связанных водородными связями пар оснований, в которых аденин (А) специфично связывается с тиминном (Т) или урацилом (U), а гуанин (G) — с цитозином (C) (см. *уотсон-криковская пара оснований*). Эти два типа пар доминируют в двуцепочечных ДНК и РНК. Специфическое спаривание оснований дает возможность копировать *генетическую информацию* в ходе биосинтеза цепи нуклеиновой кислоты, комплементарной уже существующей. Другие типы пар оснований, стабилизированные водородными связями иной геометрии, позволяют формировать не только двойные спирали различной вторичной структуры, но и мультиспиральные неканонические формы нуклеиновых кислот.

Н. Г. Долинная

Оснований последовательность. См. *нуклеотидов последовательность*.

Оснований состав. Отношение, которое показывает число остатков аденина и тимина по сравнению с количеством остатков гуанина и цитозина в двойной цепи ДНК (см. *нуклеотидная последовательность*). В таксономии используется для классификации видов бактерий.

Valeska Dombos

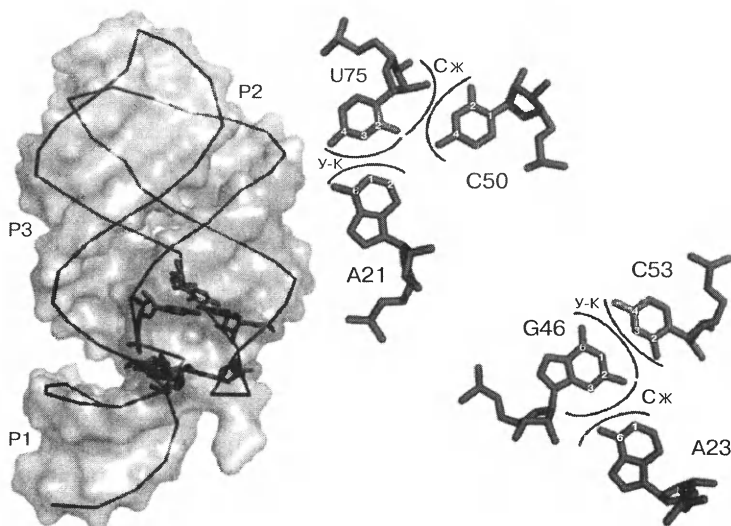
Оснований стэкинг. Одно из двух основных взаимодействий, которые стабилизируют структуру двойных спиралей нуклеиновых кислот. Стэкинг-взаимодействия представляют собой вертикальные взаимодействия двух и более гетероциклических оснований (*пар оснований*), плоские ароматические кольца которых располагаются параллельно друг другу на расстоянии ван-дер-ваальсова радиуса, образуя стопку. Важной энергетической состав-

ляющей стэкинга являются гидрофобные силы, которые минимизируют контакт ароматических оснований с водной средой. При образовании стэкинг-конформации полярные экзоциклические заместители одного основания нависают над ароматическим кольцом соседнего основания, сообщая двойной спирали закручивающий эффект. Кроме гидрофобных сил в стабилизации стэкинг-конформации существенную роль играют диполь-дипольные и лондоновские дисперсионные взаимодействия, которые проявляются сильнее в *пуринах*, чем в *пиримидинах*. Интенсивность стэкинг-взаимодействий уменьшается в следующем порядке: *пурин–пурин* > *пурин–пиримидин* > *пиримидин–пиримидин*. Из-за наличия полярных заместителей в ароматических гетероциклах геометрия стэкинга (степень перекрывания оснований или их пар) зависит не только от природы взаимодействующих остатков, но и от их последовательности. В нуклеиновых кислотах различают 10 комбинаций димеров нуклеотидных пар. Стэкинг-взаимодействия в двойных спиральных А- и В-семейств различаются. В *В-ДНК* стэкинг ограничен в основном взаимодействием между основаниями одной полинуклеотидной цепи. В *А-ДНК* в стэкинг-взаимодействиях участвуют также основания, принадлежащие разным цепям. Это обусловлено разницей в углах спирального вращения пар оснований (см. *пар оснований спиральное вращение*) и их наклона к спиральной оси (см. *пар оснований наклон*) в двух структурных формах ДНК.

Н. Г. Долинная

Оснований тринуклеотид. Группа трех последовательных нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты (см. *кодон*, *антикодон*).

Оснований триплет. Одиночное азотистое основание обладает тремя сторонами, способными к взаимодействию (см. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*). К этим сторонам относятся уотсон-кри-



См. рис. VI на цветной вклейке

ковская (определяемая функциональными группами в положениях R: 2, 1 и 6 или Y: 2, 3 и 4), хугстиновская (R: 6, 5, 7 и 8 или Y: 4, 5), а также сторона малого желобка (R: 2, 3, 4 и 2' или Y: 1, 2, 2'). Кроме того, разнообразие способов спаривания увеличивается за счет образования пар оснований с *цис*- и *транс*-расположением присоединенных к ним гликозидных связей. Эта структурная пластичность образования пар реализуется во взаимодействиях РНК–РНК или в третичных взаимодействиях.

Образование триплетов оснований достаточно характерно для различных структур РНК (см. *РНК структура*). Например, таковы триплеты G1091–C1100*G1071 и C1092–G1099*С1072, которые замыкают 9-нуклеотидную *петлю* в связывающей области L11 молекулы 23S РНК. Сходные третичные мотивы обнаружены в *малой ядерной РНК* U2 и в петлевой области 715 23S РНК. Часто триплеты оснований образуются в *псевдоузлах* РНК, например в ScYLV-РНК такие структуры стабилизируют узлы; триплеты оснований могут быть в *рибопереклочателях*.

Boris Fürtig, Harald Schwalbe

Оснований эксцизионная репарация. Исправление мутаций путем корректировки предмутационных *ДНК-брешей* до того, как произойдет фиксация мутации в ходе *репликации*. В простейшем случае О. э. р. происходит в четыре стадии. (1) Удаление химически поврежденного *азотистого основания* специализированной *ДНК-гликозилазой*. (2) Внесение разрыва в цепь с 5'-стороны от образовавшегося *сайта, лишенного основания*, путем эндонуклеолитического расщепления с образованием 3'-гидроксильного конца. (3) Удлинение этого *затравочного конца* как минимум на один нуклеотид с удалением 5'-фосфорилированного остатка сахара, не связанного с азотистым основанием, на соседнем 5'-конце с образованием 5'-фосфатного конца (за этой стадией может последовать *ник-трансляция*). (4) «Зашивание» цепи *ДНК-лигазой*. Исходная информация восстанавливается на стадии (3), так как *ДНК-полимераза* использует неповрежденный нуклеотид напротив предмутационной бреши как *матрицу*. Для стадии (2) возможны несколько альтернативных «сценариев». Некоторые АР-эндонуклеазы расщепляют другие *фосфодиэфирные связи* рядом с АР-сайтом (обратите внимание, что всего возможны четыре варианта, по два в 5'- и 3'-направлении от лишенного основания углеводного остатка). Расщепление цепи в сайте, лишенном основания, может быть также осуществлено путем β-элиминирования (см. *сайт, лишенный основания*); соответствующая каталитическая активность (АР-лиазная) присуща некоторым *ДНК-гликозилазам*. Во всех случаях, когда стадия (2) прямо не приводит к образованию 3'-гидроксила, требуется дополнительная экзонуклеазная обработка конца затравки. Примерами ДНК-производных, обычно подвергающихся эксцизионной репарации оснований, могут служить ДНК-урацил (возникающий в результате гидролитического дезаминирования цитозина), 3-метиладенин, 8-гидроксигуанин (7,8-дигидро-8-оксогуанин, «8-оксогуанин», «ОГ»), а также *пиримидиновые* остатки с гидрированной 5,6-углерод-углеродной связью.

Hans-Joachim Fritz

Основания аналог. См. *модифицированное основание, редкое основание*.

Основания сторона. См. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*.

Основания, правило спаривания. См. *пара оснований, уотсон-криковская пара оснований*.

Остов нуклеиновой кислоты. См. *сахарофосфатный остов*.

Остов. См. *сахарофосфатный остов*.

Отбор *in vitro*. См. *in vitro* отбор, *SELEX*.

Отжиг внутри цепи (внутримолекулярное комплексообразование). Происходит, когда молекулы *двуцепочечной ДНК* или РНК содержат последовательности *обратных повторов*, которые после денатурации и ренатурации образуют *уотсон-криковские пары оснований* сами с собой вместо образования комплементарной цепи в составе исходной молекулы. В результате обычно образуется молекула, состоящая из *двуцепочечного стебля* и *петли* с различным числом неспаренных оснований. Например, эти элементы обнаруживаются в молекуле *транспортной РНК*.

Valeska Dombos

Отжиг олигонуклеотидов. Связывание одноцепочечной РНК или ДНК с *комплементарной последовательностью* посредством водородных связей с образованием *двуцепочечного олигонуклеотида*. Используется в основном при описании процесса связывания *праймера* с цепью ДНК в ходе *полимеразной цепной реакции*.

Denise Strohbach

Открытая рамка считывания (ОРС). Набор *смысловых кодонов матричной РНК*, находящийся внутри регуляторного участка (см. *промотор, терминатор*), кодирующий более 100 аминокислот, начинающийся со *старт-кодона* и оканчивающийся *стоп-кодоном*. ОРС обеспечивает рост полипептида во время биосинтеза белка (см. *трансляция, рамка считывания*) и легко обнаруживается с помощью биоинформатических алгоритмов поиска. У эукариот идентификация ОРС значительно усложняется рассеянными последовательностями-вставками — *интронами*.

Stefan Vörtler

ОТ-ПЦР. См. *полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией*.

Отрицательная сверхспирализация. См. *сверхспирализованная ДНК*.

Отстающая цепь. Цепь молекулы ДНК, которая синтезируется прерывисто, короткими фрагментами (см. *фрагменты Оказаки*). Такой синтез обусловлен способностью *ДНК-полимераз* катализировать образование ДНК исключительно в 5'→3'-направлении. После гидролиза *РНК-праймеров* концы фрагментов соединяются за счет активности *ДНК-лигазы*.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Охра-кодон. UAA, *стоп-кодон*, узнаваемый специфической *супрессорной транспортной РНК*. Искусственное название *нонсенс-мутации*, проис-

ходящее от лабораторного штамма, демонстрирующего охра-мутацию (Ос). По аналогии с амбер-кодонами искусственное название обыгрывает название минерала «охра».

Stefan Vörtler

Охра-мутация. Частный случай *нонсенс-мутации*.

оцДНК. Одноцепочечная ДНК.

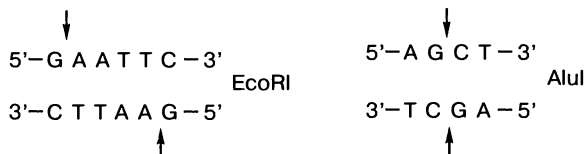
оцРНК. Одноцепочечная РНК.

П

Пакующая (шаперонная) РНК. Жизненный цикл вирусов (в том числе бактериофагов) включает в себя упаковку вновь синтезированных вирусных геномов в белковые капсиды. Этот процесс энергозатратен и требует участия специального молекулярного мотора. У некоторых вирусов важным элементом такого мотора является небольшая (менее 200 нуклеотидов) некодирующая РНК, называемая П. РНК или пРНК. Лучше всего изучена пРНК фага φ29. Она состоит из двух доменов — 5'-концевого размером 120 н. и 3'-концевого размером 50 п. Только первый домен необходим для выполнения моторной функции пРНК. Аналогичные структуры (в виде необходимых для упаковки фрагментов генома) описаны у РНК-содержащих коронавирусов и гаммаретровирусов.

Палиндром. Последовательность ДНК, симметричная и одинаково читающаяся на обеих цепях в тех же направлениях. П. служат *сайтами узнавания* для многих белков, например ДНК-метилтрансфераз или эндонуклеаз рестрикции. На рисунке представлены два типичных палиндромных сайта, распознаваемых различными эндонуклеазами рестрикции (*AluI* и *EcoRI*). Стрелками показаны сайты расщепления. См. *полуметилирование*, *сайт узнавания*.

Jörn Wolf



Пар оснований крен. Ориентация усредненной плоскости пурин-пиримидиновой пары оснований относительно длинной оси пары. Если две соседние пары оснований в спирали наклонены в противоположных направлениях, между ними образуется угол, раскрывающийся в сторону малого или большого желобка. Если он раскрыт в сторону *малого желобка*, его считают положительным. Дифракция рентгеновских лучей на волокнах *нуклеиновых кислот* не дает возможности определить величину крена конкретной пары оснований в отличие от данных рентгеноструктурного анализа кристаллических образцов. Этот параметр является одной из важных характеристик

двойной спирали ДНК. Так как в *В-ДНК* пары оснований практически перпендикулярны оси спирали, нет необходимости определять угол крена для каждой пары в нуклеотидной последовательности. В *А-форме* (см. *А-ДНК*) лесенка из пар оснований закручена вокруг оси спирали таким образом, что плоскости пар, подобно аккордеону, раскрываются в сторону малого желобка; угол крена в среднем составляет 6° .

Н. Г. Долинная

Пар оснований наклон. Отклонение плоскости спаренных *азотистых оснований* от перпендикуляра к спиральной оси. Наклон пар оснований коррелирует с расстоянием между нуклеотидами вдоль оси спирали. Знак угла наклона связан с *конформацией остатков сахара*. Этот угол положителен для спиралей *А-семейства* и отрицателен для спиралей *В-семейства*. Изменение в знаке угла наклона пар в правозакрученных спиральях приводит к перестройке *стэкинг-взаимодействия оснований* (см. *оснований стэкинга*). В *В-ДНК* этот параметр близок к нулю (-6°), поскольку пары оснований расположены практически перпендикулярно к оси спирали, а сама ось проходит почти через центр каждой пары. В *А-ДНК* пары оснований отклоняются от перпендикулярного положения на угол от 13 до 20° .

Н. Г. Долинная

Пар оснований спиральное вращение. Угол поворота вокруг оси спирали между соседними *парами оснований*. Спирали называют правозакрученными, если для них выполняется следующее правило: при движении вдоль оси спирали (от начала к концу) повороты происходят по часовой стрелке. Двойная спираль *хиральна*, т. е. оптически активна.

Н. Г. Долинная

Параллельная ориентация. Взаимное расположение цепей *нуклеиновых кислот*, при котором их $5'-3'$ -фосфодиэфирные связи направлены в одну и ту же сторону. Уотсон-криковский тип спаривания оснований ассоциирован с *антипараллельной ориентацией* полинуклеотидных цепей, как в случае ДНК-дуплексов в *А-, В- и Z-формах* (см. *А-ДНК, В-ДНК, Z-ДНК*). Иная ситуация наблюдается в дуплексах нуклеиновых кислот, стабилизированных симметричными парами одинаковых оснований, которые образуются в кислой среде, например, за счет самоассоциации полинуклеотидов поли(А) или поли(С). Пары оснований в таких двуспиральных структурах — $\text{АН}^+-\text{АН}^+$ или полупротонированные $\text{С}-\text{СН}^+$, обладают осью симметрии II порядка, перпендикулярной плоскости пары. В результате два параллельно ориентированных *сахарофосфатных остова* переходят друг в друга при повороте вокруг оси спирали на 180° , а на периферии дуплексной структуры образуется только один тип желобка. Олигонуклеотиды, содержащие только остатки аденозина и тимидина, также обладают способностью связываться параллельно с образованием *обратных уотсон-криковских пар А-Т*. Эти двойные спирали, существование которых зависит от особого сочетания условий внешней среды, менее стабильны, чем их антипараллельно-связанные аналоги. Некоторые цепи в трех- и четырехспиральных нуклеиновых кислотах, образованных гомопуриновыми/гомопиримидиновыми последовательностями или трактами олиго(dG) (соответственно) тоже находятся в П. о.

Н. Г. Долинная

Патогенные гены. Гены, ассоциированные с заболеваниями.

Пептидилтрансферазный центр (ПТЦ). См. *рибосома*.

Пептидил-тРНК. *тРНК*, несущая пептид (а не одиночную аминокислоту), присоединенный эфирной связью к терминальному остатку *аденозина* (см. *аминоацил-тРНК*). Это промежуточный продукт синтеза белка на *рибосоме* (см. *трансляция*), которая обычно остается связанной с *P-сайтом*. Однако при остановке рибосомы или преждевременной *терминации* она может высвободиться. Более стабильный продукт по сравнению с аминоацил-тРНК, так как α -аминогруппа оказывается частью пептидной связи. В клетках есть специфические «спасательные» ферменты, называемые пептидил-тРНК-гидролазами, которые обеспечивают поддержание пула свободных тРНК и помогают избежать образования коротких пептидов.

Stefan Vörtler

Пептидилный сайт. См. *P-сайт*, *рибосома*.

Пептид-нуклеиновая кислота. См. *ПНК*.

Первичная структура. У биологических *макромолекул* определяется последовательностью мономеров, т. е. аминокислот в белках и нуклеотидах в нуклеиновых кислотах.

Slawomir Gwiazda

Первичный транскрипт. *РНК*, синтезируемая в ходе *транскрипции* с *генов*, которые кодируют белки или функциональные РНК. В зависимости от функции П. т. подвергаются нескольким посттранскрипционным модификациям, в ходе которых они значительно преобразуются. Например, из П. т. эукариот, который содержит *экзоны* и *интроны*, происходит удаление интронов в ходе *сплайсинга*. В других случаях отдельные *нуклеотиды* подлежат модификации или замене (см. *редактирование*, *созревание*, *сплайсинг*).

Jörn Wolf

Перекодирование. Любое событие, которое приводит к изменению изначальной *генетической информации*, содержащейся в *геноме*. Может происходить на посттранскрипционном уровне посредством *редактирования* РНК. Значительно чаще П. происходит на трансляционном уровне как результат изменения *рамки считывания* (см. *рамки сдвиг*) или альтернативной интерпретации определенного *кодона*. В этом случае селеноцистеин и пирролизин внедряются в молекулу белка посредством П. *стоп-кодона* (см. *код*). Вирусы используют сдвиг рамки для уменьшения размеров *генома* путем объединения нескольких *открытых рамок считывания* на одном участке молекулы ДНК, иногда даже в различных ориентациях. Во всех случаях результат — синтез белка с последовательностью, в некоторых положениях отличной от изначальной, закодированной в ДНК.

Stefan Vörtler

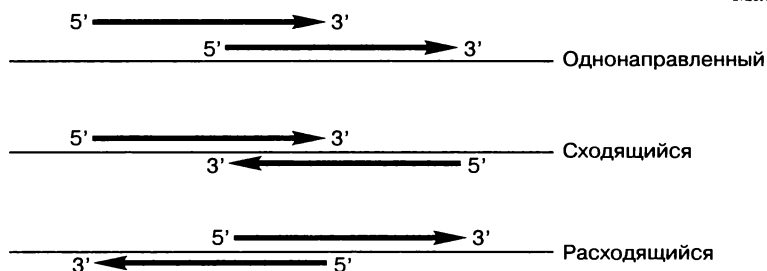
Перекрестный массив аптамерных сенсоров. *Сенсор* — это устройство, которое измеряет какое-то специфическое свойство объектов заданной группы (например, стероидов). Часто эту группу можно разделить на несколько классов по интересующим параметрам. Если каждый из этих клас-

сов отличается по некоторому заданному параметру, то один сенсор, измеряющий данный параметр, можно использовать для определения класса объектов. Однако обычно классы невозможно различить только по одному параметру. Перекрестный массив сенсоров — это совокупность сенсоров, каждый из которых измеряет независимый параметр объектов из данной группы. Благодаря измерению множества независимых параметров задача классификации объектов сильно облегчается, так как появляется больше информации для описания различий между классами. Отдельный неспецифический сенсор обычно можно использовать для определения концентраций аналита, только если нет других аналитов, которые взаимодействуют с этим сенсором. Иначе говоря, отдельное показание сенсора нельзя однозначно сопоставить с определенной концентрацией этого аналита, так как оно может оказаться результатом присутствия других аналитов в различных концентрациях или даже смесей аналитов. Однако много сенсоров с различными перекрестными реакциями можно организовать в перекрестный массив, который затем используют, чтобы получить набор откликов на отдельный аналит от всех сенсоров массива. Наборы откликов, определенные по «обучающей последовательности» (т. е. по «стандартам»), затем можно использовать для идентификации («классификации») неизвестных образцов на классы (например, аналит, концентрация). В то время как аптамеры известны своей селективностью, флуоресцентные сенсоры на основе гидрофобных карманов с трехсторонними соединениями взаимодействуют с различными стероидами неспецифично. Некоторые стероиды можно классифицировать по наборам откликов на массивы сенсоров, собранные из вариантов трехсторонних соединений.

Mark Olah, Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

Перекрывающиеся гены. *Гены*, в которых одна и та же последовательность ДНК кодирует два белка, используя разные *рамки считывания*. Они достаточно распространены у ДНК- и РНК-содержащих вирусов эукариот и прокариот. В *геномах* бактерий и эукариот перекрывающиеся гены также обнаружены, но они редки у данных организмов. Существует три класса перекрывающихся генов: однонаправленные, сходящиеся и расходящиеся. У однонаправленных перекрывающихся генов 3'-конец одного гена заходит на 5'-конец другого гена, у сходящихся перекрывающихся генов 3'-концы перекрываются, а у расходящихся перекрываются 5'-концы.

Mauro Santos



Перекрывающиеся концы. Выступающие концы двух молекул *двуцепочечной ДНК*, обычно образующиеся в результате работы ферментов *ре-*

стрикции или *нуклеаз*. Перекрывающиеся концы комплементарны и могут отжигаться и быть лигированы. Более точный термин — *липкие концы*.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Перенос гена в клетках зародышевого пути. См. *гена перенос*.

Перенос заряда в ДНК. С момента опубликования около 40 лет назад первых данных о возможности передачи заряда в упорядоченной В-форме молекулы ДНК продолжается оживленная научная дискуссия о возможностях использования ее в качестве проводящего *биополимера* для нанотехнологии, создания *биосенсоров* и молекулярной диагностики. ДНК обладает хорошей проводимостью (молекулярная проволока), но она также полупроводник или даже диэлектрик. Столь противоречивые свойства имели как теоретические, так и экспериментальные обоснования. Центральным вопросом всех исследований были эффективность и скорость передачи заряда по ДНК, ее основные механизмы и ограничения в расстоянии передачи. В течение двух последних десятилетий интерес научного сообщества к этим проблемам существенно возрос. Наряду с чисто биологическими приложениями (*повреждения ДНК*) ДНК привлекает внимание как уникальная модель для физико-химических и физических исследований. Изучение передачи заряда, опосредованной ДНК, стало более простым с использованием в качестве модели синтетических олигонуклеотидов, полученных автоматизированным фосфорамидитным методом (см. *олигонуклеотидов синтез*), в дальнейшем усовершенствованным средствами биоорганической химии.

Большинство проведенных экспериментов укладывались в следующую схему: (а) *мечение* молекулы ДНК редокс-активным зондом путем *интеркаляции* или ковалентного связывания; (б) фото- или электрохимическое внедрение заряда в *двойную спираль ДНК*; (в) детектирование процесса переноса заряда с использованием методов спектроскопии (стационарной или с разрешением во времени), электрохимических экспериментов или химического и биохимического анализа образующихся в результате миграции зарядов продуктов ДНК. В настоящее время возможно детально описать картину переноса заряда в молекуле ДНК, и существовавшее первоначально противоречие было снято в результате описания нескольких механизмов — сверхобменного взаимодействия, происходящего на коротких расстояниях (3–4 п. о.), и прыжковой проводимости (см. *прыжок электрона*) на более длинные расстояния (не менее 200 Å).

В принципе опосредованный ДНК перенос заряда можно охарактеризовать либо как окислительную дырочную проводимость, либо как восстановительный процесс передачи электронов. Описание дырочной проводимости скорее приведет нас к заблуждению, так как оно подразумевает транспорт электронов, но в противоположном направлении. Следовательно, оба процесса относятся к реакциям переноса электронов, но с участием разных орбиталей: высшей заполненной молекулярной орбитали (окислительный процесс) или низшей незаполненной молекулярной орбитали (восстановительный процесс). Таким образом, при этой классификации перенос электрона учитывается не формально, а его направление. Окислительная передача заряда с участием ДНК представляет собой первую стадию

окислительного повреждения ДНК, приводящего к *мутагенезу*, апоптозу или онкологическому заболеванию. Поэтому исследования биологов были сосредоточены на фотохимически индуцируемом окислении ДНК и на подвижности формирующегося катион-радикала, что можно описать в терминах окислительной дырочной проводимости. В то же время подвижность избыточных электронов в молекуле ДНК можно интерпретировать как восстановительный электронный транспорт. Использование такого типа переноса заряда очень перспективно для развития технологии электрохимических *ДНК-чипов*, например для детектирования *однонуклеотидных мутаций* и создания электронных наноустройств на основе ДНК или производных конструкций.

Было проведено несколько измерений электропроводности ДНК. Важно отметить, что во многих случаях *вторичная структура* ДНК, которая играет решающую роль для быстрого и эффективного переноса электронов, осталась невыясненной из-за отсутствия в экспериментальной системе воды. Тем не менее было показано, что транспорт электронов вдоль молекул ДНК возможен, однако электропроводность ДНК достаточно низка. Однако перенос заряда по длинным одиночным молекулам ДНК (более 10 нм) требует дополнительных исследований. Таким образом, для использования ДНК в качестве «молекулярного кабеля» понадобится создать материал, подобный ДНК, который бы содержал типичные структурные элементы ДНК, но обладал бы улучшенной электропроводностью.

Hans-Achim Wagenknecht

Перестановка. Изменение последовательности данной молекулы нуклеиновой кислоты, без изменения состава ее *нуклеотидов*. Под перестановкой экзонов (см. *экзонов перестановка*) понимают сортировку или изменение порядка данного набора *экзонов* в *гене* или генах.

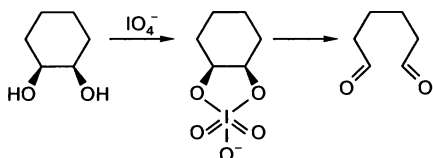
Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Переход спираль—клубок. Фазовый переход в молекуле ДНК, происходящий при повышении температуры. По достижению *температуры плавления* структура ДНК трансформируется из состояния двойной спирали с низкой энтропией в полностью неупорядоченную. Переход также зависит от заряда, размера и гидратной оболочки присутствующих катионов.

Jörn Wolf

Переходное состояние. Конфигурация взаимодействующих молекул в ходе реакции. Характеризуется наивысшей энергией на всем пути реакции.

Периодатное окисление. Периодат IO_4^- используется как окислитель для расщепления связей С—С в вицинальных *цис*-диолах (гидроксильные группы у соседних атомов углерода). Это открывает возможность модифицировать углеводные циклы, так как многие



пяти- и шестиуглеродные сахара как раз и есть подобные диолы. Например, при добавлении NaIO_4 *цис*-диольная группа на 3'-конце молекулы РНК может быть расщеплена с образовани-

ем 2',3'-диальдегида. Затем альдегид может реагировать с аминами или гидрозидами (например, для иммобилизации цепи нуклеиновой кислоты на гидразидной твердой фазе (см. *иммобилизация нуклеиновых кислот*) или конъюгировать с функциональными группами, например с флуорофором или *спиновой меткой*.

Bettina Appel

Петля. См. *внутренняя петля, шпильчатые петли, тетрапетля*.

Петля замещения. Элемент *вторичной структуры* митохондриальных *транспортных РНК* (тРНК). По сравнению с тРНК прокариот и цитоплазматическими тРНК эукариот, имеющими классическую структуру «клеверного листа» (см. «*клеверный лист*», *структура*), у митохондриальных тРНК *T-плечо* и *вариабельная петля* заменены на П. з. Последняя состоит из 4–12 нуклеотидов и менее структурирована.

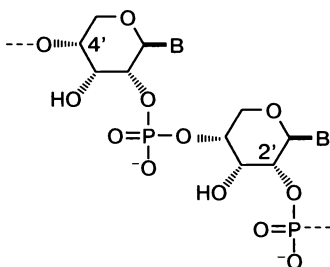
Jörn Wolf

Петля смещения. Структура в *митохондриальной ДНК* всех млекопитающих, которая формируется, когда часть молекулы ДНК, окружающая *ориджин репликации* тяжелой цепи, пространственно отдалается и образует конструкцию, похожую на букву D. Участки, в которых происходит такое явление, не кодируют белки. Образование этой структуры вызывается сегментом ДНК, который гибридизуется с легкой цепью и замещает тяжелую.

Jörn Wolf

Пиранозил-РНК (пРНК). Аналог РНК, в молекуле которого рибофуранозильный углеводный компонент замещен на рибопиранозил. К олигонуклеотидам, содержащим пиранозилфосфатный остов, относятся также ликсопиранозильные, ксилопиранозильные и арабинопиранозильные олигонуклеотиды. Отдельные нуклеотиды в них соединены 2',4'-*фосфодиэфирными связями*.

Bettina Appel



Пиримидиновые нуклеозиды. *N-гликозиды пиримидиновых оснований* — цитозина, тимина и урацила.

Пиримидиновые основания. *Азотистые основания*, построенные на основе пиримидина (см. *цитозин, тимин, урацил*).

Пиросеквенирование. См. *ДНК, последовательности анализ*.

Пирофосфат (PP_р). Пирофосфорная кислота (H₄P₂O₇) представляет собой продукт конденсации фосфорной кислоты (H₃PO₄). Эфиры и соли пирофос-

формной кислоты носят название П. Анион $P_2O_7^{4-}$ обозначают сокращением PP_i . В клетках PP_i образуется при гидролизе ATP с отщеплением AMP и играет важную роль в процессах переноса энергии.

Bettina Appel

Плавление. См. *температурное плавление*.

Плавления кривая. Кривая, отображающая изменение физических характеристик раствора *макромолекул* (вязкости, оптической плотности, вращения плоскости поляризации света и др.) в зависимости от температуры (другое название — *профиль денатурации*). Форма кривой отражает наличие физических изменений в макромолекуле. Например, при медленном нагревании в узком температурном диапазоне раствора нуклеиновой кислоты происходит кооперативный переход от двух- к одноцепочечной структуре, который можно изучать путем непрерывного измерения *оптической плотности* раствора при 260 нм (см. *спектры поглощения азотистых оснований*). См. *температурное плавление*, *гиперхромный эффект*.

Stéphanie Vauléon

Плавления температура (T_m или t_m). Температура, при которой 50% молекул-*дуплексов нуклеиновых кислот* диссоциирует с образованием одиночных цепей. Ее определяют как температуру, соответствующую середине кривой плавления (см. *плавления кривая*); она зависит от состава оснований (см. *оснований состав*) и последовательности нуклеиновой кислоты. Для нуклеиновых кислот T_m может также быть примерно рассчитана на основании олигонуклеотидной последовательности с использованием соответствующих алгоритмов. Для молекул ДНК короче 25 нуклеотидов можно использовать следующую простую формулу: T_m (в °C) = $4(C + G) + 2(A + T)$. См. *плавления кривая*, *температурное плавление*.

Stéphanie Vauléon

Плазмидная ДНК. ДНК, содержащаяся в *плазмиде*.

Плазмидный вектор. Кольцевая *двуцепочечная ДНК*, которая может быть использована в прокариотических или эукариотических клетках. Обычно содержит *множественный сайт клонирования* для *клонирования* ДНК или экспрессионную кассету для синтеза белка. Как правило, в структуру П. в. внедряют дополнительные генетические элементы — *ориджин репликации* для эпизомного поддержания и/или *маркеры* (гены аутокотрофности или устойчивости к антибиотикам). Челночные П. в. сочетают в своей структуре генетические элементы для функционирования в клетках различных видов, например гены для репликации и поддержания в прокариотических клетках и кассеты для экспрессии (см. *гена экспрессия*) в эукариотических клетках, или же систему высокопийного поддержания в бактериальных клетках и однокопийного — в дрожжевых и т. п.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Пластидная ДНК. Генетический материал (ДНК) в *пластидах* — органеллах растительной клетки. См. *хлоропластная ДНК*.

Пластом. *Геном* пластид.

ПНК — следствие наличия свободного N-конца, который может индуцировать N-ацильный перенос *азотистого основания* или потерю N-концевого звена при замыкании кольца. Обычно N-конец ПНК ацетилирован, чтобы предотвратить подобные побочные реакции. Две наиболее часто используемые комбинации защитных групп при синтезе ПНК — Fmoc/Bhoc (флуоренилметилоксикарбонил/бензгидрилоксикарбонил) и Boc/Cbz (*трет*-бутилоксикарбонил/бензилоксикарбонил). Описанные свойства отличают ПНК от других аналогов ДНК. ПНК стали ценным инструментом в ДНК- и РНК-диагностике, равно как и в молекулярной биологии.

Lars Röglin, Oliver Seitz

Повтор. Мотив последовательности ДНК, который повторяется (см. *микросателлит, минисателлит, макросателлит*).

Повторяющаяся ДНК. Последовательности ДНК, которые повторяются в геноме. Наличие П. Д. характерно для геномов эукариот. П. Д. классифицируют на два основных типа в соответствии с кинетикой реассоциации: умеренно повторяющаяся ДНК и *высокоповторяющаяся ДНК*. Последняя состоит из коротких последовательностей (5–100 нуклеотидов), которые повторяются тысячи раз и включают *сателлитную ДНК*. Умеренно повторяющаяся ДНК состоит из последовательностей большей длины, случайным образом диспергированных в геноме, как элементы ретротранспозонов SINE (от англ. Short INterspersed Elements, < 500 п. н.) или LINE (Long INterspersed Elements, > 5 т. п. н.).

Mauro Santos

Повторяющиеся последовательности. См. *повторяющаяся ДНК*.

Поглощение. Физический процесс поглощения энергии света. Нуклеиновые кислоты обладают максимумом поглощения около 250 нм. См. *оптическая плотность, спектры поглощения азотистых оснований*.

Valeska Dombos

Подверженная ошибкам полимеразная цепная реакция (ПЦР). Метод для внедрения случайных *мутаций* в ходе ПЦР (см. *полимеразная цепная реакция*). Может быть применен, когда требуются *ДНК-библиотеки* для создания мутантных белков с последующими *транскрипцией* и *трансляцией*, и относится к методам *отбора in vitro*. Нормальные *полимеразы* характеризуются частотой ошибок около $1 : 10^6$, но это значение может быть улучшено за счет ряда факторов, большинство из которых влияют на точность осуществляемой полимеразой *репликации*. Наиболее широко метод используется для изменения точности полимеразы, когда в процессе участвуют ионы металлов. Повышение концентрации ионов магния (до 10 мМ) или замена магния на марганец (до 0,5 мМ) приводят к снижению точности репликации. Использование несбалансированных пулов дНТФ повышает частоту неверного встраивания, а понижение температуры отжига в ходе ПЦР приводит к неверному связыванию праймера с матрицей и увеличению частоты неверного встраивания дНТФ. Увеличение числа циклов ПЦР также приводит к повышенной частоте мутирования. Другие методы увели-

чения числа ошибок при ПЦР включают использование мутагенных нуклеозидтрифосфатов, например таких, как 8-оксо-дГТФ (вызывает трансверсии) и 5-аза-дЦТФ (приводит к транзициям).

David Loakes

Подвижности в геле метод. См. *бэнд-шифт*.

Поздние гены. В противовес *ранним генам* — гены вируса или бактериофага, которые экспрессируются после инфицирования хозяйской клетки.

Позиционное клонирование. Идентификация *генов*, связанных с риском развития тех или иных заболеваний, на основе их хромосомной локализации. Включает в себя стадию предварительного картирования путем анализа косегрегации и сцепления в семьях больных. Затем осуществляется скрининг мутаций во всех генах, локализованных в картированном районе хромосомы.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Поли(А). См. *полиадениловая кислота*.

Поли(А) сигнал. 3'-Конец *матричной РНК* эукариот, образующийся при расщеплении растущего транскрипта с последующим *полиаденилированием* в сайте расщепления. Последовательность мРНК сама по себе содержит сигнал, определяющий сайт полиаденилирования. Сигнал полиаденилирования представляет собой гексануклеотид 5'-AAUAAA-3', расположенный на 10–30 оснований *выше* сайта расщепления/полиаденилирования. Последовательность 5'-AAUAAA-3' обнаруживается в 90% всех областей полиаденилирования и относится к числу наиболее консервативных из всех известных последовательностей. Вторая область распознавания расположена примерно на 20–40 оснований *ниже* сайта расщепления и содержит GU-обогащенный элемент; этот элемент присутствует только в 70% *пре-мРНК* млекопитающих и более variabelен по нуклеотидному составу по сравнению с фрагментом 5'-AAUAAA-3'.

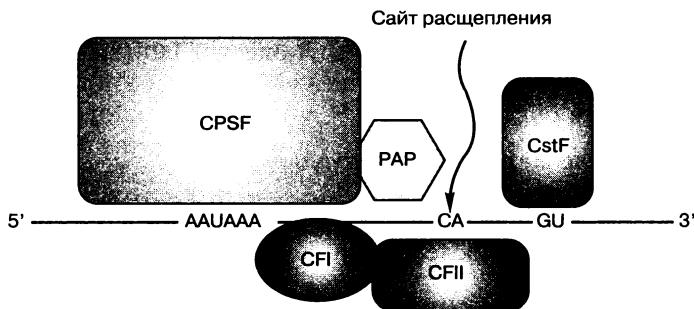
Tina Persson

Поли(А)-«хвост». У высших эукариот практически все белок-кодирующие *матричные РНК* (мРНК) модифицируются по 3'-концу путем добавления около 200 остатков *аденозина*; этот процесс называется *полиаденилированием*. Функция П. заключается в поддержании стабильности мРНК, повышении эффективности *трансляции* и участии в транспорте мРНК из ядра в цитоплазму. У дрожжей длина «хвоста» значительно короче (около 70–90 остатков аденозина).

Tina Persson

Полиаденилирование. Образование зрелой *матричной РНК* у эукариот включает 3'-концевую модификацию: расщепление образующегося транскрипта с последующим присоединением примерно 200 остатков *аденозина*, известных также как *поли(А)*.

Образование *поли(А)-«хвоста»* направляется последовательностями *пре-мРНК* и аппаратом полиаденилирования млекопитающих. Последний



представляет собой комплекс из нескольких белков. Сайт расщепления находится между высококонсервативной последовательностью сигнала полиаденилирования (5'-AAUAAA-3'), расположенной у 3'-конца молекулы пре-мРНК, и GU-богатого участка на расстоянии 11–20 оснований ниже сигнала П.

Расщепление происходит преимущественно по консервативному динуклеотиду СА, расположенному примерно на 20 нуклеотидов ниже сигнала П. Стадия П. инициируется при распознавании сигнала П. двумя ключевыми мультимерными белковыми факторами: фактором стимуляции расщепления и полиаденилирования (CPSF) и фактором стимуляции расщепления (CstF). Непосредственно перед расщеплением требуются два дополнительных фактора CF1 и CF2. После их ассоциации с CPSF и CstF происходит расщепление пре-мРНК. Новообразованный 3'-конец затем подвергается П. путем последовательного присоединения ~200 остатков аденина за счет активности поли(А)-полимеразы (PAP). PAP обычно нужна для осуществления реакции расщепления и присоединения поли(А) вместе с фактором CPSF. Последний состоит из четырех полипептидов с молекулярными массами 160, 100, 73 и 30 кДа. CstF представляет собой гетеротримерный белок с субъединицами массой 77, 64 и 50 кДа. Факторы CF1 и CF2 нужны только для расщепления (не для П.). CF1 состоит из трех субъединиц с молекулярными массами 68, 59 и 25 кДа; фактор CF2 — из субъединиц hClp1 и hPcf11.

Tina Persson

Полиадениловая кислота (поли(А)). Адениловая кислота представляет собой аденозинмонофосфат (см. *полиаденилирование, полиА сигнал*).

Полилинкер. Область вектора клонирования, содержащая несколько сайтов узнавания различных эндонуклеаз рестрикции. Эти сайты используют для встраивания фрагментов ДНК.

Annegret Wilde

Полимер. Высокомолекулярное соединение, образованное из повторяющихся структурных единиц (мономеров), которые соединены ковалентными связями. Наряду с синтетическими П. на основе углерода (таких, например, как полиэтилен, полистирол, полиамид, полиэфир и др.) известно множество природных П. *Биополимеры* — полинуклеотиды (ДНК и РНК), полипептиды (белки) и полисахариды (целлюлоза, хитин) — играют важную роль в биологических процессах. Полимерные молекулы классифицируют на две

подгруппы в зависимости от строения мономерного звена. П., образованные одинаковыми мономерами (полиэтилен или полистирол), называют гомополимерами. В случае полимеризации двух и более различных типов мономеров полимер называют сополимером (ДНК, РНК, белки). Сополимеры также можно подразделить на регулярные (чередующиеся) и нерегулярные (случайные, или статистические) в зависимости чередования мономерных единиц.

Irene Drude

Полимераза. П. называют группу ферментов, которые катализируют реакцию *полимеризации* отдельных *нуклеотидов* с образованием ДНК или РНК. Полимеризация осуществляется в ходе репликации (см. *ДНК репликация*) и *транскрипции*, когда П. в комплексе с другими белками катализируют образование *фосфодиэфирных связей* с использованием *нуклеозидтрифосфатов* из раствора. Синтез ДНК в ходе репликации (см. *ДНК-полимераза*), равно как и синтез РНК в ходе транскрипции (см. *РНК-полимераза*), требует наличия цепи ДНК, которая играет роль *матрицы*. РНК-репликазы используют в качестве матрицы РНК (см. *репликаза*). Описаны также *независимые от матрицы ДНК-полимеразы* (например, терминальная нуклеотидилтрансфераза) и *независимые от матрицы РНК-полимеразы* (например, поли(А)-полимераза). *Обратная транскриптаза*, которая использует цепь РНК как матрицу для синтеза ДНК, также относится к семейству П.

Irene Drude

Полимераза Корнберга. *ДНК-полимераза I* из *Escherichia coli* была первой ДНК-полимеразой, открытой Артуром Корнбергом в 1957 г. Она сочетает три активности в одном ферменте. В ходе частичного протеолиза фермент может быть расщеплен на два фрагмента. Меньший из них (36 кДа) обладает 5'→3'-экзонуклеазной активностью (см. *экзонуклеаза*); больший (67 кДа, см. *фрагмент Клёнова*) имеет 3'→5'-экзонуклеазную и ДНК-полимеразную активности. ДНК-полимераза I *E. coli* участвует в репарации ДНК (см. *ДНК репарация*), гидролизе *РНК-праймеров* и замещении их на ДНК.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Открыта К. Муллисом в 1983 г. (первая публикация по методу ПЦР относится к 1985 г.). Принципы ПЦР с термостабильными полимеразными были изложены в 1988 г. компанией Cetus Corporation (Saiki et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, **1988**, 239, 487–491). В этой работе обсуждалась возможность *амплификации* однокопийных геномных последовательностей (фрагментов ДНК длиной до 2000 п. н.) в числе более 10 млн копий с чрезвычайно высокой специфичностью. Было также показано, что ПЦР может быть использована для детектирования целевой молекулы ДНК, присутствующей примерно в одной из 10⁵ клеток.

С момента внедрения в практику ПЦР привела к революции во всех областях молекулярной биологии благодаря способности амплифицировать даже с единственной копии ДНК-матрицы. Важным условием процесса является использование термостабильных *ДНК-полимераз*, исходно выделяемых из термофильных бактерий. Эти организмы в ходе эволюции при-

способились к жизни в горячей воде, и их ферменты наиболее эффективно функционируют при температуре выше 70 °С. Применение термостабильных полимераз дает возможность осуществлять многочисленные циклы ПЦР, что, в свою очередь, приводит к экспоненциальному росту числа целевых последовательностей ДНК. Ранние модификации ПЦР были основаны на использовании полимераз, функционирующих при более низких температурах (37 °С), которые приходилось заменять после каждого цикла нагревания.

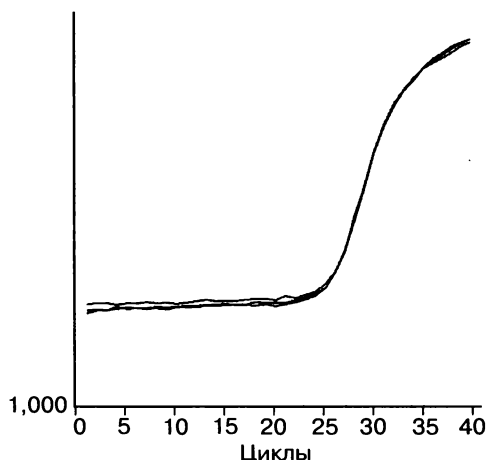
Для ПЦР нужны: *матрица* ДНК; два *праймера*, комплементарных концам подлежащей амплификации области матрицы; термостабильная ДНК-полимераза. Первая стадия — нагревание, обычно до 90–95 °С, с целью вызвать денатурацию матрицы — *двухцепочечной ДНК*. Затем идет стадия отжига, во время которого праймеры связываются с комплементарными последовательностями на уже одноцепочечной матрице. Праймеры подобраны таким образом, что связываются с противоположными концами матричной последовательности; их 3'-концы расположены навстречу друг другу. Температура отжига варьирует в зависимости от длины и последовательности праймера, но обычно находится в пределах 50–60 °С. Заключительная стадия — удлинение, при котором реакционную систему нагревают до температуры, оптимальной для работы ДНК-полимеразы (например, 72 °С для *Taq-ДНК-полимеразы*). На этой стадии полимеразы удлиняют праймер вдоль матрицы, в результате чего образуются две новые копии двухцепочечной ДНК. Многократное повторение цикла денатурация–отжиг–удлинение приводит к амплификации целевой последовательности. Цикл обычно terminates долгой финальной элонгацией (удлинением).

Разработано множество вариантов ПЦР, доступны новые полимеразы, способные к синтезу продуктов большей длины, к репликации с более высокой точностью или, напротив, склонные к ошибкам; последние обладают способностью копировать поврежденные области ДНК (см. *конкурентная полимеразная цепная реакция, мультиплексная полимеразная цепная реакция, вложенная полимеразная цепная реакция, случайная полимеразная цепная реакция, полимеразная цепная реакция в реальном времени, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией*).

David Loakes

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени (РВ). Этот метод был разработан в связи с тем, что *полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией* является только полуколичественной методикой. *Полимеразная цепная реакция* представляет собой наиболее чувствительный метод детектирования РНК и может быть использована для различения сходных мРНК. ПЦР в реальном времени основана на измерении уровня флуоресценции в ходе реакции, что отражает продукцию *ампликона* в каждом цикле ПЦР в реальном времени вместо оценки количества продукта по окончании реакции, как это происходит в других модификациях ПЦР. Однако ПЦР-РВ не определяет размера ампликона, а потому не позволяет различить амплификацию ДНК и *кДНК*.

ПЦР-РВ основана на детектировании и количественном определении флуоресцентного репортера (см. *флуоресцентный зонд, молекулярный*



Результат полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием TaqMan-зонда

маяк); интенсивность флуоресцентного сигнала возрастает с увеличением содержания продукта ПЦР в реакционной системе. Количественно определяя эмиссию флуоресценции в каждом цикле, можно следить за ходом ПЦР в фазе экспоненциального роста, когда первое достоверное увеличение содержания продукта коррелирует с начальным количеством *матрицы*. Чем выше начальное количество матрицы, тем быстрее начнется возрастание интенсивности флуоресценции. В ПЦР-РВ используются различные типы *флуоресцентных зондов* или *праймеров*, включая *TaqMan-зонд*, *молекулярные маяки* и *Scorpion-зонд*. Каждый из них основан на использовании *олигонуклеотида*, несущего одновременно флуорофор и гаситель, которые изначально находятся в непосредственной близости, и поэтому начальный уровень флуоресценции низкий. По мере *амплификации* флуорофор и гаситель оказываются разделенными, а интенсивность флуоресценции возрастает пропорционально количеству амплифицированной ДНК.

Теоретически количество ДНК удваивается с каждым циклом ПЦР, так что через n циклов количество ДНК оказывается в 2^n большим, чем в начале реакции. В начале ПЦР увеличение интенсивности флуоресценции возрастает слишком незначительно, чтобы можно было ее детектировать, но в итоге достигается линейная фаза и, так как амплификация не может продолжаться неограниченно, количество продуцируемой ДНК выходит на плато (см. рисунок). Накопление продукта в ходе ПЦР происходит по экспоненте, поэтому в логарифмических координатах дает линейную зависимость между содержанием синтезированной ДНК и порядковым номером цикла. Очень важным моментом в ПЦР-РВ является контроль за ходом реакции в линейной фазе.

David Loakes

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР, или РНК-ПЦР). Инструмент, который позволяет осуществить *амплификацию* небольшого количества *матрицы* РНК. ОТ-ПЦР представляет собой

двустадийный процесс. На первой стадии происходит копирование РНК *обратной транскриптазой* (*РНК-зависимой ДНК-полимеразой*) с образованием *комплементарной ДНК* (кДНК). Существуют термостабильные обратные транскриптазы (например, обратная транскриптаза вируса миелобластома птиц), которые могут быть использованы в ПЦР. На второй стадии одноцепочечная кДНК экспоненциально амплифицируется термостабильной ДНК-полимеразой в ходе *полимеразной цепной реакции* с образованием большого количества ДНК для дальнейшего анализа. Возможно также модифицировать протокол, включив использование *заякоренных праймеров* с олиго(dT)-модифицированным праймером. Это позволяет осуществить *транскрипцию* и амплификацию с 3'-конца *поли(А)*-«хвоста». Так как синтезирующийся пул *ДНК* образуется на основе исходной последовательности РНК, есть возможность секвенировать ДНК после *клонирования* (см. *ДНК, последовательности анализ*), тем самым определяя последовательность исходной РНК. Это наиболее удобный метод секвенирования РНК (см. *секвенирование РНК*). ОТ-ПЦР находит широкое применение в молекулярной биологии и клинических исследованиях, где ее можно применять для детектирования инфекционных агентов, генетических маркеров, а также опосредованно для выявления белков в малом количестве.

David Loakes

Полимеризация. Химическая реакция, в ходе которой мономерные молекулы соединяются ковалентными связями с образованием *полимера*.

Полиморфизм. Одновременное существование в популяции двух и более *аллелей* с существенными частотами.

Полинуклеотид. См. *нуклеиновая кислота, ДНК, РНК, биополимер*.

Полинуклеотидкиназа (ПНК). Фермент, который катализирует фосфорилирование 5'-концов молекулы нуклеиновой кислоты путем переноса γ -фосфатной группы с молекулы АТФ на 5'-гидроксильную группу. Такие киназы были выделены из бактериофага Т4 и потому также называются Т4-ПНК. П. часто используют для внедрения радиоактивной метки в молекулы нуклеиновых кислот (см. *фосфорилирование, радиоактивное мечение*).

Valeska Dombos

Полирибонуклеотид. См. *РНК, биополимер*.

Полирибосома. Группа *рибосом*, связанных с одной молекулой *матричной РНК* (мРНК) в ходе процесса *трансляции*. Рибосомы транслируют мРНК одновременно, что делает возможным синтез многочисленных белковых молекул на одной цепи мРНК за короткое время.

Slawomir Gwiazda

Полисома. См. *полирибосома*.

Полистирол. *Полимер*, используемый при синтезе олигонуклеотидов в качестве подложки (см. *олигонуклеотидов синтез*).

Полицистронная РНК. *Матричная РНК* (мРНК), которая содержит информацию более чем одного *гена* и транслируется для синтеза более чем одного белка. П. РНК обычны у прокариот и практически отсутствуют у эукариот. Немногие примеры таких мРНК у эукариот обнаруживаются в пластидах и митохондриях, что интерпретируют как поддержку в пользу теории эндосимбиотического происхождения этих органелл. Согласно этой теории, пластиды и митохондрии произошли от свободноживущих прокариот.

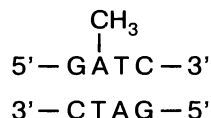
Mauro Santos

Положительная сверхспирализация. См. *сверхспирализованная ДНК*.

Полуконсервативная репликация. В результате *репликации* двойная спираль *ДНК* оказывается состоящей из новосинтезированной цепи и сохраненной материнской цепи. Таким образом, процесс носит полуконсервативный характер.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Полуметилирование. Состояние *метилирования* последовательности *ДНК*, при котором основания в одной цепи метилированы, а в *комплементарной цепи* — нет. Полуметилированные последовательности выполняют несколько важных функций. Большинство ДНК-метилтрансфераз метилируют палиндромные последовательности (например, GATC у *Escherichia coli*).



После *репликации* эти последовательности оказываются полуметилированными и связываются со специальным белком (SeqA), чтобы предотвратить их повторное метилирование и затруднить прохождение новых раундов *репликации* в том же клеточном цикле. Кроме того, П. позволяет ферменту репарации MutH в ходе *репарации неспаренных оснований* на вновь синтезированной молекуле ДНК опознать новосинтезированную цепь, чтобы расщепить ее и осуществить коррекцию *ошибочного спаривания*.

Jörn Wolf

Полуметилированная ДНК. См. *полуметилирование, ДНК метилирование, ДНК-метилтрансфераза*.

Полунепрерывная репликация. На одной из двух цепей (*лидирующая цепь*) синтез ДНК происходит непрерывно, а на второй, *отстающей, цепи* — короткими участками (см. *фрагменты Оказаки*).

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Полярность цепи. Две цепи молекулы ДНК имеют антипараллельную полярность из-за противоположной направленности их *сахарофосфатных остовов*. Направление 5'→3' называют положительным, обратное — отрицательным.

Bettina Appel

Порядок зацепления. Важным параметром кольцевой замкнутой ДНК является порядок зацепления, *Lk*, который равен числу оборотов одной полинуклеотидной цепи вокруг другой. Порядок зацепления является цело-

численным топологическим инвариантом системы, который не зависит от деформации и изгибов ДНК и не меняется до тех пор, пока сахарофосфатный остов полинуклеотидных цепей остается целым.

Порядок зацепления, Lk , связан с двумя геометрическими параметрами: Tw , соответствующим числу витков двойной спирали, и Wr , который характеризует число сверхвитков и связан с формой спиральной оси в пространстве. Топология замкнутой двухспиральной ДНК описывается соотношением: $Lk = Tw + Wr$. В релаксированном ненапряженном состоянии $Lk = Tw$. В отличие от Lk , Tw и Wr могут принимать любые, не только целочисленные значения, в зависимости от пространственной формы ковалентно-замкнутой ДНК. Значения Lk и Tw положительны, а Wr — отрицательны в отрицательной сверхспирали.

Matthäus Janczyk

Последовательностей библиотека. См. *последовательностей пул*.

Последовательностей гомология. Термин описывает сходство между последовательностями и структурами ДНК, определяемое для выявления возможного эволюционного родства. Последовательности ДНК со значительным сходством очевидно происходят от одной предковой последовательности и имеют сходную функцию. В общем случае, если у двух *генов* последовательность практически одинакова, они — гомологи.

Matthäus Janczyk

Последовательностей пул (библиотека). Набор молекул нуклеиновых кислот, который характеризуется разнообразием (числом различных последовательностей). Библиотека может состоять из ДНК, РНК или *модифицированных нуклеиновых кислот*. Разнообразие пулов может достигать 10^{16} различных последовательностей. Большинство библиотек получают путем химического синтеза (см. *олигонуклеотидов синтез*) ДНК, которая при желании может быть транскрибирована в библиотеку РНК (см. *in vitro транскрипция*). Наиболее распространенный подход к синтезу библиотеки связан с использованием смеси мономеров (см. *фосфорамидит*) в твердофазном синтезе ДНК. Смесь четырех стандартных фосфорамидитов, соединенных N раз, дает библиотеку из 4^N различных последовательностей; при этом положения связывания считают рандомизированными. Это приводит к двум различным случаям. (1) Полные библиотеки, до $N = 25$, содержат по крайней мере одну молекулу из всех теоретически возможных последовательностей (4^{25} или около 10^{16}). (2) При $N > 25$ покрытие разнообразия всех возможных последовательностей становится неполным, и физически присутствует только фракция теоретически возможных последовательностей. Третий подход использует фокусированные (несимметричные, примесные) библиотеки, в которых определенная последовательность ДНК «дикого типа» синтезируется с использованием мономеров, которые умышленно загрязнены небольшим количеством других мономеров (примесей). В результате все члены синтезированного пула будут напоминать дикий тип, но с определенной фракцией случайным образом внесенных мутаций. Все три стратегии могут быть комбинированы в одной библиотеке. Разнообразие библиотеки может быть дополнительно увеличено за счет методик *случайного мутагенеза*

(например, при мутагенной *полимеразной цепной реакции*). Библиотеки длинных последовательностей (более 120 нуклеотидов) могут быть собраны из коротких предшественников путем *лигирования* или других стандартных процедур. Для использования в экспериментах *SELEX* переменная часть библиотеки может быть фланкирована двумя *сайтами связывания праймера* с постоянной последовательностью (или же несколько переменных частей могут перемежаться постоянными последовательностями).

Andres Jäschke

Последовательности анализ. См. проект «Геном человека», ДНК секвенирование, секвенирование по Максому—Гилберту, секвенирование по Сенгеру.

Последовательности выравнивание. Сравнение последовательностей молекул нуклеиновых кислот с целью поиска сходных областей (см. РНК, выравнивание и сравнение структуры, Rfam).

Последовательность. См. нуклеотидов последовательность.

Посттранскрипционная модификация. После ферментативного синтеза РНК в клетке (*транскрипции*) многие РНК подвергаются модификациям. Эти модификации осуществляются клеточными ферментами и играют важную роль в регуляции активности РНК. Например, присоединение *поли(А)-«хвоста»* к 3'-концам *матричных РНК* (мРНК) защищает РНК от деградации клеточными нуклеазами (см. РНК деградация) и способствует их транспорту из ядра в цитоплазму, где происходит трансляция. Однако большинство П. м. происходят в специфических *нуклеотидах* во внутренних сайтах последовательности РНК. Модифицированные нуклеотиды представляют собой производные нормальных нуклеотидов А, Г, С и U. Многие *нуклеотиды* модифицируются путем присоединения одной метильной группы к основанию или остову. Модификация других происходит более сложным путем, например превращение уридина в *псевдоуридин*, который содержит гликозидную связь С—С вместо нормальной С—N. Некоторые нуклеотиды подвергаются более чем одной модификации. Некоторые модификации филогенетически консервативны. Функциональная роль модифицированных нуклеотидов не вполне понятна, но известно, что они влияют на *вторичную структуру* и *третичную структуру* РНК. Например, повышенное число модификаций в молекуле *транспортной РНК* (тРНК) у термофильных бактерий указывает на то, что модифицированные нуклеотиды играют роль в стабилизации структуры тРНК при высоких температурах. Модифицированные нуклеозиды в тРНК также повышают точность и эффективность синтеза белка на *рибосоме*. Из ядерной РНК были выделены и структурно охарактеризованы около 100 модифицированных нуклеозидов. Большинство из них обнаруживаются в тРНК, многие присутствуют в молекулах *рибосомных РНК* и мРНК. Наличие столь большого числа модифицированных нуклеозидов подтверждает теорию *РНК-мира*, указывая на то, что спектр функций РНК ранее был значительно шире: РНК выполняли многие функции, которые к настоящему времени взяли на себя белки.

Snorri Th. Sigurdsson

Посттранскрипционный сайленсинг генов. См. *гена сайленсинг, РНК-интерференция.*

Правозакрученная ДНК. См. *двойная спираль ДНК, ДНК структуры.*

Праймаза. Так как *ДНК-полимеразы* неспособны инициировать синтез ДНК, но могут удлинять полимеры нуклеиновых кислот, необходима активность П. Этот фермент иницируется и осуществляет синтез *РНК-праймеров* (коротких РНК-олигонуклеотидов длиной 11–12 остатков) *de novo* на *отстающей цепи репликативной вилки*. Затем праймеры удлиняются за счет активности ДНК-полимераз. Позднее *праймеры* удаляются, например ДНК-полимеразой I, которая гидролизует рибонуклеотиды и заменяет их на 2'-дезоксирибонуклеотиды.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Праймер. Короткий одноцепочечный *олигонуклеотид*, необходимый для синтеза ДНК или РНК, катализируемого *полимеразой*. Последовательность П. комплементарна области ДНК/РНК, которая послужит *матрицей* для синтеза новой цепи. В зависимости от типа полимеразы синтез может быть ДНК- или РНК-зависимым. П. необходим, поскольку ДНК- и РНК-полимеразы могут синтезировать новую цепь *нуклеиновой кислоты* только путем присоединения к уже имеющейся цепи нуклеотидов. П. отжигается на матрице с образованием двуцепочечного *дуплекса*, с которым будет связываться полимераза и который служит *сайтом узнавания* для инициации *полимеризации*. Для ферментативного синтеза также необходимо, чтобы у П. была свободная 3'-гидроксильная группа, к которой будет присоединяться очередной нуклеозид-5'-трифосфат. Синтез ДНК, катализируемый ДНК-полимеразой (например, в ходе *полимеразной цепной реакции*), требует праймеров длиной 20–30 нуклеотидов.

David Loakes

Праймосома. Комплекс белков, участвующих в синтезе *РНК-праймеров*, которые иницируют *репликацию*. Эти белки ответственны за распознавание сайта инициации, расплетание *двойной спирали ДНК*, сборку праймосомы и элонгацию РНК-праймера.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Пре-геном. РНК-интермедиат, который превращается в ДНК путем обратной транскрипции. Например, небольшая молекула ДНК вируса гепатита В возникает путем *обратной транскрипции* из П. этого вируса.

Mauro Santos

Предшественник мРНК. См. *pre-мРНК.*

Предшественник тРНК. См. *pre-тРНК.*

Пре-миРНК. Предшественник *миРНК* длиной около 70 нуклеотидов, формирующий несовершенную структуру типа *стебель–петля*. П. процессируется из *при-миРНК* за счет активности *Drosha* и в *миРНК* за счет активности *Dicer*.

Nicolas Piganeau

Пре-мРНК. Синтез мРНК осуществляется в ходе процесса *транскрипции*. Последовательность мРНК определяется *матрицей* ДНК; *генетическая информация* переносится к молекуле-предшественнику (пре-мРНК) за счет активности фермента *РНК-полимеразы*. Молекула пре-мРНК содержит белок-кодирующие и белок-некодирующие последовательности (см. *кодирующая последовательность*), называемые *экзонами* и *интронами* соответственно. Перед тем как стать матрицей для трансляции, пре-мРНК модифицируется в несколько стадий с образованием *зрелой мРНК*. Эта модификация в целом называется *процессингом*, в ее состав входят экспонирование, *сплайсинг* и *полиаденилирование*. С мРНК связываются несколько белков, которые облегчают ее транспорт в цитоплазму; формирующийся комплекс носит название *мРНКП*.

Tina Persson

Пре-тРНК. Предшественник *транспортной РНК* (тРНК), синтезируемый *РНК-полимеразой* III. П. обычно представляет собой мультицистронный *транскрипт*, содержащий последовательности нескольких тРНК, а также дополнительно *матричных РНК* и *рибосомных РНК*. Этот транскрипт несет 5'-*лидерную последовательность*, *спейсеры* между отдельными тРНК и 3'-*трейлерную последовательность*. От 4 до 13% всех пре-тРНК у эукариот содержат *интроны* длиной 11–50 нуклеотидов. 5'-Сайт сплайсинга обычно расположен в антикодоновой петле, а 3'-сайт сплайсинга — в петле длиной 3–5 нуклеотидов.

Jörn Wolf

При-миРНК. Предшественник *миРНК*. При-миРНК транскрибируются или в ходе независимой *транскрипции*, или в составе полицистронов (см. *полицистронная РНК*). При-миРНК могут также быть локализованы в пределах *интронов* белок-кодирующих *генов*.

Nicolas Piganeau

пРНК. (а) *Пакующая РНК*; (б) *пиранозил-РНК*; (в) *промоторная РНК*.

Проверочная активность. Так как при *репликации* генетического материала требуется очень высокая точность воспроизведения, точность нескольких *ДНК-полимераз*, которые катализируют элонгацию цепи *образующейся ДНК*, повышается из-за присущей им способности к П. а. В природных условиях П. а. осуществляется благодаря экзонуклеазной активности некоторых *ДНК-полимераз* (см. *экзонуклеаза*). Последние гидролизуют связи между *нуклеотидами*, приводя к отщеплению неверно встроенных и заменяют их на верные нуклеотиды.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

«Прогулка по хромосоме». Метод идентификации и определения нуклеотидной последовательности больших фрагментов ДНК. Первым этапом становится клонирование геномного фрагмента, который служит отправным пунктом «прогулки». Затем производят скрининг геномной библиотеки с использованием полученного клона как зонда на предмет обнаружения смежных клонов слева и справа. Выбранный смежный клон затем служит новым зондом для повторения процесса.

Mauro Santos

Проект «Геном человека». В 1990 г. в США была основана международная ассоциация HUGO (Организация по картированию генома человека) с целью получения полной нуклеотидной последовательности *генома* человека и анализа основных особенностей его структуры. С этого момента более 1000 ученых в 40 странах стали участниками официально объявленного проекта «Геном человека». Анализ последовательности (см. *последовательности анализ*) генома человека, составляющего $3,08 \cdot 10^9$ п. н., должен был завершиться в 2005 г., однако первые результаты полногеномного анализа были опубликованы уже в 2001 г. К настоящему времени последовательности общей длиной более $2,88 \cdot 10^9$ п. н., установленные с достоверностью 10^{-5} , доступны в открытых базах данных. Проект «Геном человека» выявил наличие всего около 20 000–25 000 генов; первоначально предполагалось число генов в человеческом геноме примерно 100 000. Все эти гены локализованы в 46 хромосомах. Среди уже идентифицированных генов 1500 могут быть ассоциированы с конкретными заболеваниями. Кроме того, было показано, что геномы двух разных людей могут различаться на 0,1%.

Проект внес значительный вклад в развитие технологий *секвенирования*. Большинство последовательностей в рамках проекта были установлены с использованием *секвенирования по Сенгеру*. В начале реализации проекта применялись системы автоматизированного блочного гель-электрофореза. Даже эти методики существенно повысили эффективность, скорость, точность и воспроизводимость секвенирования ДНК по сравнению с традиционными методами автордиографии и радиоактивного мечения. В ходе осуществления проекта произошел переход от блочного гель-электрофореза к *капиллярному электрофорезу*. Современные подходы позволили существенно автоматизировать процесс секвенирования в том, что касается ввода образцов, *электрофореза* и анализа. Высокоавтоматизированные системы с набором из 96 капилляров дают возможность обработки тысяч *пар оснований* в течение нескольких часов, в результате чего проект по секвенированию генома человека был завершен значительно раньше, чем предполагалось изначально.

Susanne Brakmann

Промотор теплового шока. Многие бактериальные *гены теплового шока* транскрибируются под контролем специализированных *промоторов*, распознаваемых альтернативными *сигма-факторами*, например фактором σ^{32} (RpoH) у *Escherichia coli*.

Franz Narberhaus

Промотор фага T7. Последовательность промотора 5'-TAATACGACTCA-СТАТА-3', которая регулирует *экспрессию* расположенных *ниже генов* фага T7. Эта последовательность распознается закодированной в фаговом геноме *РНК-полимеразой фага T7*, которая, в свою очередь, катализирует синтез РНК фага T7.

Irene Drude

Промотор. Некодирующая последовательность в молекуле ДНК, которая содержит информацию, необходимую для активации или репрессии соответствующего *гена*. Промоторная область определяет точку начала *транс-*

крипции. У эукариот специфическая последовательность П., расположенная *выше* гена, распознается *транскрипционными факторами*, которые привлекают РНК-полимеразу для транскрипции. У прокариот промотор распознается *сигма-фактором*, образующим комплекс с РНК-полимеразой. Прокариотический П. обычно состоит из двух коротких последовательностей в положениях -10 (так называемый *бокс Прибнова* или -10 -элемент) и -35 (-35 -элемент). -10 -элемент у *Escherichia coli* содержит мотив ТАТААТ и необходим для начала транскрипции. Наличие -35 -элемента делает возможной транскрипцию с более высокой скоростью; у *Escherichia coli* он состоит из 6 нуклеотидов TTGACA.

Эукариотические П. существенно отличаются от прокариотических. Они могут содержать регуляторные последовательности на расстоянии нескольких т. п. н. от точки начала транскрипции. Многие П. эукариот содержат *ТАТА-бокс* примерно на 25–35 нуклеотидов *выше* сайта начала транскрипции. Последний включает в себя элемент, обогащенный пиримидинами. Белки, связывающие ТАТА-бокс (например, транскрипционный фактор TFIID), распознают этот элемент и связываются с ним, а затем участвуют в дальнейшей сборке транскрипционного комплекса. Распространены также GC-боксы и СААТ-боксы. Эти элементы присутствуют в клеточных и вирусных промоторах в количестве более одной копии в различной ориентации. У генов «домашнего хозяйства» нет ТАТА-бокса рядом с сайтом начала транскрипции, но в них есть множество GC-боксов, которые распознаются транскрипционным фактором SP1. Распознавание приводит к тому, что с этим белком связываются другие транскрипционные факторы, а также РНК-полимераза II. СААТ-боксы в основном расположены на расстоянии от -110 до -40 нуклеотидов от начала транскрипции. Некоторые транскрипционные факторы (CTF, NF1) распознают этот элемент и связываются с ним.

Irene Drude

Промоторная РНК (пРНК) Участвует в эпигенетическом перепрограммировании и сайленсинге, осуществляемом *малыми интерферирующими РНК* (сиРНК) (см. *гена сайленсинг*), в котором участвует вместе с областью *промотора* ДНК. Эти промоторные области ДНК связываются с *антисмысловыми цепями* ориентированных на промотор сиРНК, в то время как пРНК функционирует в качестве поддержки для обеспечения правильного фолдинга сиРНК.

Bettina Appel

Простые повторенные последовательности (SSR). См. *микросателлит*, *минисателлит*.

Прыжок электрона. В принципе ДНК-опосредованный перенос заряда может быть охарактеризован либо как окислительная дырочная проводимость, либо как восстановительный процесс переноса электронов. Механизм окислительной дырочной проводимости с участием высшей занятой молекулярной орбитали описан достаточно детально; напротив, транспорт избыточных электронов, контролируемый низшей незанятой молекулярной орбиталью, во многом неясен (частично пробел был восполнен в последние годы). Механизмы прыжковой дырочной проводимости и переноса элект-

тронов были перенесены на перенос избыточных электронов и подтверждены экспериментальными данными. Вероятно, в таком прыжке электрона участвуют все *пары оснований* (А-Т и G-C) и анион-радикалы *пиримидинов* как промежуточные переносчики электронов. Это предположение основано на данных о сравнительной способности пар оснований к восстановлению: известно, что пиримидиновые основания (С и Т) восстанавливаются легче, чем *пуриновые основания* (А и G). Однако прыжок электрона через анион-радикал *тимина* представляется более предпочтительным, так как протонирование анион-радикала *цитозина* за счет *комплементарных оснований* ДНК или окружающих молекул воды, вероятно, мешает прыжку электрона. В результате связанный с протоном прыжок электрона в паре G-C снижает эффективность и скорость электронного транспорта, но не прекращает миграцию электронов в ДНК в целом. Согласно современным представлениям о механизмах П. э., при этом не происходит повреждения ковалентных связей ДНК, поэтому данный тип ДНК-опосредованного транспорта заряда обладает высоким потенциалом для молекулярной диагностики. Кроме того, в перспективе возможно создание электрохимических *ДНК-чипов* и молекулярной электроники, например наноструктур на основе ДНК или полученных при помощи ДНК наноструктур. (см. *перенос заряда в ДНК*).

Hans-Achim Wagenknecht

Прыжок электронной «дырки». В принципе процессы переноса заряда с участием ДНК можно рассматривать либо как окислительный транспорт «дырки» с участием высшей занятой молекулярной орбитали, либо как восстановительный перенос электрона с участием низшей свободной молекулярной орбитали. Перенос «дырки» в ДНК важен для биологических систем, так как это один из главных процессов, происходящих при окислительном *повреждении ДНК*, которое может привести к апоптозу, мутации или онкологическому заболеванию.

Перенос «дырки» на большие расстояния можно описать с помощью прыжкового механизма. Из четырех оснований в составе ДНК легче всего окисляется G, поэтому катион-радикал G играет роль переносчика заряда. После фотохимического окисления ДНК положительный заряд перескакивает с одного гуанина на другой и в конце концов может перейти на подходящий акцептор заряда. Если каждый отдельный прыжок происходит на одно и то же расстояние, то в динамике прыжков прослеживается зависимость расстояния от числа прыжков. Каждый прыжок сам по себе — это сверхобменное взаимодействие через лежащие между гуанинами А-Т-пары оснований, но это взаимодействие возможно только если расстояние между гуанинами не слишком большое. Скорость отдельного прыжка составляет 10^6 – 10^8 с⁻¹. По результатам экспериментов предполагается, что *аденины* тоже могут играть роль промежуточного переносчика «дырки». Такие А-прыжки могут происходить, если в последовательности нет G, главным образом на длинных А-Т-участках (по крайней мере из четырех А-Т-пар оснований). Окисление аденина катион-радикалом гуанина — эндотермический процесс. Если адениновый катион-радикал образуется, А-прыжки происходят быстро; скорость А-прыжков составляет 10^{10} с⁻¹. Более того, можно показать, что перенос «дырки» через восемь А-Т-пар оснований почти так же эф-

фективен, как перенос через две А-Т-пары. По сравнению с G-прыжками А-прыжки быстрее, более эффективны и почти не зависят от расстояния (см. *перенос зарядов в ДНК, прыжок электрона*).

Hans-Achim Wagenknecht

Прямой перенос генов. Внедрение оголенной (несвязанной с белками) ДНК в хозяйские клетки с использованием физических методов (электропорация, микроинъекция, биолистика и др.).

Псевдовращение. Конформация пятичленного кольца с равными углами и длинами связей может быть аналитически описана с помощью концепции П. Из-за ограничений, накладываемых геометрией кольца, пять торсионных углов, определяющих в целом *конформацию сахара*, сводятся к двум параметрам: фазовому углу псевдовращения P и торсионному углу максимальной амплитуды Φ_m (амплитуда складчатости). Фазовый угол П. P имеет положительные значения в диапазоне от 0 до 360° .

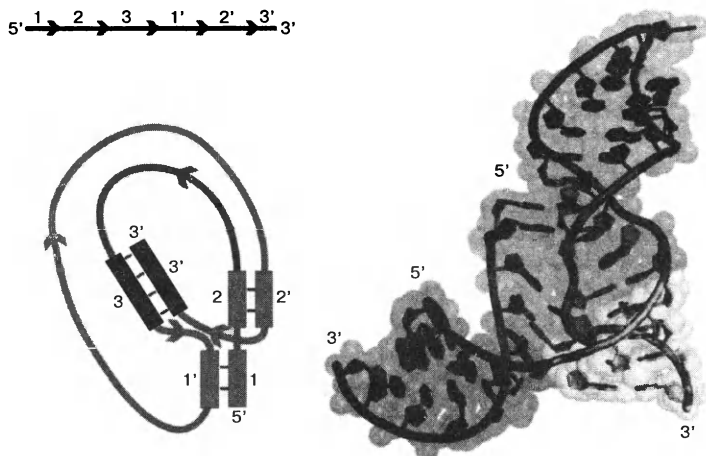
Klaus Weisz

Псевдогены. Неактивные, но стабильные компоненты эукариотического генома. Происходят от некогда активных *генов*. Эти копии обладают свойством накапливать *мутации*, которые блокируют *транскрипцию* и *трансляцию*.

Mauro Santos

Псевдопромотор. Сходная с *промотором* последовательность, с которой может ошибочно связываться *РНК-полимераза*.

Псевдоузел. Несмотря на то что их часто относят к элементам *вторичной структуры*, П. — типичные представители элементов *третичной структуры*. П. образуется при внутримолекулярном спаривании оснований из *шпильчатой петли* с несколькими основаниями за пределами стебля, образуя еще одну петлю (см. *стебель—петля структура*.) В качестве примера можно привести структуру *рибозима Дильса—Альдера*, которая образует

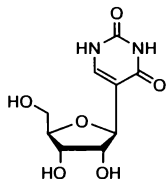


См. рис. VII на цветной вклейке

двойной вложенный П. строения 1–2–3–1'–2'–3' (одинаковые цифры обозначают двцепочечные участки, цифры без штриха — последовательность *первичных структур* 5'-концов участков, а цифры со штрихом — последовательность 3'-концов).

Boris Fürtig, Harald Schwalbe

Псевдоуридин. Изомер нуклеозида *уридина*. В молекуле П. азотистое основание присоединяется к *рибозе* связью С–С между С5-атомом урацила и С1-атомом рибозы. П. — это наиболее часто встречающийся модифицированный нуклеозид, обнаруживаемый во всех типах РНК, кроме матричных РНК. Изомеризация уридина в П. катализируется специальными ферментами псевдоурдинсинтазами (см. *модифицированное основание, транспортная РНК*).



Bettina Appel

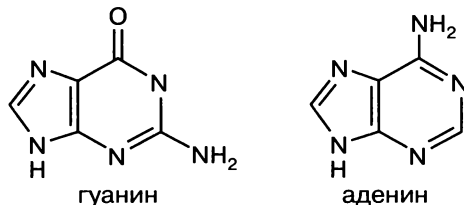
ПТЦ. Пептидилтрансферазный центр (см. *рибосома*).

Пузырек дыхания. См. *ДНК-пузырек*.

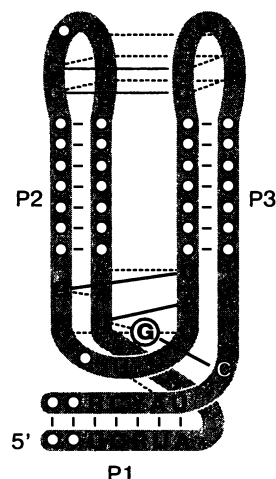
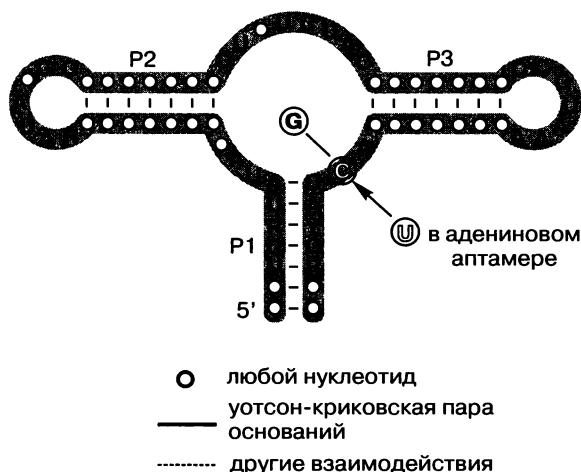
Пул. Набор молекул нуклеиновых кислот с различными последовательностями (см. *in vitro эволюция нуклеиновых кислот, SELEX*).

Пуриновые нуклеозиды. *N-Гликозиды пуриновых оснований* — *аденина* и *гуанина*.

Пуриновые основания. *Азотистые основания*, содержащие в качестве основного элемента пурин (см. *аденин, гуанин*).



Пуриновые рибопереключатели. Регуляторные структуры в составе некоторых *матричных РНК*, связывающиеся с *аденином* или *гуанином*. Они обнаружены в нескольких видах бактерий *выше* от генов, участвующих в метаболизме пуринов. *Консенсусная последовательность аптамера*; согласно филогенетическим данным, состоит из 66 нуклеотидов и образует *трехстороннее соединение* с наиболее консервативными нуклеотидами в терминальных (L2 и L3) и внешних (L1) областях петель. В то же время были выявлены два класса, различающиеся одним строго консервативным нуклеотидом между стеблями P1 и P3, который представлен С в *гуаниновых* и U в *адениновых* рибопереключателях. Из трехмерной структуры, полученной для аптамера *рибопереключатателя* методами рентгеноструктурного анализа и ядерного магнитного резонанса спектроскопии, видно, что консервативные остатки являются определяющими для формирования *кармана связывания* и стабилизации *третичной структуры*. Как и ожидалось, лиганды



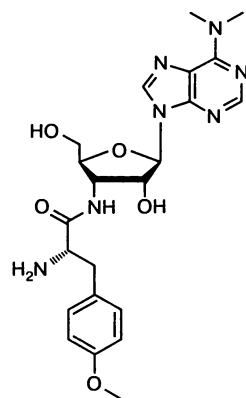
Пуриновые рибопереклюатели: консенсусная последовательность гуанинового аптамера и третичная структура

распознаются (и, следовательно, селективно связываются) по их уотсон-криковской стороне (см. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*) консервативным С- или U-нуклеотидом соответственно. К тому же РНК почти полностью окружает лиганд, что подтверждает биохимические данные о том, что любое изменение в позициях N7, С8 или N9 пурина ведет к сильному снижению аффинности связывания. Общая архитектура кармана связывания позволяет эффективно отличать соответствующий лиганд от многочисленных природных пуринсодержащих соединений.

Rüdiger Welz

Пурамицин. Аминонуклеозидный *антибиотик*, выделяемый из *Streptomyces alboniger*. Структура включает модифицированный остаток аденозина, связанный через 3'-аминогруппу с тирозином.

Из-за сходства с тирозил*транспортной РНК* П. также обладает способностью нарушать нормальный биосинтез белка (см. *трансляция*) при связывании с *А-сайтом* в *рибосоме*. На стадии транспептидазной реакции *рибосома* переносит растущую цепь полипептида на аминокислотированный миметик *транспортной РНК* (П.), в результате чего происходит преждевременная *терминация* роста цепи. Кроме того, П. нарушает нормальный транспорт белка в митохондриях. Грамположительные бактерии (равно как и клетки многих животных, включая насекомых) подвержены действию П., в то время как клеточные стенки грамотрицательных бактерий и грибов обладают низкой проницаемостью для П. (см. *ингибитор Яруса*).



Jörn Wolf

ПЦР в клетке. См. *in situ* полимеразная цепная реакция.

ПЦР. См. полимеразная цепная реакция.

Р

Равновесное центрифугирование. Особый тип центрифугирования, при котором молекулы или субклеточные частицы разделяются в градиенте плотности (например, в градиенте плотности сахарозы). Градиент (линейный или экспоненциальный) может быть получен при смешивании двух растворов сахарозы с различными концентрациями (плотностями).

Matthäus Janczyk

Равновесный диализ. Метод определения констант ассоциации низкомолекулярных лигандов с макромолекулами при помощи диализа. Это очень простой и дешевый метод для изучения, например, взаимодействия антигена с антителом или мРНК с аптамером без необходимости введения радиоактивной или флуоресцентной метки. Молекула меньших размеров способна диффундировать сквозь полупроницаемую мембрану, в то время как большая молекула к этому неспособна. После того как устанавливается равновесие, несвязанный лиганд равномерно распределяется по обе стороны мембраны, и возможно количественное определение содержания связанных с лигандом макромолекул, свободных макромолекул и свободных лигандов. Этот метод дает возможность для изучения даже низкоаффинных взаимодействий, которые не удастся изучать другими методами.

Valeska Dombos

Радиоактивное мечение. Внедрение радиоактивной метки в молекулы ДНК и РНК (см. *олигонуклеотидов мечение, изотопное мечение*). Чаще всего в качестве метки используют ^{32}P , который может быть внедрен в фосфоэфиры *олигонуклеотидов*. Для переноса радиоактивного фосфата с АТФ на 5'-конец *олигомеров* используют *киназы*. Для внедрения радиоактивной метки во внутренние сайты ДНК и РНК применяют *полимеразы*.

Snorri Th. Sigurdsson

Разветвленная ДНК. ДНК, структура которой содержит неоднородности, нарушающие классическую двойную спираль и называющиеся *сайтами ветвления*. Во многих случаях они образуются, если в каком-либо взаимодействии участвуют более одной одиночной цепи ДНК. В условиях *in vivo* одиночные цепи удерживаются вместе *уотсон-криковскими парами оснований*, часто при поддержке белковых компонентов, в результате чего образуются *спиральные соединения* (сочленения) в их *точках ветвления*. Разветвленные ДНК достаточно часто встречаются в клетке, например образуются в ходе *репликации ДНК* (см. *репликативная вилка*) или при мейозе у эукариот, когда *гомологичные хромосомы* сближаются и обмениваются генетическим материалом путем расщепления цепи ДНК и последующего перекрещивания.

Существует много возможностей их создания *in vitro*. Синтезированы несколько структур, несущих мотив разветвленной ДНК. Они содержат от трех до восьми спиральных ответвлений в фиксированных положениях. Эти ответвления частично перекрываются по уотсон-криковским закономерностям. В результате лишь частичного перекрывания они содержат неспаренные области на концах, которые не вовлечены в уотсон-криковские взаимодействия. Эти *липкие концы* могут взаимодействовать с ответвлениями, начинающимися от других соединений. В результате на основе разветвленной ДНК могут быть созданы правильные геометрические фигуры (кубы, многогранники и т. д.).

Для создания такой ДНК *in vitro* могут быть использованы иные взаимодействия. Например, соединения могут быть образованы 5'-биотинилированием ДНК и последующим взаимодействием со стрептавидином, в результате чего возникает четырехразветвленный сайт с *биотином* в центре.

Jörn Wolf

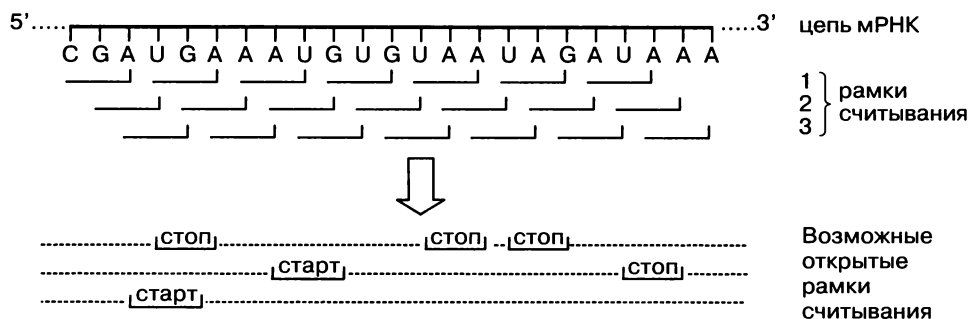
Разветвленная нуклеиновая кислота. См. *разветвленная ДНК, разветвленная РНК*.

Разветвленная РНК. Любая РНК, в молекуле которой двуцепочечные районы чередуются с необычными структурами, например с одноцепочечными участками, *выпетливаниями*, *петлями* или *соединениями*. Многие *рибозимы* (к примеру, *молотоголовый рибозим* или *шпильчатый рибозим*) содержат ветви, необходимые для осуществления их каталитической функции. В этих рибозимах соединения образованы нековалентными взаимодействиями. Другие структуры разветвленной РНК, в которых роль *сайта ветвления* играет модифицированный нуклеотид, формируются в процессе *сплайсинга*. Образующиеся в ходе этого процесса РНК носят название *лариатов*. Они также могут быть синтезированы *in vitro*, например, с использованием *ДНКзимов*.

Jörn Wolf

Разделенные гены. См. *мозаичные гены*.

Рамка считывания. Поток *генетической информации* от ДНК к белкам предполагает (в соответствии с *центральной догмой молекулярной биологии*) *транскрипцию гена* с образованием *матричной РНК* (мРНК), которая служит *матрицей* для синтеза белка на рибосоме (см. *трансляция*). Линейная последовательность *нуклеотидов* является направленной из-за различных заместителей в углеводных кольцах и разного химического состава на разных концах цепи. «Буквы» *генетического кода*, соответствующие аминокислотам, состоят их трех последовательных нуклеотидов — *кодона*. Линейная последовательность всех последовательных неперекрывающихся кодонов между *стартовым кодоном* и *стоп-кодоном*, кодирующая одну полипептидную цепь, носит название *открытой рамки считывания* (ОРС). Цепь мРНК содержит три возможные Р. с., из-за того что «алфавит» генетического кода — трехбуквенный. В двойной цепи ДНК число возможных рамок считывания удваивается, так как прочтение возможно в прямом и обратном направлениях. Обычно только одна из возможных Р. с. действи-



Рамка считывания

тельно является открытой, а остальные через несколько кодонов терминируются стоп-кодоном, что важно для интерпретации результатов геномного секвенирования. У эукариот ситуация более сложная, так как некодирующие области (см. *интрон*) должны быть удалены с помощью *сплайсосомы* с образованием непрерывной кодирующей последовательности (такой, которая у прокариот присутствует изначально).

Stefan Vörtler

Рамки сдвиг. См. *рамки считывания сдвиг*.

Рамки считывания сдвиг. Любое событие, в результате которого граница *рамки считывания* изменяется во время трансляции, а *матричная РНК* (мРНК) остается связанной с *рибосомой*. Это приводит к *перекодированию* исходной *генетической информации*. Обычно наблюдается сдвиг рамки по типу -1 или $+1$, при котором рибосома смещается на один *нуклеотид* вперед или назад и продолжает трансляцию. Многие вирусы используют -1 -сдвиг для контроля за содержанием белков, в то время как $+1$ -сдвиг встречается на этапе обратной связи при регуляции синтеза многих бактериальных *трансляционных факторов* семейства RF2. *Стоп-кодон* UGA в положении 25 в *генах* белка RF2 прекращает синтез белка под действием продукта этого же гена. Однако, если содержание белка RF2 в клетке достаточно невелико, *терминации* не происходит, и приостановившаяся рибосома снова начинает движение благодаря контролируемому сдвигу рамки, который делает возможным завершение синтеза белка RF2. Сдвиг рамки зависит от последовательности; *транспортные РНК* в *A-сайте* и *P-сайте* рибосомы должны обе проскользнуть по мРНК, а это требует дополнительных возможностей образования пар между основаниями. В случае гена белка RF2 пептидил-тРНК^{Leu}, связанная с *кодоном* CUU (24-й кодон), проскальзывает на одно положение, образуя пару с U в стоп-кодоне UGA (25-й кодон), тем самым расшифровывая триплет UUU с образованием «*качающейся*» пары оснований (см. «*качания*» гипотеза).

Изменение структуры рамки считывания может быть также вызвано инсерцией или делецией нуклеотидов числом, некратном 3. В этом случае сдвиг рамки считывания приводит к синтезу *миссенс-мРНК*, трансляция которой обычно дает нефункциональный белок. Это связано с тем, что считывание все равно происходит по триплетам, которые после сдвига определяют не-

верные аминокислоты. Сдвиги рамки часто порождают новые стоп-кодоны и потому генерируют *нонсенс-мутации*.

Stéphanie Vauléon, Stefan Vörtler

Рамки считывания сдвиг, мутация. Любая мутация в кодирующей области генов, которая вызывает превращение одной рамки считывания в другую в ходе синтеза белка на рибосоме (т. е. инсерция или делеция некротного 3 числа нуклеотидных остатков). Возможность таких мутаций обусловлена неперекрывающейся и непрерывной (не содержащей знаков препинания) природой *генетического кода* (см. *инсерционная мутация, делеционная мутация*).

Hans-Joachim Fritz

Ранние гены. Гены вируса или бактериофага, которые экспрессируются первыми после инфицирования хозяйской клетки.

Растворимая РНК. См. *транспортная РНК*.

Растительная искусственная хромосома. Искусственная хромосома, содержащая фрагмент *геномной ДНК* растений и сконструированная таким образом, что способна к эпизомному поддержанию в растительной клетке.

Растущая (цепь) ДНК. Цепь ДНК, которая находится в процессе элонгации (см. *ДНК репликация*).

Растущая (цепь) РНК. Цепь РНК, которая находится в процессе элонгации (см. *транскрипция*).

Расчеты с использованием нуклеиновых кислот. См. *ДНК (РНК, нуклеиновые кислоты), расчеты с использованием*.

Расщепление. Ферментативная деградация молекул ДНК или РНК до мономерных единиц.

Регулон. Набор генов под контролем одного регуляторного белка (обычно термин используется для описания экспрессии генов у прокариот). См. *гена экспрессия*.

Регуляторные гены. Гены, которые запускают и останавливают экспрессию других генов.

Регуляция транскрипции. Регуляция экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) достигается на уровнях *транскрипции, процессинга РНК*, транспорта РНК, *трансляции*, созревания белков, посттрансляционных модификаций и деградации белка или *матричной РНК*. Наиболее эффективна регуляция на стадии транскрипции, так как она практически не связана с потерями материала. Р. т. обычно осуществляется на стадии инициации (см. *контроль транскрипции*), реже в ходе *элонгации*. У прокариот регуляция на уровне элонгации происходит путем *антитерминации* либо *аттенуации*.

П. В. Сергеев

Редактирование. См. *РНК редактирование*.

Редкий нуклеотид. Модифицированный нуклеотид, образующийся при ферментативном видоизменении основания или сахара в составе природных нуклеотидов. В целом модификации происходят на уровне интактной цепи нуклеиновой кислоты. Наиболее частые модификации: ацетилирование (N4-ацетилцитидин, 5-ацетилауридин), гликозилирование (5-глюкозилгидроксиметилцитидин), изопренилирование (N6-изопентиладенозин), восстановление (5,6-дигидроуридин), тиолирование (2-тиоуридин), расщепление связи N—C с последующим образованием связи C—C (псевдоуридин), метилирование (5-метилауридин, 2'-O-метилауридин). Модификации специфичны по типам нуклеиновых кислот; индивидуальные нуклеиновые кислоты различаются по степени и характеру модификации. Р. н. часто обнаруживаются в определенных положениях молекул *транспортных РНК*, как правило, на одноцепочечных участках рядом с *антикодонной петлей*. Нуклеотиды, метилированные по атомам С, N и О, встречаются также в *рибосомных РНК* и ДНК.

Sabine Müller

Редкое основание. Модифицированное основание, отличное от основных элементов полинуклеотидных последовательностей, — А, С, G и U/T (см. *редкий нуклеотид*).

Рекомбинантная ДНК. ДНК, получаемая в результате рекомбинантных ДНК-технологий. Термин «рекомбинантная» также может относиться к РНК.

Рекомбинационная репарация. См. *ДНК репарация*.

Рекомбинация. Обмен генетическим материалом между двумя цепями молекул нуклеиновых кислот (см. *гомологичная рекомбинация*).

Релаксированная ДНК. ДНК, которая не является сверхспирализованной (см. *ДНК структура, сверхспирализованная ДНК*).

Ренатурация. Восстановление структуры *комплементарных олигонуклеотидов*, разделенных температурной *денатурацией*.

Рентгеноструктурный анализ нуклеиновых кислот. См. *кристаллизация нуклеиновых кислот*.

Репарация коротких участков. См. *ДНК репарация*.

Репарация неспаренных оснований. Особый тип репарации (см. *ДНК репарация*), при котором премутагенное состояние молекулы ДНК заключается не в наличии поврежденного нуклеотида, а в противостоянии двух нормальных нуклеотидов, возникшем в результате неверного встраивания при *репликации*. Осуществляется при условии, что аномалия не была устранена в ходе *проверки*, осуществляемой *ДНК-полимеразой*. Природа корректируемой ошибки порождает определенную проблему информационной двусмысленности: репарация верна только в том случае, если направлена на исключение нуклеотида в новосинтезированной цепи ДНК. У *Escherichia coli* эта проблема разрешается при дальних взаимодействиях между сай-

том с неспаренными основаниями и ближайшей последовательностью GATC. Эта последовательность является мишенью для *аденин(N6)-ДНК-метилтрансферазы* Dam, которая метилирует внекольцевую аминогруппу в остатке *аденина* в пределах палиндромной последовательности-мишени (т. е. последовательности, которая читается как GATC по обеим цепям). При прохождении *репликативной вилки* через последовательность GATC в обеих дочерних цепях формируются полуметилированные сайты. Эти сайты оказываются важным химическим маркером новосинтезированной цепи до того, как метилтрансфераза Dam осуществит присоединение недостающей метильной группы. Если в течение этого промежутка времени обнаруживается *неспаренное основание*, репарационная эндонуклеаза MutH связывается с сайтом GATC и расщепляет неметилированную нить в сторону 5'-конца от остатка G. Информация об этом сообщается эндонуклеазе MutH при посредстве гетеротетрамernого белкового комплекса, состоящего из двух копий белка MutS и двух MutL. Этот тетрамер связывается с неспаренными основаниями и прокручивает молекулу ДНК в обе стороны с затратой АТФ, формируя петлю. Столкновение тетрамера с белком MutH, связанным с ближайшим сайтом GATC, предположительно, активирует эндонуклеолитическую активность MutH. В дальнейшем *ДНК-хеликаза*, *экзонуклеаза* и белок, связывающий одиночную цепь, образуют брешь, начинающуюся от последовательности GATC и заканчивающуюся сайтом неспаренных оснований. Брешь (обычно длиной порядка нескольких сотен нуклеотидов) заполняется за счет активности ДНК-полимеразы III. Таким образом, репарация неспаренных оснований в ДНК представляет собой прототип репарации протяженного участка. Организмы, у которых нет аденин-ДНК-метилирования, чаще всего используют прерывистую природу новосинтезированной цепи ДНК для осуществления Р. н. о.

Hans-Joachim Fritz

Репарация очень коротких участков. Особый тип *репарации коротких участков*. Историческое название появилось с экспериментов по генетической *рекомбинации* и относится к репарации *неспаренных оснований* T-G у *Escherichia coli*. Последние возникают в результате гидролитического деаминарования C-остатков 5-метилцитозина.

Hans-Joachim Fritz

Репарация протяженных участков. См. *ДНК репарация*.

Репликаза. Фермент, который катализирует синтез *комплементарной цепи* на *матрице*.

Репликативная вилка. Точка, в которой происходит расплетание двух цепей молекулы ДНК, катализируемое *хеликазой* и сопровождающееся разрывом *водородных связей*. Образуются две одиночные цепи, которые удерживаются от соединения *белками, связывающими одиночные цепи*, и реплицируются независимо.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Репликации ориджин. См. *ориджин*.

Репликационный пузырь. См. *ДНК-пузырек*.

Репликация по механизму катящегося кольца. Процесс у бактерий или вириодов, при котором происходит синтез многочисленных копий *кольцевой ДНК* или РНК. Этими нуклеиновыми кислотами могут быть *плазмиды* или геномы бактериофага/вириода. В противоположность линейной репликации (см. *ДНК репликация*) две цепи кольцевой ДНК при таком ходе амплификации реплицируются последовательно (см. *амплификация по механизму катящегося кольца*). Небольшие рибозимы (*шпильчатый рибозим*, *молотоголовый рибозим*) важны в осуществлении амплификации по механизму катящегося кольца, в том числе и при синтезе кольцевой *сателлитной ДНК* определенных вириодов.

Jörn Wolf

Репликация. См. *ДНК репликация*.

Репликон. Часть молекулы ДНК, которая содержит сайт инициации *репликации* и реплицируется как автономная единица. *Кольцевая ДНК* бактериальных *хромосом* представляет собой единственный Р.; хромосомы эукариот содержат множество Р. длиной 20–300 т. п. н.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Реплисома. Система всех белковых комплексов, участвующих в *репликации* ДНК. У *Escherichia coli* Р. состоит из *топоизомераз*, белков *праймсомы*, *ДНК-полимераз* и *ДНК-лигазы*.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Репортерный ген. Информативный *ген*, который не имеет сходных эндогенных аналогов, но присутствие его легко детектируемого продукта позволяет проследить за активностью другого гена или оценить эффект *транскрипционных факторов*. К широко используемым Р. г. относятся *lacZ* (см. *lacZ, ген*), кодирующий β-галактозидазу, *GFP* (ген зеленого флуоресцентного белка) и их производные.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Репортерный рибозим. *Рибозим*, который используют для детектирования определенного анализируемого вещества. Были найдены различные Р. р. для многих молекул — ионов металлов, небольших органических молекул, *нуклеотидов*, аминокислот, нуклеиновых кислот и даже белков. В общем случае Р. р. состоят из двух доменов — аллостерического и каталитического. Первый обычно образуется в результате *отбора in vitro* и связывается с искомым анализируемым веществом. Каталитический домен основан на структуре *молотоголового рибозима* или *шпильчатого рибозима* и связан с аллостерическим доменом через мостик. Р. р. активируется или деактивируется за счет действия аллостерического домена, свидетельствуя о присутствии анализируемого вещества. В сочетании с иммобилизацией (см. *иммобилизация нуклеиновых кислот*) и методом FRET (см. *FRET*) Р. р. можно использовать как действенный инструмент детектирования, например, для биологических образцов (см. *РНК-сенсор*, *аллостерический рибозим*).

Jörn Wolf

Репрессия экспрессии гена. Экспрессия гена (см. *гена экспрессия*) подавляется белком-*репрессором*, который связывается со специальной областью *промотора* (см. *оператор*) и понижает уровень *транскрипции*. Р. э. г. часто происходит в анаболических процессах, например при регуляции синтеза ферментов, участвующих в синтезе аминокислот (аргинина, триптофана или гистидина) — соответствующие гены экспрессируются только, если аминокислоты отсутствуют в среде. Пока не преодолено определенное пороговое значение, экспрессия генов подавляется.

Beatrix Süß

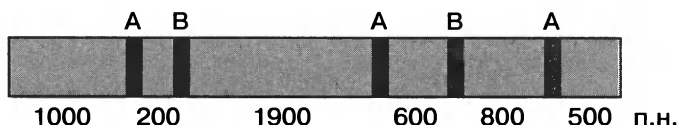
Репрессор. ДНК-связывающий белок, который снижает уровень *транскрипции*. Р. связывается с некодирующими последовательностями (см. *некодирующая ДНК*) цепи ДНК, что препятствует продвижению РНК-полимераз вдоль молекулы и тем самым подавляет экспрессию гена (см. *гена экспрессия*).

Beatrix Süß

Рестрикционная карта. Линейная последовательность *сайтов рестрикции*, разделенных участками ДНК определенной длины. Карта отражает положения, по которым *эндонуклеазы рестрикции* расщепляют молекулу ДНК. Методом *гель-электрофореза* ДНК разделяют на фрагменты определенной длины, которые находятся между *участками узнавания* эндонуклеаз рестрикции. Важная особенность Р. к. состоит в том, что ее можно получить для любой последовательности ДНК вне зависимости от того, какие в ней идентифицированы *мутации* и какие функции она выполняет.

Короткие расстояния между сайтами рестрикции измеряются в *парах нуклеотидов* (п. н.). Большие расстояния в молекуле ДНК измеряются в тысячах пар нуклеотидов (*т. п. н.*) или миллионах пар нуклеотидов — *млн п. н.* (на уровне *хромосомы*).

Картирование ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции наиболее целесообразно для сравнения небольших сегментов ДНК, обычно до нескольких тысяч пар нуклеотидов в длину. Для линейных *фрагментов* ДНК положение сайтов рестрикции можно определять путем «двойного» расщепления. В этом случае ДНК гидролизуют одновременно двумя эндонуклеазами рестрикции (А и В) или каждой отдельно. Более эффективно выделение каждого *рестрикционного фрагмента*, полученного при расщеплении ферментом А или В, и последующая обработка его вторым ферментом. Фрагменты анализируют методом *гель-электрофореза*. «Двойное» расщепление позволяет определить положение сайтов рестрикции одного фермента по отношению к сайтам рестрикции другого. Р. к. может быть получена при соотношении фрагментов расщепления ДНК ферментом А или ферментом В с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями, которые образуются при «двойном» расщеплении.

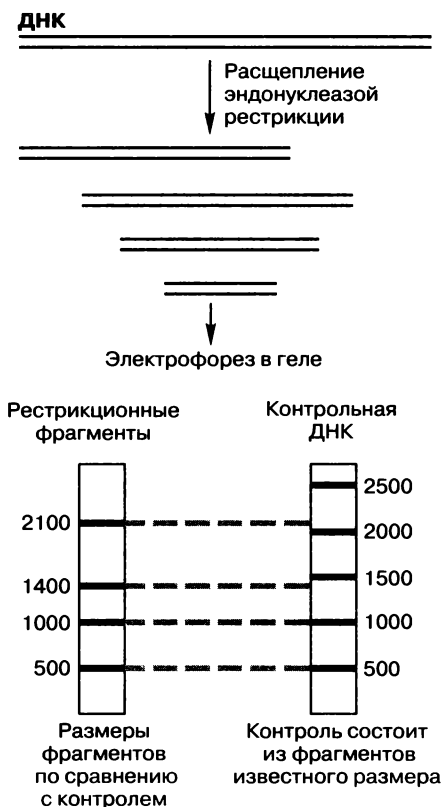


На практике создание Р. к. обычно предполагает использование нескольких эндонуклеаз рестрикции, так что возникает необходимость решения вопроса о взаимном расположении достаточно сложного набора перекрывающихся фрагментов ДНК, образующихся под действием разных ферментов. В сочетании с простым сравнением рестрикционных фрагментов часто используются некоторые дополнительные подходы, например введение радиоактивно меченной фосфатной группы в конец молекулы ДНК (см. *радиоактивное мечение*). В этом случае можно определить положение сайта рестрикции от конца исходной молекулы ДНК. Чем больше длина наблюдаемого фрагмента, тем дальше сайт рестрикции расположен от радиоактивно меченного конца исходной ДНК.

Е. А. Кубарева

Рестрикционный фрагмент. Продукт расщепления *двуцепочечной ДНК* соответствующей *эндонуклеазой рестрикции*. Каждая молекула ДНК гидролизуется специфической эндонуклеазой на отдельные *фрагменты*. Эти фрагменты могут быть разделены по размеру методом *гель-электрофореза*. Размеры каждого Р. ф. можно определить путем сравнения с положением в геле фрагментов известного размера (их используют в качестве контроля).

Средний размер Р. ф. зависит от того, с какой частотой участок узнавания *эндонуклеазы рестрикции* (см. *сайт рестрикции*) присутствует в молекуле ДНК. Это, в свою очередь, зависит от размера участка узнавания.



Некоторые Р. ф. имеют *тупые концы*, т. е. на их концах отсутствуют неспаренные нуклеотиды. Другие Р. ф. содержат на конце одной из цепей 2–4 «лишних» нуклеотида, которые не имеют комплементарных нуклеотидов в противоположной цепи. В этом случае используют термин «липкие концы», поскольку они способны образовать водородные связи друг с другом или с комплементарными концами любого фрагмента, полученного при расщеплении ДНК той же эндонуклеазой рестрикции. Р. ф. с липкими концами применяют для создания рекомбинантных ДНК.

Е. А. Кубарева

Ретро-псевдоген. Неактивный ген, лишенный интронов, который возник в результате *обратной транскрипции* молекулы *матричной РНК* и инсерции копии-дуплекса в геном.

Ретротранспозон. *Транспозон*, который перемещается при участии РНК. ДНК-элемент транскрибируется, а затем подвергается обратной транскрипции. Копия — двуцепочечная ДНК — встраивается в новое положение на хромосоме (см. ДНК-копия).

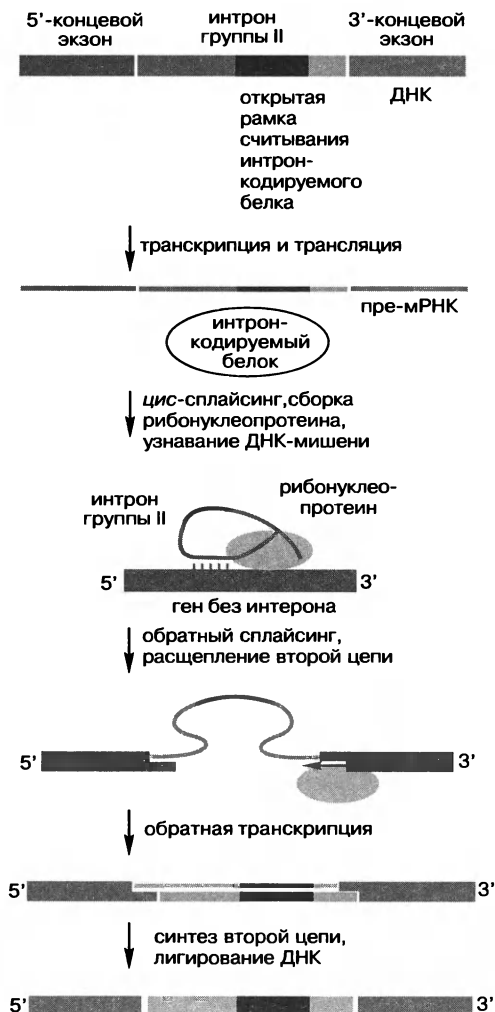
Mauro Santos

Ретрохоуминг. Процесс переноса *интронов группы II*, в котором участвует копия *интрона*, полученная путем обратной транскрипции. Процесс Р. начинается с *трансляции интронкодируемого белка*, который образует РНК-белковый комплекс (см. *рибонуклеопротеин*) с РНК-копией интрона. Этот комплекс (а) распознает *сайт инсерции* в гене, не имеющем интрона, (б) внедряет РНК в одну из цепей путем *обратного сплайсинга*, (в) разрезает вторую цепь и (г) образует *кДНК-копию РНК* при функционировании белка в качестве *обратной транскриптазы*. Затем ДНК вытесняет РНК за счет активности клеточных систем. Процесс Р. может быть полезен в использовании *интронов группы II* для *репарации*.

Stéphanie Vauléon

Рибоза. Сахарный компонент в природных *нуклеозидах*, образующих РНК. В состав природных молекул РНК входят только D-энантиомеры Р. См. *нуклеозиды*, *нуклеотиды*.

Рибозим Tetrahymena. *Рибозим*, названный в честь реснитчатого простейшего *Tetrahymena thermophila*, из которого он был впервые выделен Томасом Р. Чеком в 1980-х гг. Он был обнаружен в интроне I группы транскрипта рибосомной РНК и стал первым описанным рибозимом. Он состоит примерно из 400 нуклеотидов и катализирует собственную эксцизию посредством двух реакций трансэтерификации. На первой стадии сплайсинга 5'-сайт сплайсинга ниже «качающейся» пары оснований GU в спирали P1 [образованной при формировании пар оснований между 5'-экзоном и внутренними гидовыми последовательностями (IGS) *интрона*] расщепляется с помощью экзогенного гуанозина, вставляемого в интрон. После расщепления спираль P1 смещается, чтобы позволить образование спирали P10 между IGS и 4 нуклеотидами, следующими за 3'-сайтом сплайсинга. На второй стадии сплайсинга 3'-гидроксильная группа терминального *уридина*



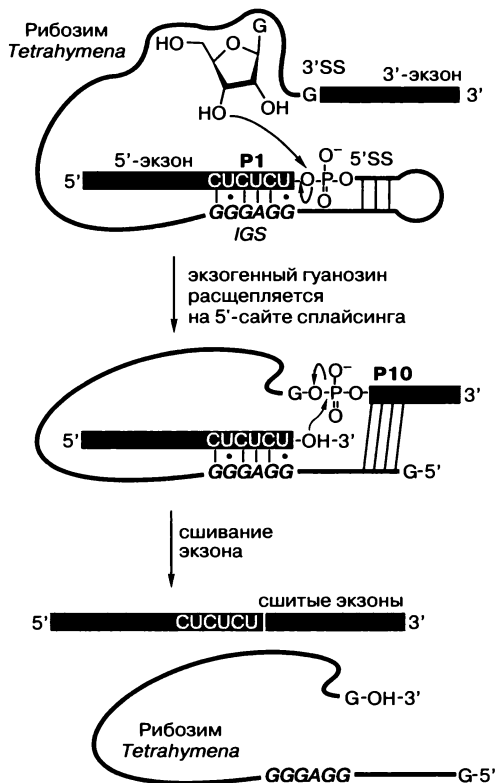
Ретрохоуминг

5'-экзона связывается с фосфатом, предшествующим 3'-экзону. Укороченная форма этого рибозима без 5'-экзона может *транс*-сплайсировать последовательность, прикрепленную к 3'-концу рибозима, к мишени, имитирующей 5'-экзон (см. *транс*-сплайсинг). Это было использовано для развития методов *репарации РНК* на основе РНК.

Stéphanie Vauléon

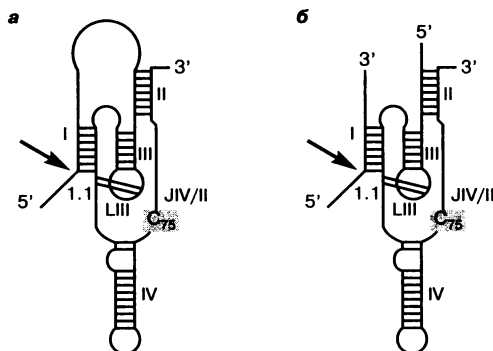
Рибозим ВГД (HDV). См. *рибозим вируса гепатита дельта*.

Рибозим вируса гепатита дельта (ВГД; HDV). Патогенный вирус-сателлит человека, которому для инфицирования клеток необходим вирус гепатита В. Он содержит *геном* в виде *одноцепочечной РНК*, который реплицируется по *механизму катящегося кольца*. Это приводит к образованию длинного



конкатемера антигеномной РНК, который нарезается на мономеры, они впоследствии снова закольцовываются и направляются на амплификацию геномной РНК по методу катящегося кольца. Конкатемерные геномные *транскрипты* тоже нарезаются на мономерные молекулы РНК. Вырезание транскрипта катализируется *рибозимом* ВГД — маленькой каталитической РНК-структурой, состоящей из ~85 нуклеотидов, которая существует в антигеномной и геномной форме с удивительно похожими *первичной* и *вторичной структурами*.

Для рибозима ВГД получена кристаллическая структура и данные спектроскопии ЯМР. Примечателен тот факт, что в *активном центре* рибозима отсутствует высокоаффинный *сайт связывания* для иона двухвалентного металла, как это было обнаружено у других рибозимов. Рибозим ВГД проявляет высокую активность даже при очень низких концентрациях Mg^{2+} ($< 0,1$ мМ). В *активном центре* есть карман, состоящий из спирали I и петлевого участка LIII, который обретает законченную форму при соединении с участком JIV/II и перекрещивании спиралей I и III. На дне этого кармана находится остаток С ($\alpha C76$ в антигеномной форме, $\gamma C75$ в геномной форме) из JIV/II, который играет ключевую роль в катализе. Это обусловлено тем, что его N3 предположительно является основанием для активации нуклеофильного 2'-гидроксила на месте вырезания. Связывающийся рядом гидратированный ион металла может выполнять роль кислоты, протонируя



Вторичная структура геномной версии рибозима ВГД. а — место разрезания показано стрелкой. Каталитический остаток γ C75 (в сером квадратице) расположен в пересечении спиралей IV и II (JIV/II). б — 5'-конец спирали I обеспечен другой молекулой РНК в *транс*-положении, которая потом эффективно разрезается в указанном месте.

5'-оксоанион уходящей группы. Вопрос о возможности существования других путей катализа, таких как дестабилизация субстрата путем связывания в состоянии покоя, остается дискуссионным.

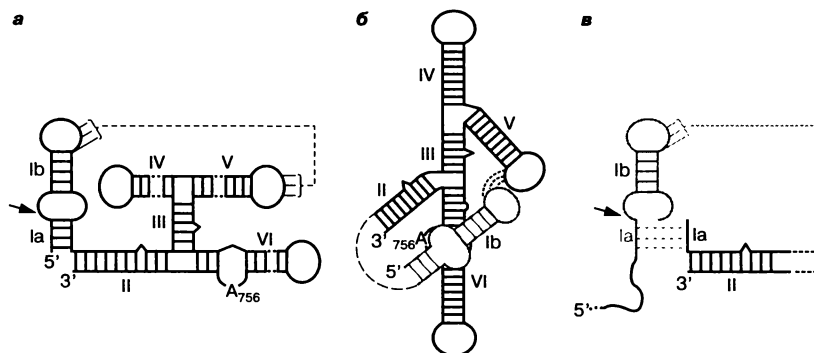
После разрезания получается *выше* лежащая молекула РНК, на конце которой находится 2',3'-циклический фосфат и *ниже* лежащая молекула РНК с 5'-гидроксильным концом. Как и рибозим сателлита Варкуд, рибозим ВГД не проявляет специфичности к последовательности, расположенной ближе к 5'-концу (в сайте разрезания есть небольшое предпочтение в 5'-положении для А, С и U перед G). Благодаря этому *цис-действующий* рибозим ВГД, как правило, сливают с 3'-концом целевой РНК, чтобы получить *in vitro транскрипты* с точно заданными 3'-концами. Перенос 5'-конца части спирали I от рибозима на 3'-конец второй молекулы РНК позволяет использовать рибозим ВГД в качестве *транс-действующего катализатора* для подобных целей. Более того, разработаны такие разновидности ВГД, которые эффективно включаются *рибопереклюкателем* или при добавлении имидазола. (см. *рибозим сателлита Варкуд*, *рибозим вируса гепатита дельта*, *молотоголовый рибозим*).

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkonn

Рибозим нейроспоры VS. См. *рибозим сателлита Варкуд*.

Рибозим сателлита Варкуд (VS). Небольшой рибозимный участок в транскриптах митохондриальных сателлитных плазмид. Он был впервые обнаружен Р. А. Коллинзом в изоляте Варкуд гриба рода *Neurospora*. Его функция — автокаталитический процессинг мультимерных предшественников транскриптов (образующихся в результате амплификации VS-плазмиды по принципу *катящегося кольца*) с целью выделить мономерные формы этой РНК. Его длина около 150 нуклеотидов, это наибольший из известных рибозимов, осуществляющий расщепление на 2',3'-циклический фосфат и 5'-гидроксильный конец.

Так как до сих пор недоступна кристаллическая структура рибозима, существующие модели опираются на результаты структурного картирова-



Рибозим VS. а — основная вторичная структура; третичное спаривание оснований между спиралями Ib и V обозначено штриховой линией. Отмечен каталитически значимый остаток A756. б — представление о вторичной структуре, основанное на современной модели третичной структуры рибозима VS, область стебель–петля I отмечена серым и расположена напротив спирали VI. в — подготовка к *транс*-расщеплению; область стебель–петля Ib может присоединиться к 3'-концу РНК-мишени (черная линия) для расщепления 3'-конца транскриптов с помощью *транс*-действующей части рибозима VS. Место расщепления обозначено на (а) и (в) стрелкой

ния и экспериментов по мутагенезу. Общая архитектура VS-рибозима представлена двумя трехсторонними спиральными соединениями (II–III–VI и III–IV–V, см. *трехстороннее соединение*), где спирали III, IV и VI образуют *торцевой стэкинг* (рис. а и б). Рибозим VS уникален тем, что распознает шпильчатый домен I своего субстрата с помощью третичных взаимодействий, включая «целующийся» комплекс (см. «*целующиеся петли*»), который состоит из трех пар оснований между *петлями* спиралей Ib и V. Образование этого межпетлевого взаимодействия вызывает глобальную перестройку в порядке спаривания оснований в домене I, создавая однонуклеотидное *выпетливание* на 3'-конце спирали Ib и металлсвязывающий мотив *вторичной структуры* около сайта расщепления. Современная модель *третичной структуры* (рис. б) соответствует данным о том, что рибозимная активность чувствительна к *мутациям* в петле V и изменениям длины спиралей III и V, но нечувствительна к изменению спиралей IV и VI.

Анализ мутаций показал, что основания в центральном выпетливание спирали VI, в первую очередь A756, особенно важны для *катализа* (нумерация оснований в рибозиме VS начинается с U617 и заканчивается на U783, так как он происходит из 881-нуклеотидного транскрипта VS). *Активный центр*, предположительно, образуется в результате наложения этого выпетливания и сайта расщепления (рис. б). *Каталитическое ядро* работает также с субстратами РНК, добавленными в *транс*-положение (см. *транс-действующий*): независимый *транскрипт*, несущий VS-спираль Ib и 5'-конец спирали Ia, гибридизуется с соответствующей частью спирали Ia 5'-укороченного варианта рибозима VS.

Этот субстрат эффективно расщепляется в каноническом месте между спиралями Ia и Ib (рис. в). В *цис*-положении (см. *цис-действующий*) месту расщепления может предшествовать один лишь 5'-нуклеотид, который уда-

ляет спираль Ia. Вероятно, в реальной ситуации, когда субстрат ковалентно связан со спиралью II, третичные взаимодействия области *стебель—петля* Ib с петлей V и спиралью VI достаточны для эффективного и точного расщепления.

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Рибозимы. Молекулы РНК, обладающие каталитической активностью (рибо- от рибонуклеиновой кислоты, -зим — от энзима). Хотя в состав Р. входит всего четыре компонента-нуклеотида (по сравнению с 20 различными аминокислотами в составе белковых ферментов), у молекул РНК наблюдается удивительное структурное разнообразие. Они образуют сложные *третичные структуры* по аналогии с высокоупорядоченными белковыми молекулами и катализируют множество химических реакций. *Фолдинг РНК* — это процесс со сложной иерархией. Изначально формирующиеся элементы *вторичной структуры* претерпевают дальнейший фолдинг с образованием трехмерных комплексов, которые содержат *карманы связывания* для лигандов или молекул субстрата, что, в свою очередь, обеспечивает возникновение *каталитических центров* для химических реакций. В природе существует целый ряд Р.: *молотоголовый рибозим*, *шпильчатый рибозим*, *рибозим вируса гепатита дельта* и *рибозим сателлита Варкуд*. Эти рибозимы небольшого размера и являются производными вирусов, вирусоидов, вироидов и *сателлитных РНК*. Наряду с этими небольшими рибозимами в природе известны и крупные РНК с каталитическими свойствами: РНК-субъединица *РНКазы Р*, *самосплайсирующаяся РНК* из *интронов группы I* и *интронов группы II*, РНК в составе *рибосомы*. Кроме того, две *малые ядерные РНК* (мЯРНК U2 и U6), которые принимают участие в образовании *сплайсосомы*, в отсутствие белков проявляют активность, сопоставимую с таковой у целой сплайсосомы. Позднее были открыты два новых класса Р., которые расщепляют *матричную РНК*: *glmS-рибозим* у грамположительных бактерий и *CoTC-рибозим*, ответственный за расщепление *пре-мРНК* β -глобина человека одновременно с транскрипцией.

Большинство известных в природе Р. *цис-действующие*: они катализируют собственное обратимое расщепление. Однако эти Р. могут быть модифицированы средствами генной инженерии для придания им *транс-активности* (см. *транс-действующий*). Как правило, Р. для осуществления активности нужны ионы металлов для участия в реакциях активного центра (см. *активного центра химия*), обеспечения нормального фолдинга или по обоим причинам сразу.

Существует четыре стратегии катализа *трансэтерификации* РНК, осуществляемой Р.: *точное ориентирование субстрата*, преимущественное связывание с переходным состоянием (см. *переходного состояния связывание*), *электростатический катализ* и *общий кислотно-основной катализ*. Из больших пулов последовательностей РНК были выделены рибозимы (см. *искусственные рибозимы*), которые способны катализировать такие химические реакции, как аминокислотирование, *полимеризация* РНК, образование и расщепление *N-гликозидной* связи, образование и расщепление связи в *пирофосфате*, *N-алкилирование*, *S-алкилирование*, внедрение

иона металла в порфирина, изомеризация дифенила, реакции Дильса—Альдера (см. *Дильса—Альдера рибозим*) или реакции Михаэля. Р. отражают взаимосвязь между структурой и функцией: образование каталитически активной структуры приводит к осуществлению активности. Большинство Р. ведут себя как истинные *катализаторы*, характеризуются кинетикой *множественных оборотов*, которая описывается моделью Михаэлиса—Ментен (см. *Михаэлиса—Ментен модель*). Структурное и функциональное разнообразие РНК вновь поднимает вопрос о существовании первичных форм жизни на основе РНК, которые предшествовали современным организмам на основе ДНК и белков. В этом *РНК-мире генетическая информация* могла храниться в виде последовательностей РНК, а *фенотип* организмов быть следствием каталитических свойств РНК.

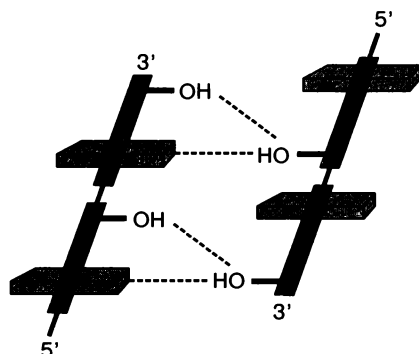
Таблица*

Рибозим	Размер в нуклеотидах	Активность
Молотоголовый	40	Обратимое саморасщепление путем трансэтерификации, приводящее к образованию 2',3'-циклических фосфатов
Шпилечный	70	
Вируса гепатита дельта	90	
Сателлита Варкуд	160	
Интронов группы I	≥210	Самосплайсинг путем трансэтерификации
Интронов группы II	≥500	
РНКазы Р	300	Расщепление пре-тРНК (процессинг пре-тРНК)
23S РНК рибосомы	2600	Образование пептидной связи
Сплайсосома (U2 + U6 мРНК)	180 + 100	РНК-сплайсинг путем трансэтерификации
<i>glmS</i> -рибозим	246	Расщепление гена <i>glmS</i> у грамположительных бактерий
СоТС-рибозим	200	Расщепление мРНК гена β-глобина человека

* По изданию: The Aptamer Handbook, Wiley-VCH, Weinheim, 2005, с изм. *Sabine Müller*

Рибозная молния. Мотив *третичной структуры* РНК, который включает образование последовательных *водородных связей* между *азотистыми основаниями* и 2'-гидроксильными группами остатков *рибозы* из двух областей цепи РНК. Две взаимодействующие цепи ориентированы антипараллельно.

Valeska Dombos, Sabine Müller



Рибонуклеаза Н (РНКаза Н). *РНКаза*, которая расщепляет цепь ДНК в *ДНК–РНК-гибриде*. Может быть обнаружена в любой живой клетке и даже у ретровирусов, так как она катализирует реакции, входящие в состав жизненно важных процессов, например *репликации*.

Uli Hahn

Рибонуклеаза Р (РНКаза Р). *Рибонуклеопротеин* (металлофермент), который катализирует эндонуклеолитическую стадию 5'-созревания *первичного транскрипта транспортной РНК* (тРНК, рис. 1) у всех трех царств живых организмов (археи, бактерии и эукариоты), а также в митохондриях и пластидах.

В ряду бактерии — археи — эукариоты для состава этого фермента отношение белок/РНК увеличивается: бактериальная РНКаза Р содержит единственную небольшую белковую субъединицу (около 13 кДа), которая составляет примерно 10% молекулярной массы всего холофермента. У архей обычно число белков четыре, у эукариот более 50% молекулярной массы фермента приходится на белки (например, 9 полипептидов у дрожжей и 10 у человека). Белковая субъединица бактериальной РНКазы Р не имеет гомологии ни с одним из белков этого фермента у архей или эукариот (возможно, за исключением Рор5), в то время как у белков архей есть гомологи в составе эукариотической РНКазы Р. В условиях *in vivo* бактериальная белковая субъединица нужна для связывания 5'-сегмента предшественника, стабили-

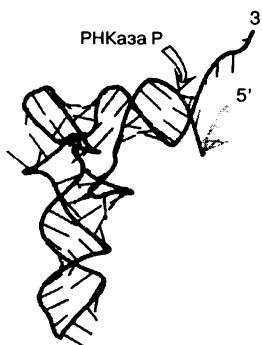


Рис. 1. L-образный 5'-предшественник тРНК; сегмент предшественника на 5'-конце выделен серым. Сайт расщепления РНКазы Р показан стрелкой.

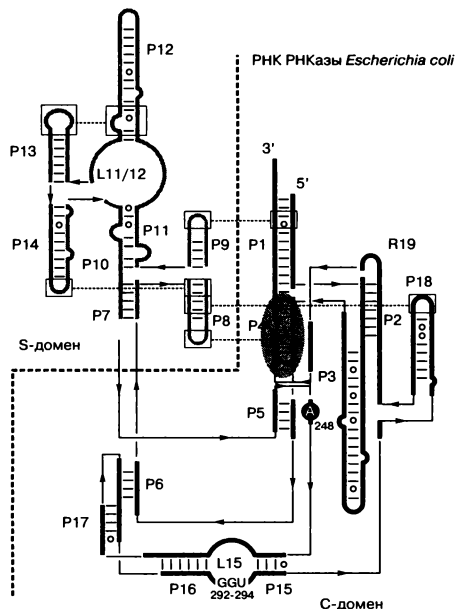


Рис. 2. Вторичная структура РНК РНКазы Р *E. coli*. Консервативная спираль Р4 выделена серым овалом, отмечены остатки 248 и 292–294, показанные также на рис. 3, а.

зации локальной структуры РНК (см. *РНК структура*) и повышения сродства важных для катализа ионов металлов к сайтам связывания.

РНК всех известных РНКаз Р содержат общий элемент структуры — ядро вокруг спирали Р4 (рис. 2), которое также обнаруживается в РНК эукариотической РНКазы MRP, что указывает на их происхождение от единой предковой РНК. *In vitro* РНК-субъединицы бактериальной РНКазы Р проявляют высокую каталитическую активность даже в отсутствие белкового кофактора. Остаточная рибозимная активность показана для не связанной с белками РНК из РНКазы Р архей, а недавно — эукариот. Таким образом, РНК-компонент этого фермента — единственный известный природный *транс-действующий рибозим*, не считая *рибосомы*. У РНК бактериальной РНКазы Р (300–400 нуклеотидов) есть два независимых домена (рис. 2): каталитический С-домен (содержит все необходимые для катализа структурные элементы) и S-домен (взаимодействует с *Т-плечом* молекулы *транспортной РНК*). Недавние кристаллографические исследования показали, что часть этой РНК, содержащая *активный центр*, имеет достаточно плоскую форму. Образование активного центра обусловлено набором дальних взаимодействий между консервативными внутриспиральными последовательностями. Несколько *функциональных групп* РНК РНКазы Р (остатки от G292 до U294 и A248, нумерация для РНК РНКазы Р *Escherichia coli*, рис. 2) взаимодействуют с субстратом в непосредственной близости от сайта расщепления (рис. 2, а). *Активная конформация* РНК бактериальной РНКазы Р зависит от образования комплекса с белковой субъединицей и субстратом, причем оба влияют на координационное связывание иона Mg^{2+} , необходимого для катализа.

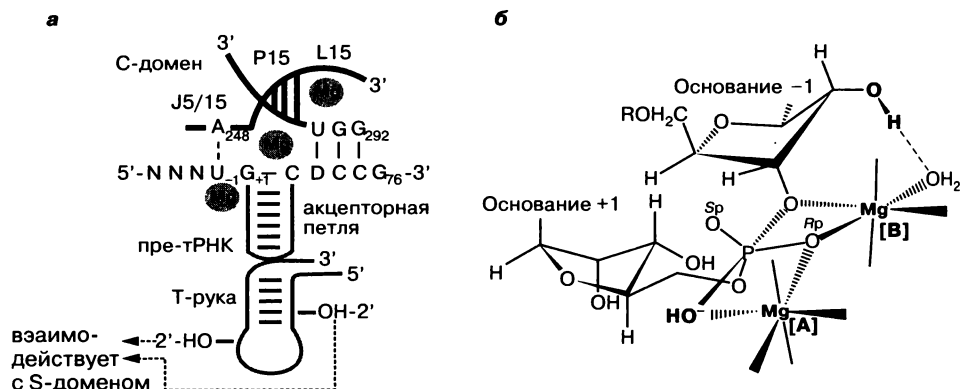


Рис. 3. а — структурные особенности комплекса РНК РНКазы Р с субстратом. D = G, A или U. Точное положение и число ионов Mg^{2+} (показаны в виде серых кругов) неизвестно. б — предполагаемый механизм расщепления с участием РНКазы Р, включающий два Mg^{2+} . Рибоза в нуклеotide +1 изображена в конформации C3'-эндо, а рибоза в положении -1 — в C2'-эндо, согласно данным ЯМР

Расщепление предшественников тРНК РНКазой Р необратимо и приводит к образованию 3'-гидроксильного и 5'-фосфатного концов. Роль нуклеофила в механизме S_N2 -замещения, предположительно, играет гидроксил из раствора или активированная молекула воды. Была предложена модель переходного состояния для этой реакции с участием двух ионов металла (рис. 3, б). Согласно этой модели, ионы Mg^{2+} в сайтах [A] и [B] координируют прохиральный *Rp*-кислорода. $Mg[A]$ взаимодействует с нуклеофилом OH^- , координируя его во *внутренней сфере*, а $Mg[B]$ взаимодействует с 2'-гидроксильной группой в положении -1 через одну из молекул воды своей внутренней сферы. Из-за сильного ингибирующего эффекта, оказываемого заместителем, в активном сайте (см. *активного центра химия*) могут активироваться дополнительные взаимодействия с ионом металла и прохиральным *Sp*-кислородом и 3'-мостиковым кислородом.

Ronald K. Hartmann, Mario Mörl, Dagmar K. Millkomm

Рибонуклеаза А (РНКза А). РНКза из поджелудочной железы быка принадлежит к наиболее изученным ферментам (первый фермент с известной первичной структурой, первый кристаллизованный фермент, третий белок, охарактеризованный рентгеноструктурным анализом). РНКза А — *эндо-нуклеаза*, которая расщепляет *одноцепочечную РНК* специфически после *пиримидиновых оснований* (С и U) в две стадии с образованием *мононуклеотидов* или *олигонуклеотидов* с 3'-фосфатной группой. Реакция расщепления, катализируемая РНКазой А (равно как и РНКазой Т1), может быть представлена как две независимые и необязательно последовательные стадии. (1) Расщепление цепи в ходе *трансэтерификации*, что приводит к образованию моно- или олигонуклеотида с 2',3'-циклическим фосфатом, который отделяется от фермента. (2) Гидролиз затем *циклического фосфата* с образованием конечного продукта с 3'-фосфатной группой. Продуктом пер-

вой стадии оказывается 2',3'-циклический С или U. РНКазы А могут быть использованы для синтеза РНК, если при определенных условиях заставить ее катализировать реакцию, обратную первой — присоединение 3'-нуклеотидфосфата к 2',3'-циклическому концевому С или U. Ниренберг и Матей начали изучение генетического кода с ферментативного синтеза последовательности поли(U). Они синтезировали первую искусственную мини-мРНК. Триплеты, входящие в ее состав, присоединяли к рибосоме и распознавали только один вид тРНК. Что позволило определить, например, что поли(U) присоединяет к себе тРНК фенилаланина. РНКазы А можно также применять для ферментативного секвенирования (см. *РНК секвенирование*) или зондирования структуры РНК (см. *химическое и ферментативное картирование структуры РНК*).

Uli Hahn

Рибонуклеаза. См. *РНКазы*.

Рибонуклеиновая кислота. См. *РНК*.

Рибонуклеозид. См. *нуклеозид*.

Рибонуклеозиддифосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

Рибонуклеозидмонофосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

Рибонуклеозидтрифосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

Рибонуклеозидфосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

Рибонуклеопротеин (РНП). Высокоорганизованный комплекс, образованный одним или несколькими видами РНК и одним или несколькими белками. Несколько основных клеточных «машин» (комплексов) представляют собой Р.: *рибосома*, *сплайсосома*, комплекс *теломеразы*, *гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин* и комплекс *RISC*.

Georg Sczakiel

Рибонуклеотид. См. *нуклеотид*.

Рибонуклеотидредуктаза (RNR). Катализирует восстановление 2'-атомов углерода в *рибонуклеотидах* с образованием 2'-*дезоксирибонуклеотидов*. Ферментативная реакция приводит к образованию свободных радикалов — случай уникальный в химии ферментов. Выделяют три класса Р., различающихся по *первичной структуре* и механизму образования радикалов.

Valeska Dombos

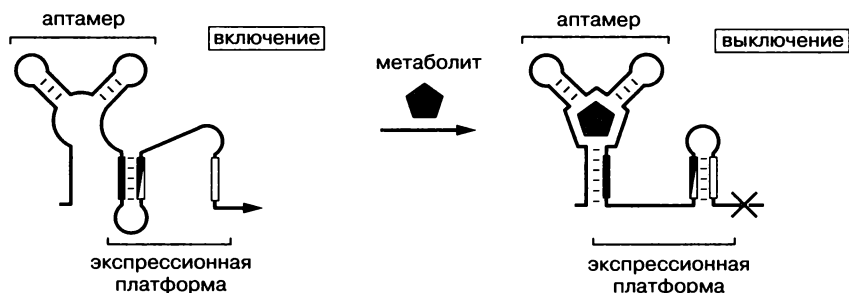
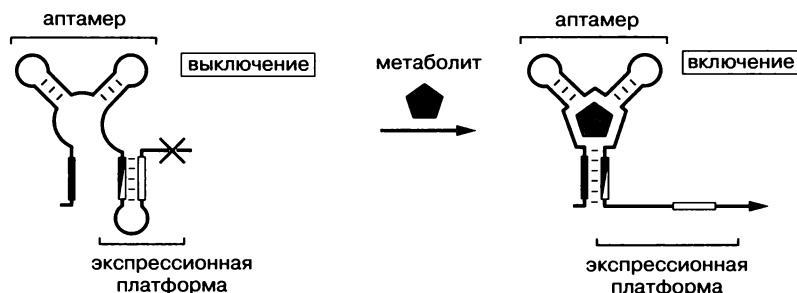
Рибо-организм. Гипотетический организм (с особыми и отличными от известных организмов свойствами), который использует нуклеиновые кислоты и для передачи наследственной информации, и для ферментативного *катализа*. Пептиды и белки могут дополнять его функции, но не в результате *трансляции* с использованием *генетического кода*. Р. могли бы существовать до возникновения генетического кода (в *РНК-мире*) и могут быть сконструированы искусственно в будущем с предполагаемым размером генома около 70–100 генов.

Eörs Szathmáry

Рибопереключатели. Элементы контроля активности *генов*, обнаруженные в некодирующих областях некоторых *матричных РНК* (поэтому они и называются *рибопереключателями*). Эти структурированные домены РНК претерпевают конформационные изменения («переключение») в результате прямого связывания с небольшими молекулами метаболитов, что приводит к изменению уровня экспрессии гена (см. *гена экспрессия*) в зависимости от концентрации и доступности метаболита. Обычно Р. находятся в *5'-нетранслируемых областях* мРНК и состоят из очень консервативного *аптамера*, который избирательно связывается с целевым *лигандом*, и менее консервативной *экспрессионной платформы*, которая опосредует изменения в уровне экспрессии гена. Контроль активности гена может происходить на уровне транскрипции (например, если часть экспрессионной платформы — внутренний терминатор) или трансляции (если доступ к сайту связывания рибосомы прекращен из-за лиганд-индуцированной структурной перестройки). В зависимости от структурных элементов Р. могут повышать или понижать уровень экспрессии гена, осуществляя ON- или OFF-переключение соответственно.

Описаны 10 классов Р., которые специфически связывают коферменты (см. *кофермента B_{12} рибопереключател*, *тиаминпирофосфатный рибопереключател* (*ТРР*), *ФМН-рибопереключател*, *SAM-рибопереключател*), аминокислоты (см. *лизиновый рибопереключател*, *глициновый рибопереключател*) и азотистые основания (см. *гуаниновый рибопереключател*, *адениновый рибопереключател*). Особый случай — рибопереключател глюкозамин-6-фосфата (см. *GlcN6P-рибопереключател*), который функционирует как метаболит-зависимый *рибозим*. Эти структуры РНК широко распространены у прокариот, у которых они регулируют активность *генов*, имеющих отношение к биосинтезу целевого метаболита. Анализ методами биоинформатики показывает, что более 2% генов *Bacillus subtilis* контролируются Р. Большинство Р. относятся к OFF-переключателям, и это доказывает существование отрицательной обратной связи в регуляции синтеза метаболитов. Тем не менее известны и примеры ON-переключателей, например адениновый и гуаниновый Р.

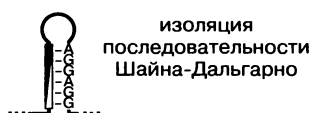
Аптамерные домены Р. весьма различны по размеру и аффинности, что отражает разнообразие требований, предъявляемых клеткой к специфичности этих элементов и спектру регулируемых ими обменных процессов. Однако *константы диссоциации* обычно измеряют в состоянии равновесия с целыми аптамерами, в то время как генетический контроль, как правило, происходит во время транскрипции Р. Следовательно, концентрация лиганда, необходимая для изменения экспрессии соответствующего гена, находится в зависимости от таких факторов, как скорость *транскрипции* или *фолдинга*, и в реальности отличается от полученных в эксперименте констант диссоциации (например, *ФМН-рибопереключател*). Существует множество различных механизмов действия Р. Хотя большинство Р. обнаружены у прокариот, аптамер ТРР найден также у грибов и растений, где он предположительно участвует в регуляции *сплайсинга* или стабильности мРНК. Р. могут быть также частью более сложных конструкций. Например, глициновый Р. представлен двумя одинаковыми аптамерами, которые коо-

OFF-переключение**ON-переключение****Генетическая регуляция**

Терминация транскрипции
путем образования
терминатора



Предотвращение
инициации трансляции



Основные механизмы работы рибопереклюателей

перативно связывают две молекулы глицина. Благодаря этому достигается более тонкая зависимость активности гена от концентрации глицина. Были найдены даже пары tandemно расположенных Р., которые, предположительно, вносят дополнительный уровень сложности в РНК-зависимую регуляцию активности генов. Эти примеры подтверждают идею о том, что Р. способны выполнять те же функции, что и регуляторные системы на основе белков. Существование Р. также дополняет теорию *РНК-мира*, открывая регуляторную роль РНК наряду с уже известными функциями как носителя информации (мРНК) и каталитической активности (рибозимы).

Детальная информация о последовательностях Р. доступна в базе данных *Rfam*.

Таблица*

Рибопереключитель		Контролируемый ген/оперон	Размер аптамера, нуклеотиды	K_D (нМ)
B_{12}	<i>E. coli</i>	<i>btuB</i>	202	300
ТРР	<i>E. coli</i>	<i>thiM</i>	91	30
Глициновый	<i>V. cholera</i>	<i>gcvT</i>	226	30 000
ФМН	<i>B. subtilis</i>	<i>r ibD</i>	165	5
SAM I	<i>B. subtilis</i>	<i>yitJ</i>	124	4
SAM II	<i>A. tumefaciens</i>	<i>metA</i>	68	1000
Гуаниновый	<i>B. subtilis</i>	<i>Xpt</i>	93	5
Адениновый	<i>B. subtilis</i>	<i>ydhL</i>	80	300
Лизинный	<i>B. subtilis</i>	<i>lysC</i>	179	1000
GlcN6P	<i>B. subtilis</i>	<i>glmS</i>	246	200 000

* По изданию: The Aptamer Handbook, Wiley-VCH, Weinheim, 2005, с изм.

Rüdiger Welz

Рибосома. Универсальная многокомпонентная наномашина, которая транслирует *генетический код* в белки. Этот *рибонуклеопротеин* состоит из двух субъединиц неравного размера, которые соединяются при инициации синтеза белка с образованием функциональной структуры и диссоциируют после терминации этого процесса. У прокариот молекулярные массы субъединиц рибосомы 0,85 и 1,45 МДа. Малая субъединица (30S) содержит цепь *рибосомной РНК* (16S) длиной примерно 1500 нуклеотидов и 20–21 рибосомных белков (г-белков). В состав большой субъединицы (50S) входят две цепи рРНК (23S и 5S) общей длиной около 3000 нуклеотидов и 31–35 г-белков. Процесс биосинтеза белка осуществляется кооперативно обеими субъединицами рибосомы. Малая субъединица обеспечивает *расшифровку и контролирует точность трансляции*. Большая субъединица содержит *каталитический центр (также называемый пептидилтрансферазным центром, ПТЦ) и канал для выхода белка*.

Белки — это *полимерные молекулы*, построенные из аминокислот, их трехмерная структура, определяемая аминокислотной последовательностью, обеспечивает стереохимию, необходимую для осуществления функции. Каждая из 20 природных аминокислот кодируется тремя нуклеотидами (см. *кодон*). Посредством *Р. матричная РНК* (мРНК) реализует информацию, записанную с помощью *генетического кода*, в виде аминокислот. Строительные блоки белковых молекул доставляются к Р. в виде *аминоацил-тРНК*. У Р. есть три сайта связывания тРНК: *А-сайт* (аминоацильный), *Р-сайт* (пептидильный) и *Е-сайт* (сайт выхода), причем каждый сайт содержит обе субъединицы. *Транспортные РНК* (тРНК) представляют собой L-образные молекулы, несущие *антикодонную петлю*. Последняя образует *пары оснований с когнатным кодоном* в молекуле мРНК. 3'-Конец тРНК

(практически всегда *ССА-«хвост»*) несет соответствующую аминокислоту. Взаимодействие *кодона* и антикодона (*расшифровка*) происходит на малой субъединице, в то время как *акцепторный стебель* тРНК вместе с 3'-концом аминоацил- или пептидил-тРНК взаимодействует с большой субъединицей. Таким образом, тРНК — это компонент, связывающий две субъединицы в дополнение к межсубъединичным мостикам (состоят из гибких частей обеих субъединиц).

При *инициации* биосинтеза белка факторы инициации (см. *инициации фактор*) и мРНК связываются с малой субъединицей таким образом, что триплет *нуклеотидов*, кодирующий *инициаторную тРНК* (формилметионин у бактерий, метионин у эукариот), оказывается в Р-сайте. У бактерий богатый пуринами участок (см. *Шайна—Дальгарно последовательность*) образует пары с комплементарной областью 16S рРНК. Это связывание, предположительно, сопровождается изменением действующего подобно щеколде механизма открывания и закрывания на другой стороне малой субъединицы, который функционирует через два ее главных участка. Инициаторная тРНК связывается с Р-сайтом в декодирующем центре, и затем две субъединицы соединяются. Сопутствующие изменения в их конформации приводят к образованию межсубъединичных мостиков. В собранной функциональной Р. взаимодействующие поверхности обеих субъединиц богаты РНК. Более того, декодирующий центр и ПТЦ функционируют в практически лишенном белков окружении; это показывает, что Р. представляет собой *рибозим*, который пользуется поддержкой г-прокинов. Выбор верной тРНК основан на непосредственном образовании пар между *антикодовой петлей* тРНК и антикодомом соответствующей мРНК. Этот подбор характеризуется высокой точностью (частота ошибок 10^{-3} — 10^{-4}), и Р. играет основную роль в обеспечении точного спаривания в первых двух положениях каждого кодона, но допускает возникновение *неканонических пар оснований* в третьем положении.

Цикл *элонгации* включает расшифровку, образование пептидной связи, отделение тРНК в Р-сайте от растущей полипептидной цепи и высвобождение деацилированной молекулы тРНК. Все эти события происходят одновременно с продвижением по мРНК и перемещением тРНК из А- в Р-, а затем и в Е-сайт. Энергия для движения обеспечивается за счет ГТФазной активности Р.

Образование пептидной связи происходит в ПТЦ путем нуклеофильной атаки первичного амина аминоацилированной тРНК в А-сайте на атом углерода карбонильной группы пептидил-тРНК в Р-сайте. ПТЦ имеет вид дугообразной полости, размер и конфигурация которой подходят для размещения 3'-концов аминоацил-тРНК из А-сайта и пептидил-тРНК из Р-сайта. ПТЦ симметричен и расположен в пределах универсальной области рРНК (около 180 нуклеотидов), которая соединяет все функциональные центры Р., участвующие в *полимеризации* аминокислот. Изучение связи между сложной структурой ПТЦ и положением тРНК в А-сайте показало, что переход 3'-конца тРНК из А- в Р-сайт связан с вращательным движением. Это движение обуславливает стереохимическое соответствие, которое оптимально для образования пептидной связи, полимеризации аминокислот и более

совершенного субстрат-опосредованного катализа. Таким образом, Р. обеспечивает условия для точной и эффективной элонгации белковой цепи, а также для образования пептидных связей.

Структурная симметрия двух частей ПТЦ позволяет предположить, что он возник в эволюции в результате слияния двух *генов*. Высокая консервативность трехмерной структуры двух половин полости Р. вне зависимости от последовательности указывает на чрезвычайную важность точного стереохимического размещения в ней субстрата для образования пептидной связи.

В процессе биосинтеза белка происходит связывание мРНК с тРНК, осуществляемое Р. по одному кодону за акт (см. *транслокация*). На этой стадии, которую можно описать простой или более сложной моделью («гибридных состояний»), при образовании пептидной связи тРНК из А-сайта перемещается в Р-сайт, неся на себе растущую цепь белка. Деацилированная тРНК из Р-сайта переходит в Е-сайт, а затем покидает Р. Вращение 3'-концов тРНК происходит согласованно со смещением тРНК относительно мРНК. Как и на всех остальных стадиях биосинтеза белка, этот процесс (*транслокация*) происходит при участии нерибосомных факторов; среди них, к примеру, EF-Tu, который доставляет аминоацилированную тРНК в А-сайт и EF-G, способствующий транслокации. В конце каждого акта готовая к следующему раунду элонгации Р. несет деацилированную тРНК в Е-сайте и пептидил-тРНК в Р-сайте; А-сайт свободен. К этому моменту рибосома приобретает способность к связыванию нового комплекса аминоксил-тРНК.

Терминация происходит, когда на мРНК встречается *стоп-кодон*. У бактерий в терминации участвуют три рилизинг-фактора — RF1, RF2 и RF3. Первые два из них избирательны по кодонам, в то время как третий связывается с комплексом фактора RF1 (или RF2) и рибосомы и обладает ГТФазной активностью. У эукариот все три стоп-кодона распознаются единственным фактором — eRF1. Для последующей диссоциации самих рилизинг-факторов требуется гидролиз ГТФ. После высвобождения белковой цепочки Р. остается связанной с мРНК и деацилированной тРНК в Р-сайте. Этот комплекс распадается под действием так называемого *фактора рециркуляции рибосомы* (RRF) в комплексе с EF-G. Последний стимулирует гидролиз ГТФ, что в свою очередь ведет к разделению Р. на две субъединицы.

Образовавшиеся белки выходят из Р. через канал выхода. Последний представляет собой универсальную структуру в составе большой субъединицы. Вход в этот канал расположен рядом с ПТЦ, а его выходной про-свет открывается на другом конце субъединицы. Он образован в основном рРНК; лишь некоторые г-белки достигают канала. Он играет важную роль в зависимом от последовательности прохождении образующегося белка, реагирует на клеточные сигналы. Он также может обеспечивать фолдинг небольших элементов *вторичной структуры* одновременно с трансляцией. У эубактерий неверному сворачиванию и сборке белка препятствует взаимодействие образующихся белков с шаперонами, ассоциированными с Р. Это взаимодействие вызывает значительные конформационные изменения, в результате которых обнажается обширная гидрофобная область. Эта область может конкурировать с природной агрегацией образующихся белков.

Рибосомная РНК (рРНК). Группа прокариотических рРНК включает 5S рРНК, 15S рРНК и 23S рРНК. В рибосомах эукариот также существует три типа рРНК: 5,8S, 18S и 28S рРНК (см. *РНК процессинг, рибосома*).

Sabine Müller

Рибосомные белки. См. *рибосома*.

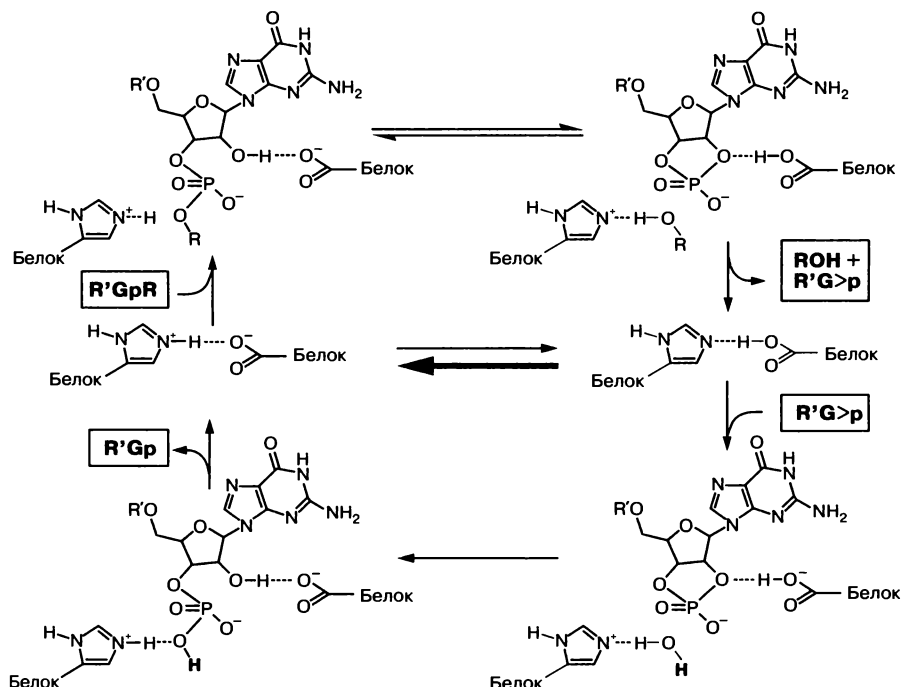
Риботимидиловая петля. Одна из ветвей в структуре «клеверного листа» (см. «*клеверный лист*», *структура*) *транспортной РНК*. Этот элемент содержит несколько консервативных нуклеотидов: *риботимидин* (Т), *псевдоуридин* (Ψ) и *цитидин* (С) в положениях 54, 55 и 56. Образование консервативных *пар оснований* ТΨС вместе с D (*дигидроуридиловой петли*, нуклеотиды G19 и G20) приводит к сворачиванию «клеверного листа» в характерную L-образную трехмерную структуру.

Stefan Vörtler

РНАзин. Ингибитор *рибонуклеаз*, снижающий активность ферментов типа *РНКазы А* и первоначально выделенный из плаценты человека. Белок с кислотными свойствами и молекулярной массой 51 кДа, образует ферментативно неактивный комплекс путем связывания с РНКазы. Связывание происходит нековалентно, предположительно через повторы, богатые лейцином.

Denise Strohbach

РНК (рибонуклеиновая кислота). *Биополимер*, состоящий из *рибонуклеотидов* (см. *нуклеиновая кислота*), встречается в вирусах и всех живых организмах. В отличие от ДНК, РНК не образует непрерывной двойной цепи, а существует в виде различных внутримолекулярных *вторичных* и *третич-*



ных структур (см. *РНК структура*). На основании различий в структуре и функции РНК традиционно классифицируют на *матричные* (информационные) *РНК*, *транспортные РНК* и *рибосомные РНК*. В последние два десятилетия открыты несколько новых РНК с неизвестными ранее функциями (см. *некодирующая РНК*, *малая ядерная РНК*, *малая ядрышковая РНК*, *малая интерферирующая РНК*, *рибозимы*, *рибопереключатели*).

РНК участвует в реализации и регуляции экспрессии генов, а также играет главную роль как компонент *рибонуклеопротеинов* в *РНК-процессинге* и модификации РНК. У ряда вирусов РНК служит носителем *генетической информации*. В эукариотических клетках РНК находится в ядре, в цитоплазме и в некоторых цитоплазматических органеллах (*рибосомах*, митохондриях, пластидах). *In vivo* РНК возникает путем *транскрипции* из ДНК и затем подвергается дальнейшему преобразованию (см. *РНК процессинг*). Открытие РНК, способных катализировать разнообразные химические реакции, а также РНК, участвующих в регуляции метаболизма клетки, привело к буму исследований РНК и возрождению теории *РНК-мира*.

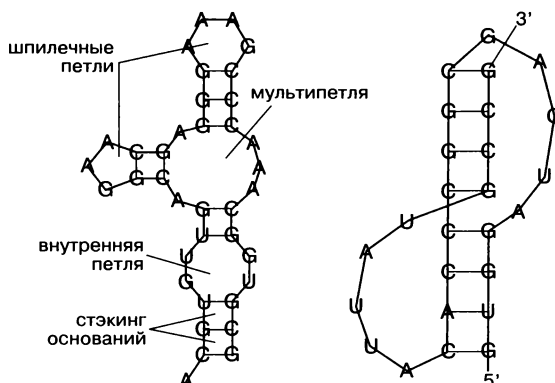
Sabine Müller

РНК биосинтез. См. *транскрипция*.

РНК вторичная структура. В противоположность *третичной структуре*, которая описывает трехмерное строение молекулы, *вторичная структура* относится только к спариванию оснований (см. *пара оснований*). Таким образом, вторичная структура состоит из двух групп остатков: включенных в двуцепочечные районы и не являющихся компонентами спиралей. В молекулах РНК двуцепочечные области почти нацело состоят из уотсон-криковских пар С-Г и А-У, а также включают непрочные «качающиеся» пары GU. Все прочие комбинации (так называемые *неканонические пары оснований*) обычно не учитываются при предсказании вторичной структуры, хотя они также существуют, особенно в третичной структуре.

Вторичная структура описывается перечислением канонических *пар оснований*. В строгом смысле, вторичная структура должна отвечать трем условиям. (1) Основание не может входить более чем в одну пару. (2) Основания одной цепи, образующие пару, должны быть разделены не менее чем тремя неспаренными основаниями. (3) Пары оснований (i, j) и (k, l) не «пересекаются» в том смысле, что $i < k < j < l$. Последнее условие позволяет исключить *псевдоузлы*. Термин «вторичная структура» иногда трактуют шире, что позволяет включить в это понятие псевдоузлы.

Вторичная структура представлена набором *петель*. Фактически они представляют собой элементы плоского изображения структуры. Петля характеризуется длиной (числом неспаренных *нуклеотидов*) и степенью спирализации (число спиралей, исходящих из петли). Петли со степенью 1 называют *шпильчатыми петлями*, у *внутренних петель* степень 2. Если степень петли более 2, такая петля называется мультипетлей. *Выпетливания* представляют собой особый случай внутренних петель, в которых неспаренные основания есть только по одной стороне, а по второй основания взаимодействуют по типу стэкинга и образуют внутреннюю петлю с нулевой длиной.



Типы петель во вторичных структурах РНК — без псевдоузлов (слева) и с псевдоузлом Н-типа (справа)

Термодинамическая стабильность вторичной структуры РНК описывается моделью *взаимодействия с ближайшим соседом*. В этом случае суммарная свободная энергия структуры равна сумме энергетических вкладов петель, составляющих эту структуру. Эти вклады зависят от размера, степени и нуклеотидного состава петель. Наиболее значительный энергетический вклад вносят стэкинг (см. *оснований стэкинг*), водородные связи и энтропийный фактор петель. Моделирование вторичной структуры проводят на основании разницы свободной энергии уложенного и неукладенного состояний в водном растворе со сравнительно высокой концентрацией солей. Поэтому необходимо ориентироваться на эмпирические данные — *кривые плавления* и энергетические характеристики многочисленных небольших молекул РНК.

До настоящего времени отсутствует адекватная модель для описания термодинамики псевдоузлов, поскольку их пространственные эффекты с трудом укладываются в модель вторичной структуры в узком смысле.

Peter F. Stadler, Ivo Hofacker

РНК, вторичной структуры предсказание. Предсказание *вторичной структуры* молекулы РНК на основании последовательности составляет главную задачу, которую решает биоинформатика РНК. Наиболее распространенный подход предполагает фолдинг с минимизацией энергией, т. е. расчет вторичной структуры с минимальной свободной энергией (МСЭ) — так называемой МСЭ-структуры. Для РНК (см. *РНК вторичная структура*), не содержащей псевдоузлов, эта задача легко решается с применением алгоритмов динамического программирования, время прогона которых оценивают, как длина последовательности в кубе. Алгоритмы основаны на том наблюдении, что любая пара оснований делит структуру на две части с аддитивной энергией. Это позволяет рассчитать оптимальную структуру целой РНК рекурсивно от структур ее субкомпонентов. Сходный по существу тип алгоритмов используется для линейных и кольцевых молекул РНК, а также при рассмотрении двух и более взаимодействующих молекул РНК.

Из-за малой точности параметров и в силу накладываемых методом ограничений получаемые модели содержат ошибки и значительно варьируют от последовательности к последовательности. Серьезным ограничением моделей МСЭ-фолдинга является то, что они предлагают на выходе единственную структуру и поэтому не дают возможности оценить степень достоверности предсказаний. Эту проблему удастся решить, если рассмотреть несколько вариантов основного алгоритма укладки за счет генерации нескольких субоптимальных структур. В качестве альтернативы можно рассчитать вероятность каждой возможной *пары оснований*, чтобы подобрать несколько термодинамически вероятных структур.

В другом подходе применяются алгоритмы, основанные на формализации данных путем стохастической бесконтекстной «грамматики» (SCFG). Несмотря на различия в терминологии, подходы во многом сходны. Наиболее существенным отличием от термодинамического фолдинга, в котором все данные взяты из эксперимента, в SCFG все параметры определяются из уже рассчитанных данных, т. е. последовательностей с известной структурой. Хотя первый подход традиционно был предпочтительнее для предсказания структуры одиночной последовательности, в недавних работах было показано, что методы в рамках альтернативного подхода также могут давать результаты с тем же уровнем точности.

В некоторых случаях нативная структура РНК может отличаться от термодинамически наиболее выгодной. Такое особенно часто отмечают для длинных молекул РНК, которые не достигают термодинамического равновесия за биологические временные масштабы. В этих случаях необходимо обращаться к методам кинетического фолдинга, которые пытаются имитировать сам процесс фолдинга. В типичном случае эти методы интерпретируют фолдинг как стохастический процесс, используя инсерции и делеции одиночных пар оснований или целых спиралей как основные преобразования. По сравнению с динамическим программированием прочие алгоритмы достаточно медленны. В то же время в них можно осуществить оценку энергетических вкладов *псевдоузлов* и иных сложных факторов.

Таблица. Программное обеспечение для моделирования фолдинга РНК

Название	Тип загрузки	Веб-сервис	URL
mfold / unafold	исходный код	есть	http://www.bioinfo.rpi.edu/applications/mfold/
Vienna RNA	исходный код	есть	http://www.tbi.univie.ac.at/RNA/
RNAstructure	windows exe	нет	http://rna.urmc.rochester.edu/rnastructure.html
RNAshapes	исходный код	есть	http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnashapes/
Sfold	—	есть	http://sfold.wadsworth.org/
CONTRAFold	исходный код	есть	http://contra.stanford.edu/contrafold/

РНКаза Т1. Первоначально выделена из такадиастазы, ферментного комплекса ростовой среды плесневого гриба *Aspergillus orizae*. Ключевой представитель семейства микробных *РНКаз*. Этот хорошо охарактеризованный фермент расщепляет *одноцепочечную РНК* с высокой специфичностью в 3'-сайте остатков гуанина в две стадии. На первой стадии происходит *транэтерификация фосфодиэфирной связи* с образованием циклического 2',3'-фосфата. *Циклический фосфат* затем гидролизует в ходе второй (скорость определяющей) стадии с образованием 3'-фосфата. РНКаза Т1 может быть также использована для ферментативного секвенирования РНК (см. *РНК секвенирование*), зондирования структуры РНК (см. *РНК структура*) или синтеза РНК (см. *РНКаза А, химическое и ферментативное картирование РНК*).

Uli Hahn

РНКаза. Фермент (белок или рибонуклеиновая кислота), который катализирует расщепление цепей РНК. Р. — это *эндонуклеазы* или *экзонуклеазы* и могут быть специфичными к одноцепочечной (*РНКаза А, РНКаза Т1* и т. д.), двуцепочечной РНК (*Dicer, РНКаза III*) или даже к ДНК–РНК-гибридам (см. *РНКаза H*).

Uli Hahn

РНК-аптамер. См. *аптамер*.

РНК-белковое взаимодействие. Структурное и функциональное взаимодействие между РНК и белками необходимо для контролируемого осуществления важных биологических процессов, например процессинга (см. *РНК процессинг*), в том числе *сплайсинга, трансляции*, контроля стабильности мРНК и ее деградации (см. *РНК деградация*). Такие взаимодействия могут быть специфичными для определенных последовательностей *нуклеотидов* (см. *узнавания мотив*) или неспецифичными, как в отношении многих клеточных *РНК-связывающих белков* (например, *РНК-шаперонов*). В эксперименте взаимодействия РНК с белками могут быть идентифицированы и охарактеризованы различными методами — *методом задержки в геле, сшивок образованием* (в том числе *фотосшиванием*), связыванием на фильтре, *FRET* и *футпринтингом*.

Georg Sczakiel

РНК-библиотека. См. *пул последовательностей*.

РНК-блоттинг. См. *блот-анализ, нозерн-блот*.

РНК, выравнивание и сравнение структуры. Многие *некодирующие РНК* достаточно быстро эволюционируют на уровне последовательностей, в то время как *вторичные структуры* РНК сравнительно консервативны. Разработаны различные способы выявления и количественной оценки степени структурного сходства молекул РНК. В простейшем случае при наличии заметной гомологии *последовательностей* могут быть использованы подходы, которые осуществляют простое *выравнивание* последовательностей, но включают и определение некоторой информации о структуре (например, образует ли *нуклеотид* пару с нуклеотидом, расположенным *выше*

или *ниже*). В то же время, если структуры *РНК* известны или по крайней мере предсказаны, приемлемы стратегии выравнивания или редактирования деревьев. В этом случае *вторичные структуры* отображаются в виде так называемых укорененных плоских деревьев. К таким деревьям применимы алгоритмы редактирования и выравнивания, сходные с таковыми для пар нуклеотидов. Третья категория алгоритмов делает попытку одновременно решить проблемы укладки (предсказание структуры) и выравнивания. Прямое решение этого вопроса, так называемый алгоритм Санкоффа на основе термодинамических закономерностей и независимого от контекста случайного спаривания, слишком сложен для практического применения. Поэтому на практике используют различные эвристические приближения для уменьшения области поиска.

Как и в случае выравнивания вообще, может быть произведен расчет глобального или локального выравнивания. Если первое используют для сравнения молекул *РНК*, то второе играет важную роль в поиске *РНК-генов* (см. *РНК-генов поиск*).

Peter F. Stadler, Ivo Hofacker

РНК-ген. *Ген*, который транскрибируется в *некодирующую РНК*.

РНК-генов поиск. Серия недавних высокопроизводительных экспериментов с применением различных методов привела к доказательству того факта, что значительная часть транскриптома высших организмов состоит из *некодирующих РНК* (нкРНК) и что даже у прокариот наличие не кодирующих белки *генов* жизненно важно для осуществления клеточных функций. Распознавание и аннотирование генов нкРНК стало важной задачей биоинформатики. В отличие от кодирующих белки генов в этом случае нет общих сигналов (наподобие границ *открытой рамки считывания*), которые могли бы быть использованы для поиска генов нкРНК в *геномной ДНК*. Подходы к анализу таких последовательностей можно классифицировать на три группы. (1) Методы, основанные на поиске сходства последовательности с уже известными фрагментами (например, *РНК*, доступными в базе данных *Rfam*). Этот подход лежит в основе большинства опубликованных аннотаций нкРНК (например, в базе данных ENSEMBL). (2) Сравнительно небольшой размер бактериальных генов, хорошо охарактеризованная структура их *промоторов* и терминаторных сигналов успешно используется при аннотировании прокариотических (преимущественно бактериальных) геномов. (3) У эукариот подходы сравнительной геномики могут быть применены к детектированию эволюционно консервативных *вторичных структур*, для которых неизвестны близкие гомологи. Наиболее широко для этих целей используют программы RNAz и Evofold. Результаты расчетов показывают, что доля генов, кодирующих эволюционно консервативные (а потому, предположительно, функциональные) структуры *РНК*, в *геномах* млекопитающих примерно равна доле кодирующих белки генов.

Peter F. Stadler, Ivo Hofacker

РНК дегградация. См. *щелочной гидролиз*, *мРНК дегградация*, *РНКазы*.

РНК—ДНК-гибрид. См. *ДНК—РНК-гибрид*.

РНК домен. Значительная часть молекулы РНК, которая несет ряд структурных мотивов и может служить местом взаимодействия с другими молекулами (белками, нуклеиновыми кислотами, небольшими *лигандами*) или другими частями той же молекулы РНК.

Sabine Müller

РНК-зависимая ДНК-полимераза. *ДНК-полимераза*, которая синтезирует *ДНК* с использованием *РНК* в качестве *матрицы* (см. *обратная транскриптаза*).

РНК-зависимая РНК-полимераза. Важный фермент всех вирусов, *геном* которых состоит из плюс-цепи РНК. Катализирует синтез комплементарной *минус-цепи*, которая является интермедиатом при *репликации*, с использованием *плюс-цепи* РНК в качестве *матрицы* (или синтез плюс-цепи на матрице минус-цепи РНК). *Геном* в виде плюс-цепи служит носителем *генетической информации* в поколениях вирусов (см. *амплификация по механизму катящегося кольца*).

Irene Drude

РНКи. См. *РНК-интерференция*.

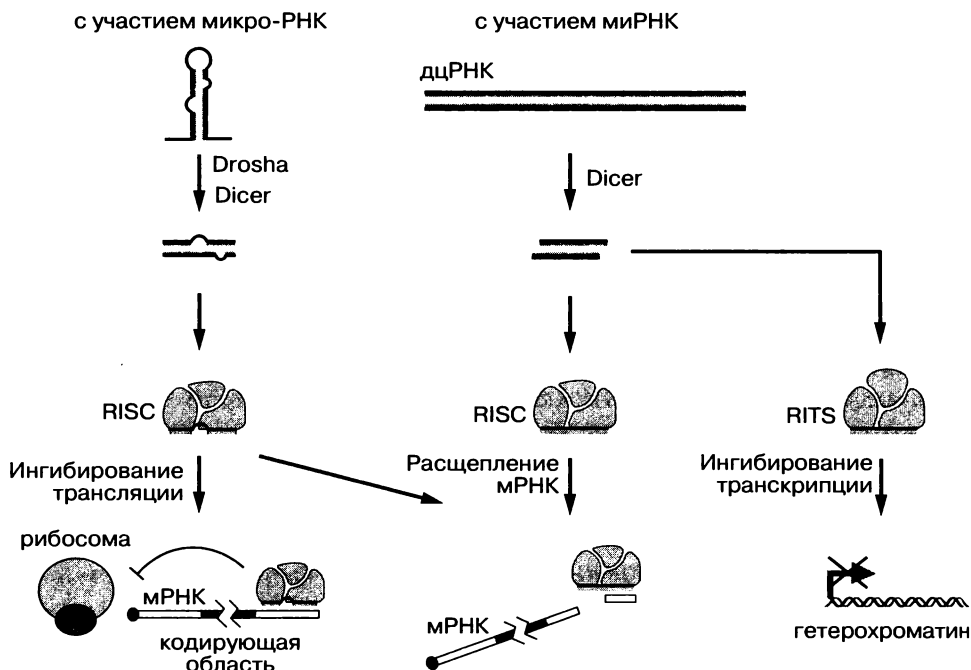
РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга. См. *RISC*.

РНК-индуцируемый сайленсинг транскрипции. См. *RITS*.

РНК инженерия. Термин относится ко всем попыткам получения новой функциональной РНК. Для достижения этой цели существуют два основных подхода. Можно осуществить конструирование молекул РНК для получения направленного действия либо применяя известные методики (как в случае *миРНК*), либо модифицируя уже известные нуклеиновые кислоты (как в случае адаптации *шпильчатого рибозима* и *молотоголового рибозима* к определенному субстрату). Дизайн нуклеиновых кислот с новой каталитической активностью очень сложен. В этом случае возможно использовать второй основной подход, связанный с поиском активной последовательности РНК в рандомизированной *РНК-библиотеке*. Этот подход называется *отбором in vitro* или *SELEX* (см. *антамеров отбор*).

Slawomir Gwiazda

РНК-интерференция. Зависимый от последовательности механизм сайленсинга (см. *гена сайленсинг*) в эукариотических клетках (также известен как «РНК-сайленсинг»). Процесс консервативен для множества живых организмов — от грибов до растений и животных с примечательным исключением в виде *Saccharomyces cerevisiae*. Играет важную роль в защите клеток от вирусов и элементов *повторяющейся ДНК*. Помимо своего значения в природе, Р. представляется многообещающим подходом к сайленсингу генов в функциональной геномике и в перспективе — терапевтической стратегии лечения многих заболеваний. Любопытно, что у нематод можно вызвать РНКи при кормлении их бактериями, продуцирующими длинные *двуцепочечные РНК*, что открывает дополнительные перспективы регуляции в масштабных исследованиях по геномике этих организмов.



Пути РНК-интерференции

Сайленсинг экспрессии генов (см. *гена экспрессия*) при РНКи опосредован небольшими молекулами РНК (21–26 нуклеотидов), которые действуют как факторы специфичности, определяя сродство комплексов сайленсинга к *комплементарным последовательностям*. Эти РНК делятся на два класса в зависимости от их биогенеза. Эндогенные РНК, образующиеся из *шпичечных петель*, называют *миРНК* или *микро-РНК*, в то время как РНК экзогенного происхождения или возникающие из длинных двуцепочечных *транскриптов* называют *малыми интерферирующими РНК* (сиРНК).

После процессинга миРНК и сиРНК встраиваются в мультимолекулярный комплекс, называемый *RISC*. Механизм сборки RISC известен только у *Drosophila melanogaster*. Остается установить, насколько уверенно полученные на плодовой мушке данные могут быть обобщены для остальных организмов. У дрозофилы есть две формы белка *Dicer*, которые преобразуют миРНК и сиРНК (Dcr-1 и Dcr2 соответственно).

Белок Dcr-2 отвечает не только за расщепление двуцепочечных РНК с образованием одноцепочечных, но и за загрузку одной или двух цепей сиРНК в RISC в комбинации с R2D2 (белком, содержащим домен, который связывает *двуцепочечную РНК*). Комплекс Dcr-2/R2D2, предположительно, выбирает, какая из двух цепей сиРНК будет загружена в RISC. Это определяется разницей в стабильности обоих концов дуплекса миРНК. Цепь, несущая менее стабильный 5'-конец, будет загружена в RISC. По мере расплетания цепей дуплекса миРНК комплекс Dcr-2/R2Dw2 заменяется на Argonaute, основной компонент RISC.

Комплекс RISC действует на конкретные *гены* путем образования пар между своим РНК-компонентом и целевой *матричной РНК* (мРНК). Если мРНК и малая РНК полностью комплементарны (как это происходит в случае большинства сиРНК и некоторых миРНК), регуляция экспрессии осуществляется путем расщепления мРНК белком Argonaute и ее последующей деградации. Однако большинство миРНК не полностью комплементарны своим мишеням, и регуляция происходит путем ингибирования *трансляции*.

В отношении сиРНК есть точка зрения, что в некоторых организмах эффект сайленсинга усиливается из-за действия *РНК-зависимой РНК-полимеразы*, которая удлинняет комплементарную цепь продуктов расщепления РНКи. Возникающие двуцепочечные фрагменты РНК являются новыми субстратами Dicer, и образуются новые сиРНК.

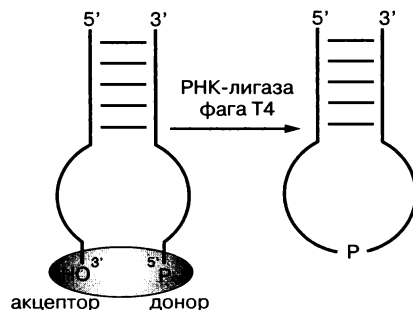
Регуляция экспрессии генов путем РНК-интерференции происходит не только на посттранскрипционном уровне, но и во время транскрипции (см. *транскрипционный сайленсинг генов*). В этом случае сиРНК загружаются в специфический комплекс, называемый *RITS*. Он осуществляет сайленсинг при взаимодействии с *хроматином*: индуцируя модификации ДНК или *гистонов*, вызывает образование неактивной формы хроматина — *гетерохроматина*. Этот эффект очень важен для поддержания стабильности *генома* путем подавления *рекомбинации* в нежелательных районах и перемещения повторяющихся элементов ДНК (например, *ретротранспозонов*). Он также играет роль в правильной сегрегации *хромосом*. Активность РНКи консервативна у *Drosophila*, растений и млекопитающих.

Nicolas Piganeau

РНК-катализ. См. *рибозимы*.

РНК-лигаза. РНК-лигаза фага Т4 (ЕС 6.5.1.3, также известна как Rnl1 или RnlA-лигаза 1) представляет собой полипептид длиной 347 аминокислот, кодируемый *геном* 63 бактериофага Т4. Принадлежит к семейству ферментов, соединяющих концы *олигонуклеотидов* и участвующих в репарации РНК (см. *РНК репарация*), *сплайсинге* и *редактировании*. Катализирует образование *фосфодиэфирных связей* между 5'-фосфатной и 3'-гидроксильной группами *одноцепочечных РНК*.

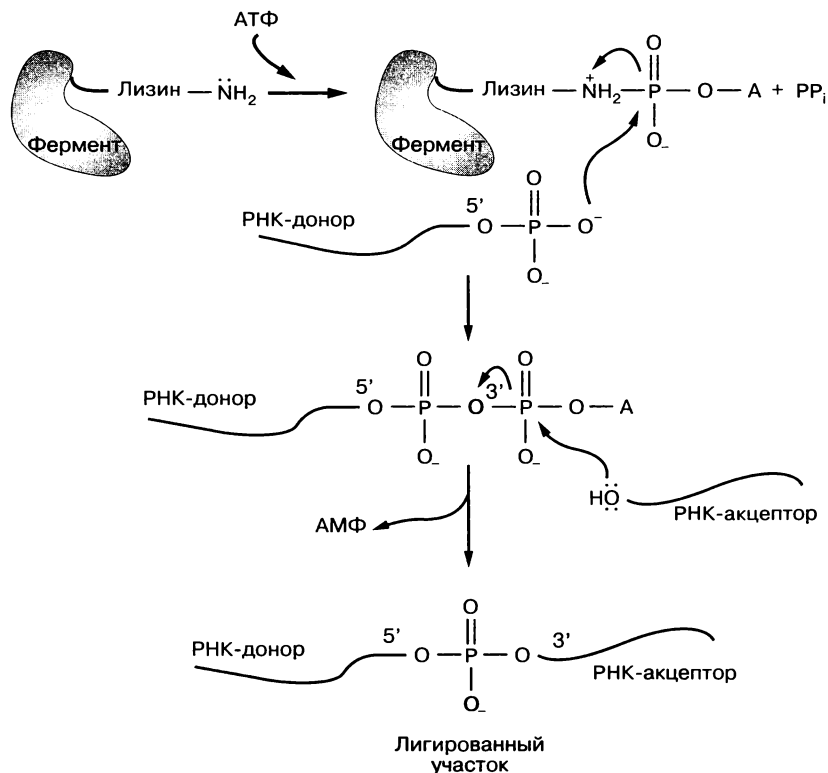
Катализирует также соединение концов фрагментов одноцепочечной ДНК, но с меньшей эффективностью. Олигонуклеотид, несущий 5'-концевой монофосфат, называют *донорным субстратом*, а несущий 3'-гидроксиль-



ную группу — акцепторным субстратом. Биологическая роль РНК-лигазы фага Т4 заключается в репарации поврежденных бактериальных лизинового тРНК (тРНК^{Lys}) в *антикодонной петле*.

Tina Persson

РНК лигирование. Реакция, катализируемая ферментом *РНК-лигазой* фага Т4 и состоящая из трех обратимых стадий. На первой стадии *лигаза* реагирует с *АТФ* с образованием интермедиата — аденилированного фермента. На второй стадии донорный субстрат с 5'-концевым монофосфатом связывается с прикрепленным к ферменту 5'-остатком АМФ, который теперь образует связь с 5'-фосфатом донорного субстрата. В результате образуется аденилированный донорный продукт, к которому концевой остаток *аденозина* присоединен 5',5'-*фосфодиэфирной* связью. На последней стадии (трансэтерификация) фосфодиэфирная связь между двумя соединенными фосфатами расщепляется, и между донорным и акцепторным субстратами образуется фосфодиэфирная связь. Параллельно происходит высвобождение АМФ. Субстратная специфичность РНК-лигазы фага Т4 очень широкая, что позволяет ей лигировать любые последовательности ДНК или РНК. Наименьший донорный субстрат представляет собой нуклеозид-3',5'-дифосфат; при этом эффективность лигирования убывает в ряду $pCp > pUp = pAp > pGp$. Дезоксирибонуклеозиды (кроме $p(dCp)$) в целом менее предпочтительны в качестве субстрата, чем соответствующие *рибонуклеозиды* pNr .



В реакциях, катализируемых этим ферментом, также участвовал и изоцитидин-3',5'-бисфосфат; это означает, что некоторые изменения структуры оснований не влияют на их реакционную способность. Донорный субстрат, предположительно, узнает 5'-концевой фосфат и рибонуклеозид, а также следующий связанный с 3'-атомом фосфат. На эффективность реакции оказывает влияние только длина цепи донорного субстрата. Для узнавания акцептора важен 3'-концевой остаток *рибозы*. 3'-Концевой аденозин предпочтительнее *цитидина* и *гуанозина*, так как обладает промежуточной реакционной способностью, а *уридин* — неэффективный субстрат ($A > C \geq G > U$). Изучение тримерных акцепторных субстратов вида $NpNpNp$ показало, что присутствие U в любом положении приводит к уменьшению выхода. В целом в реакциях, катализируемых РНК-лигазой фага T4, ДНК менее эффективна в качестве субстрата, чем РНК, причем различия касаются в первую очередь акцепторного субстрата. Практическое применение фермента включает следующие приложения: (а) *концевое мечение* с использованием рСр и рСрС-флуоресцеина; (б) реакции циркуляризации (см. *циркуляризация ДНК*), например при образовании кольцевых молекул РНК; (в) реакции межмолекулярного лигирования полинуклеотидов (например, лигирование РНК-олигонуклеотидов с 5'-концом *матричной РНК*).

Tina Persson

РНК мечение. См. *олигонуклеотидов мечение*.

РНК-мир. Гипотетическая фаза в ранний период развития жизни, когда РНК выполняла наследственные и ферментативные функции. Концепция Р.-м. берет начало в трех близких работах Воуза (1967), Крика (1968) и Оргела (1968). Весомые подтверждения этой идеи были найдены при *in vitro* *омборе нуклеиновых кислот, аптамеров и рибозимов*, а также при открытии нескольких каталитических РНК в современных организмах. Нуклеотидные коферменты (*АТФ, НАДФ* и др., см. *нуклеотид*) предположительно являются напоминанием об этой эволюционной стадии. Их существование согласуется с предположением о том, что Р.-м. был в метаболическом плане сложным. Р.-м. мог возникнуть на минеральных поверхностях или в компартментализованных системах (см. *рибо-организм*).

Eörs Szathmáry

РНК-мотив. Характерный элемент локальной трехмерной структуры молекулы РНК (см. *РНК структура*).

РНК-носитель. В некоторых случаях РНК (чаще всего *транспортная РНК* дрожжей) оказывается предпочтительнее при *трансфекции* или *трансформации* в качестве *нуклеиновой кислоты-носителя*, чем ДНК.

Roser González-Duarte

РНК остров. См. *сахарофосфатный остров*.

РНК-переключатель. См. *рибопереключатель*.

РНК плавление. См. *денатурация, плавление, плавления кривая, плавления температура*.

РНК полимеризация. См. *транскрипция*.

РНК последовательность. См. *нуклеотидов последовательность*.

РНК-полимераза. Фермент, который катализирует *полимеризацию* активированных строительных блоков РНК — *нуклеозидтрифосфатов* (см. *транскрипция*).

РНК-полимераза фага Т7. ДНК-зависимая РНК-полимераза бактериофага Т7. Белок с молекулярной массой 99 кДа, который катализирует *полимеризацию* РНК в направлении от 5'- к 3'-концу в присутствии ионов Mg^{2+} . Эта полимераза характеризуется исключительной промоторной специфичностью (см. *промотор фага Т7*) и начинает *транскрипцию* сразу за промотором. Наряду с нетранскрибируемой промоторной последовательностью фермент нуждается в смежном мотиве, который начинается с 5'-цитидина (в основном, 5'-СССТСТ-3'). Этот мотив всегда транскрибируется вместе с расположенным *ниже геном*. В результате все РНК, транскрибируемые полимеразой фага Т7, содержат гуанин (обычно гексануклеотидный мотив 5'-GGGAGA-3') на 5'-конце. Эта полимераза также способна встраивать в молекулу РНК *нуклеотиды*, меченные ^{32}P или по 5'-атому углерода. Это обстоятельство делает полимеразу фага Т7 привлекательным инструментом для *радиоактивного мечения* РНК или присоединения *флуоресцентного красителя*.

Irene Drude

РНК-праймер. Так как ДНК-полимеразы не способны инициировать синтез ДНК *de novo*, но могут только удлинять цепочку *полимера* нуклеиновой кислоты, необходимы *праймеры* (короткие 10–12-членные олигонуклеотиды РНК). Синтезируются *праймсомой*. После элонгации, осуществляемой ДНК-полимеразами, праймеры удаляются за счет экзонуклеазной активности ДНК-полимеразы I (см. *экзонуклеаза*), которая отщепляет *рибонуклеотиды* и заменяет их на *дезоксирибонуклеотиды*.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

РНК, программное обеспечение. См. *РНК, вторичной структуры предсказание*.

РНК процессинг. Созревание промежуточного продукта *транскрипции* с образованием функциональных *матричных РНК* (мРНК), *транспортных РНК* (тРНК), *рибосомных РНК* (рРНК) и *малых интерферирующих РНК* (сиРНК). Изменения в структуре *первичного транскрипта* включают добавление или удаление полинуклеотидных сегментов, а также модификацию определенных *нуклеотидов*.

Эукариотические мРНК претерпевают значительный посттранскрипционный процессинг, перед тем как покинуть ядро. К первому нуклеотиду *пре-мРНК* через специальный трифосфатный мостик присоединяется 7-метилгуанозиновый *кэп*. К 3'-концу ферментативно присоединяется *поли(А)-«хвост»* (от 100 (у дрожжей) до 250 (у млекопитающих) остатков

аденина). Эукариотические пре-мРНК состоят из белок-кодирующих последовательностей (см. *экзон*), которые чередуются с белок-некодирующими (см. *интрон*). *Вставочные последовательности* точно вырезаются через промежуточное состояние *лариата*, а концы экзонов соединяются; этот процесс называют *сплайсингом*. Процедура достаточно сложная, в ней принимают участие пять *малых ядерных РНК* и ряд связанных с ними белков, которые вместе образуют *рибонуклеопроtein* — сплайсому. Некоторые мРНК подвергаются дальнейшему преобразованию, известному как редактирование (см. РНК редактирование). К последнему относятся замена, инсерция или делеция определенных оснований (все они опосредуются гидровыми РНК) либо замещение оснований специальными ферментами.

Вновь транскрибированные рРНК представляют собой кластеры из трех последовательностей (16S, 23S и 5S рРНК у прокариот; 18S, 5,8S и 28S рРНК у эукариот), которые должны быть разделены. Расщепление происходит за счет активности специфических *эндонуклеаз* (РНКазы III, *РНКазы Р*, РНКазы Е и РНКазы F). Помимо разделения, рРНК метилируются в определенных положениях, в результате чего образуются O²-метилрибоза и N⁶,N⁶-диметиладенин (а также 2-метилгуанин у эукариот). Эукариотические рРНК процессируются в специальных ядерных тельцах (ядрышках) — областях сборки субъединиц рибосом. Многие остатки *уридина* в рРНК превращаются в *псевдоуридин*. Эти изменения контролируются так называемыми *малыми ядерными РНК*.

Молекулы тРНК транспортируют аминокислоты на *рибосомы* при синтезе белка. Они характеризуются структурой «клеверного листа» (см. «*клеверный лист*», *структура*). Чтобы стать функциональной, тРНК подвергается процессингу: фрагмент длиной 14 нуклеотидов (у дрожжей) удаляется с 5'-конца *первичного транскрипта* за счет активности *РНКазы Р*. Кроме того, многие эукариотические пре-мРНК содержат в непосредственной близости от *антикодона* интроны, которые необходимо вырезать. С 3'-конца удаляются избыточные нуклеотиды, а *мРНК*-нуклеотидилтрансфераза присоединяет обязательный тринуклеотид ССА к незрелой тРНК. Созревание тРНК также включает модификацию некоторых остатков с образованием неканонических оснований — инозина, дигидроуридина или псевдоуридина (см. *редкий нуклеотид*).

Jens Kurreck

РНК-ПЦР. См. *полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией*.

РНК, расчеты с использованием. См. *ДНК, расчеты с использованием*.

РНК редактирование. Посттранскрипционная модификация молекул РНК, изменяющая последовательность и/или структуру целевых РНК. Р. р. может включать модификацию или инсерцию/делецию *нуклеотидов*. В случае *матричной РНК* (мРНК) посттранскрипционная модификация изменяет *кодирующую последовательность*. Известны три основных типа Р. р.: дезаминирование *цитозина* в мРНК аполипопротеина В (ароВ), дезаминирование

аденина при экспрессии некоторых глутаматных рецепторов млекопитающих и реакции инсерции/делеции *уридина* для поддержания структуры функциональной *открытой рамки считывания* некоторых мРНК в митохондриях и у трипаносом.

Slawomir Gwiazda

РНК репарация. Исправление *генетической информации* на уровне РНК. По сравнению с традиционной *генной терапией*, при которой в *геном* встраивают правильные копии мутировавших *генов*, Р. р. сохраняет пространственные и временные особенности регуляции активности генов, снижая уровень экспрессии мутантного гена. Возможность перепрограммировать последовательности *транскриптов* связана с искусственной индукцией *транс-сплайсинга* с использованием собственных клеточных *сплайсосом* или осуществляющих *транс-сплайсинг* рибозимов (например, *рибозим Tetrahymena*). Оба метода в эксперименте позволяли корректировать генетическую информацию на уровне транскрипции в клетках и животных как терапевтических моделях. Изменение характера *сплайсинга пре-мРНК* также может быть произведено путем использования *антисмысловых РНК* для блокирования нежелательных *сайтов сплайсинга*.

Таблица. Рибонуклеазы из *E. coli*

Фермент	Субстрат/процесс
Эндорибонуклеазы	
РНКаза I, I*, M, R, IV, F, N	Практически все РНК
РНКаза III	Двуцепочечная РНК/процессинг мРНК, рРНК
РНКаза Р	Предшественники тРНК/процессинг тРНК
РНКаза HI, HII	ДНК–РНК-гибриды/репликация и репарация ДНК
РНКаза P2, O, PC	Мультимерные тРНК
3',5'-Экзорибонуклеазы	
РНКаза II	Неструктурированные РНК/расщепление мРНК, процессинг тРНК
ПНФаза	Неструктурированные РНК/расщепление мРНК
РНКаза D	Денатурировавшие тРНК, предшественники тРНК/процессинг тРНК
РНКаза BN, PH	Предшественники тРНК/процессинг тРНК
РНКаза R	мРНК, рРНК

Stéphanie Vauléon

РНК–РНК взаимодействие. См. *РНК структура; РНК мотив; РНК, вторичной структуры предсказание*.

РНК сайленсинг. См. *РНК-интерференция*.

РНК-связывающие белки (РСБ). Играют ключевую роль в процессинге РНК (см. *РНК процессинг*), модификации РНК, посттранскрипционной регуляции, *сплайсинге*, транспорте и локализации *матричных РНК* (мРНК), поддержании стабильности и *трансляции* мРНК, а также *РНК-интерференции* (РНКи). В типичном случае РСБ представляют собой мультидоменные белки с РНК-связывающими модулями и другими компонентами, например доменами, ответственными за ферментативный катализ или белок-белковые взаимодействия. Топология большинства РНК-связывающих доменов включает антипараллельный β -слой и две-три α -спирали. По сравнению с *ДНК-связывающими белками*, взаимодействие белков с РНК более сложное. Наряду с взаимодействиями с *большим желобком* и/или *малым желобком* для связывания важное значение имеют неканонические структуры РНК (*петли*, *выпетливания*). Образование комплекса РНК и белка обычно происходит путем взаимно индуцированного соответствия. Очень важны *гидрофобные взаимодействия* (контакт с *основанием* или *рибозой*) и образование водородных связей с основаниями РНК, которые обуславливают зависимое от последовательности узнавание. К примерам белковых мотивов, участвующих в узнавании РНК, относятся мотив узнавания РНК (RRM, также известен как РНК-связывающий домен RBD или *рибонуклеопротеиновый* домен RNP), модуль гомологии К (KH), двуцепочечный RBD, Sm-домен, мотив спираль–поворот–спираль, мотив «цинковые пальцы»/«костяшки пальцев», домен Piwi/Argonaute/Zwille (PAZ). У некоторых РСБ есть несколько копий одного и того же РНК-связывающего домена, в то время как другие несут два и более одинаковых доменов. Некоторые РНК-связывающие домены предположительно важны для осуществления молекулярной функции РСБ: домен PAZ — для связывания коротких *одноцепочечных РНК* в *РНК-интерференции* и процессах с участием *микро-РНК*; Sm-домен — для связывания *малых ядерных РНК* при *сплайсинге* и, вероятно, процессинге *транспортных РНК*.

Tobias Restle

РНК-связывающие полиамины. Длинноцепочечные алифатические амины. Наиболее известны спермин, спермидин и путресцин — эндогенные поликатионы, необходимые для роста, развития и обменных процессов клетки. В клетке большинство полиаминов связываются с РНК, вызывая в ней структурные изменения за счет действия своего положительно заряженного остова. Помимо РНК, эти поликатионы также взаимодействуют с другими отрицательно заряженными макромолекулами (например, липидами и белками).

Valeska Dombos

РНК-связывающие антибиотики. *Антибиотики*, которые связываются с НК.

РНК секвенирование. Последовательность *мономеров* (оснований), образующих молекулу РНК, определяется в ходе анализа последовательности РНК. Современное секвенирование РНК основано на *обратной транскрипции* РНК-матрицы с последующим анализом *кДНК* путем *секвени-*

рования по Сенгеру. В начале применения метода были определены *первичные структуры* аланиновой и сериновой *транспортных РНК* (тРНК) с использованием количества РНК порядка граммов и метода, основанного на специфической *фрагментации* РНК с помощью различных *рибонуклеаз* путем комбинирования последовательностей образовавшихся фрагментов с использованием перекрывающихся областей. Дальнейшее развитие методов секвенирования РНК связано с применением *радиоактивного мечення*, специфической фрагментации *РНКазой А* и *РНКазой Т1*, двумерного *электрофореза* и выделения фрагментов с последующей деградацией их *экзонуклеазами*, других типов электрофореза. Применение этих трудоемких подходов увенчалось успехом в виде последовательностей различных тРНК, *рибосомных РНК* (5S и 16S), бактериофага MS2. В настоящее время секвенирование РНК путем фрагментации используют только, если необходимо определить наличие *редких нуклеотидов*.

Susanne Brakmann

РНК-сенсор. Любая молекула РНК (часто *рибозим*), которая в присутствии определенного анализируемого вещества претерпевает превращение, сопровождающееся измеряемым показанием (см. *репортерный рибозим*).

Jörn Wolf

РНК синтез. См. *олигонуклеотидов синтез*, *транскрипция*.

РНК-синтезатор. См. *ДНК-синтезатор*.

РНК созревание. *Первичные транскрипты*, т. е. непосредственные продукты *транскрипции*, не всегда оказываются функциональными и потому часто проходят несколько стадий созревания. Процессинг эукариотических *матричных РНК* включает экпирование, присоединение *поли(А)-«хвоста»* и *сплайсинг*. Зрелые *рибосомные РНК* образуются из *пре-рРНК* путем эндонуклеазного расщепления и метилирования определенных *нуклеотидов*. *Пре-тРНК* для достижения функционального состояния нуждаются в значительном процессинге, к которому относятся удаление сегмента на 5'-конце и *интрона* в *антикодоновой петле*, замещение двух остатков *урацила* на 3'-конце на *ССА*, а также модификация некоторых остатков с образованием особых оснований. См. *РНК процессинг*.

Jens Kurreck

РНК сплайсинг. Преобразование нефункционального *первичного транскрипта* путем удаления *интронов*. Обычно термин относится к вырезанию интронов из *гетерогенной ядерной РНК* (гяРНК или *пре-мРНК*), хотя также описан сплайсинг РНК других типов — *транспортных РНК* (см. *тРНК сплайсинг*) или предшественников *рибосомной РНК* (см. *интроны группы I*). После *транскрипции* молекулы гяРНК связываются с определенными белками. Образующийся в результате *рибонуклеопротеин* (см. *гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин*) представляет собой субстрат для реакции сплайсинга. В целом последняя характеризуется наличием двух последовательных и независимых актов *трансэтерификации*, в результате которых происходит удаление интрона и лигирование концов *экзонов*. Из сообра-

жений сохранения целостности *рамки считывания* сплайсинг должен быть абсолютно точным. Эта точность достигается наличием коротких консервативных *консенсусных последовательностей*, которые отмечают 3'- и 5'-сайты сплайсинга. Большинство молекул пре-мРНК вписываются в правило GT–AG, т. е. первые два нуклеотида интрона обычно G и T, а 3'-конец интрона завершается остатками A и G. Третий элемент системы — *точка ветвления* в интроне, которая практически неизменно локализована в нуклеотиде A на расстоянии примерно 30 нуклеотидов от 3'-сайта сплайсинга и отделена от нее полипиримидиновым трактом (см. *пиримидиновые основания*). Механизм реакции сплайсинга в целом сводится к следующему. Первая стадия включает нуклеофильную атаку 2'-гидроксильной группы точки ветвления на *фосфодиэфирную связь* в 5'-сайте сплайсинга. На второй стадии освободившаяся 3'-гидроксильная группа предшествующего экзона атакует фосфодиэфирную связь в 3'-сайте сплайсинга. В результате оба экзона оказываются лигированными новой фосфодиэфирной связью. Интрон высвобождается в форме *лариата* при образовании связи между 5'-фосфатом (G) и 2'-гидроксилом (A) в точке ветвления. Две реакции трансэтерификации сами по себе не требуют затраты энергии, однако эффективность работы каталитического компонента реакции (*сплайсосомы*) зависит от наличия АТФ.

Bernd-Joachim Benecke

РНК структура. Двухцепочечные структуры РНК существуют почти исключительно в виде *А-формы РНК*. Эти двухцепочечные стебли ограничены по длине несколькими стандартными *уотсон-криковскими парами оснований* и соединены одноцепочечными участками. Последние могут формировать разнообразные элементы *вторичной структуры* и *третичной структуры*, многие из которых имеют собственную номенклатуру и классификацию. Методы определения структуры РНК на атомарном уровне (см. *кристаллизация нуклеиновых кислот, ядерного магнитного резонанса спектроскопия*) позволили охарактеризовать структуру значительного числа молекул РНК с различными функциями, включая *рибосомные РНК*, многие *транспортные РНК*, различные *рибозимы*, РНК-компоненты *рибонуклеопротеинов*, *аптамеры*. По результатам этого анализа был описан ряд структурных мотивов РНК (например, *А-платформа*, *А-минорный мотив*, *шпильчатая петля*, *внутренняя петля*, *соединяющая петля*, *псевдоузел*, *тетрапетля*, *U-поворот*, *К-поворот*, *S-поворот*). На основании геометрических особенностей взаимодействия оснований была предложена специальная *номенклатура и классификация пар оснований РНК* (см. *РНК вторичная структура; РНК, вторичной структуры предсказание; SCOR*).

Sabine Müller

РНК-термометр. Как и *рибопереключател*и, РНК-термометры — это *цис-действующие* сенсорные элементы РНК, обычно расположенные в *5'-нетранслируемой области матричных РНК* (мРНК). РНК-термометр, расположенный *выше* бактериального гена *теплового шока* или гена *холодового шока*, снижает экспрессию гена при пониженных и повышенных температурах соответственно. У патогенных бактерий (например, *Listeria*

или *Yersinia*) экспрессия *гена-активатора* вирулентности находится под контролем РНК-термометра таким образом, что соответствующие гены экспрессируются только при 37 °С (т. е. при заражении теплокровного организма). РНК-термометр в нетранслируемой 5'-области гена сIII бактериофага λ контролирует выбор между литическим и лизогенным циклами. В условиях жесткого теплового шока происходит негативная регуляция этого гена, что приводит к индукции литического цикла, позволяющего фагам покинуть хозяйскую клетку (например, *Escherichia coli*).

Все известные РНК-термометры контролируют *трансляцию* благодаря наличию специальной структуры мРНК, меняющей конформацию в зависимости от температуры, точно так же осуществляется контроль доступа *рибосомы* к последовательности Шайна–Дальгарно (см. *Шайна–Дальгарно последовательность*). РНК-термометры в нетранслируемой 5'-области генов теплового шока или вирулентности при понижении температуры образуют сложные структуры. *Сайт связывания рибосомы* (последовательность Шайна–Дальгарно и в некоторых случаях *стартовый кодон* AUG) маскируется. *Плавление* этой структуры при повышении температуры позволяет рибосоме связаться и осуществить инициацию *трансляции*.

Franz Narberhaus

РНК топология. См. *РНК структура*.

РНК укладка. Синоним структурного мотива РНК (см. *РНК структуры*).

РНК-ферменты. См. *рибозимы*.

РНК-фолдинг. См. *РНК, вторичной структуры предсказание*.

РНК-шапероны. Повсеместно распространенные многочисленные белки, которые контролируют нормальный фолдинг РНК путем предотвращения образования и исправления неверно уложенных структур (см. *РНК структура*). Большинство РНК-шаперонов обеспечивают специфичность РНК к широкому кругу последовательностей. РНК-ш. играют важную роль в многих клеточных процессах — транскрипции, трансляции, транспорте РНК, сплайсинге, модификациях и распаде РНК. К РНК-ш. относятся белки холодового шока, рибосомные и Sm-подобные белки (например, бактериальные Hfq-белки, которые способствуют РНК–РНК-взаимодействиям).

Franz Narberhaus

РНП. См. *рибонуклеопротеин*.

рРНК процессинг. См. *РНК процессинг*.

рРНК. См. *рибосомная РНК*.

РС (RS). Сокращение для (аминоацил)-*тРНК*-синтетазы, используемое для обозначения конкретного фермента, например Ala-РС = аланил-*тРНК*-синтетаза.

С

Сайленсер. См. *РНК-интерференция, малая интерферирующая РНК.*

Сайт ветвления. Сайт, в котором нарушается регулярная структура нуклеиновой кислоты. С. в. возникают в ДНК (например, в ходе *репликации* или *рекомбинации*) и РНК (например, при *сплайсинге*). В последнем случае С. в. возникает на 18–20 нуклеотидов *выше* 3'-сайта сплайсинга *пре-мРНК*. В процессе сплайсинга возникает промежуточная кольцевая разветвленная структура (см. *лариат*).

Slawomir Gwiazda

Сайт рестрикции. Последовательность нуклеотидов в ДНК (*участок узнавания*), с которым взаимодействует *эндонуклеаза рестрикции*, участок *сахарофосфатного остова*, в котором происходит гидролиз расщепление *фосфодиэфирной связи*. Структура и длина С. р., а также его положение зависят от типа и подтипа эндонуклеазы рестрикции.

Например, участки узнавания наиболее распространенных эндонуклеаз рестрикции подтипа IIР (SmaI, MspI) представлены симметричными последовательностями длиной 4–8 п. н., которые часто называют *палиндромами*. Расщепление эндонуклеазами рестрикции происходит в строго определенном положении (месте) в пределах участка узнавания или в непосредственной близости от него. Некоторые ферменты рестрикции расщепляют фосфодиэфирную связь в одной цепи ДНК строго напротив другой расщепляемой фосфодиэфирной связи, образуя *тупые концы* (SmaI). В большинстве случаев место гидролиза ДНК эндонуклеазой рестрикции в одной цепи смещено на несколько нуклеотидов относительно места гидролиза в противоположной цепи. Это приводит к образованию *липких концов* ДНК (XmaI).

Участки узнавания эндонуклеаз рестрикции могут быть вырожденными. Например, HinfI узнает последовательность длиной 5 п. н., начинающуюся с 5'-GA и заканчивающуюся 5'-TC, при этом в середине может находиться любой из четырех нуклеозидов (в таблице произвольный нуклеотид обозначен как N).

Различные эндонуклеазы рестрикции могут иметь одинаковые участки узнавания и то же самое место гидролиза ДНК. Такие ферменты называют *изошизомерами* (например, SmaI и PspALI). *Неошизомеры* — группа изошизомеров, которые узнают одну и ту же нуклеотидную последовательность, но расщепляют ее в различных положениях (SmaI, XmaI). Участок узнавания одного фермента может содержать сайт рестрикции другого (SmaI, MspI).

Длина участка узнавания эндонуклеазы рестрикции определяет, насколько часто будут вноситься разрывы в ДНК. Ферменты с участком узнавания длиной 6 п. н. в среднем гидролизуют ДНК через каждые 4096 п. н.; тетра-нуклеотидный сайт рестрикции обнаруживается примерно через каждые 256 п. н.

Таблица. Сайты рестрикции

Эндонук- леаза рестрик- ции	Тип (подтип)	Узнаваемая последовательность и место гидролиза (↓)
<i>EcoKI</i>	I(A)	5' ...AACNNNNNNGTGC... 3' 3' ...TTGNNNNNNNCACG... 5' Места гидролиза расположены на расстоянии 1000 п. н. или больше от участка узнавания
<i>HphI</i>	II(A)	5' ...GGTGANNNNNNNN↓... 3' 3' ...CCACTNNNNNNN↑... 5'
<i>BplI</i>	II(B)	5' ...↓NNNNNNNNNGAGNNNNNCTCNNNNNNNNNNNNNN↓... 3' 3' ...↑NNNNNNNNNNNNNNCTCNNNNNGAGNNNNNNNNN↑... 5'
<i>SmaI</i>	II(P)	5' ...CCC↓GGG... 3' 3' ...GGG↑CCC... 5'
<i>PspALI</i>	II(P)	5' ...CCC↓GGG... 3' 3' ...GGG↑CCC... 5'
<i>XmaI</i>	II(P)	5' ...C↓CCGG-G... 3' 3' ...G-GGCC↑C... 5'
<i>MspI</i>	II(P)	5' ...C↓CG-G... 3' 3' ...G-GC↑C... 5'
<i>HinfI</i>	II(P)	5' ...G↓ANT-C... 3' 3' ...C-TNA↑G... 5'
<i>EcoP15I</i>	III	5' ...CAGCAGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN↓NN... 3' 3' ...GTCGTCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN- NN↑... 5'
<i>McrBC</i>	IV	5' ...(G/A)m ^s C(N) ₄₀₋₂₀₀₀ (G/A)m ^s C... 3' 3' ...(C/T)—G(N) ₄₀₋₂₀₀₀ (C/T)—G... 5' Места гидролиза расположены на расстоянии около 30 п. н. от одного из динуклеотидов (G/A)m ^s C

Е. А. Кубарева

Сайт связывания рибосомы. Первая стадия в синтезе белка — связывание малой субъединицы рибосомы с *матричной РНК*, при движении по которой в направлении 3'-конца эта субъединица попадает на *стартовый кодон* AUG. В прокариотических клетках малая субъединица рибосомы (30S) связывается с обогащенной пуринами последовательностью Шайна—Дальгарно (5'-GGAGG-3'; см. *Шайна—Дальгарно последовательность*) молекулы мРНК до начала движения и поиска стартового кодона. Последовательность Шайна—Дальгарно расположена на 10 нуклеотидов выше стартового кодона и ответственна за точное связывание малой субъединицы рибосомы. После контакта со стартовым кодоном происходит присоединение большой субъединицы (50S), что приводит к образованию полноценного комплекса *рибосомы*.

У эукариот малая субъединица (40S) вместе с *инициаторной тРНК*, несущей метионин, связывается с 5'-метилгуанозиновым *кэпом* в молекуле мРНК. Затем комплекс начинает движение в сторону 3'-конца для поиска

стартового кодона AUG. Затем присоединяется большая субъединица (60S), и образуется *рибосома*.

Ada Yonath

Сайт связывания. Определенный участок молекулы белка или нуклеиновой кислоты, с которым нековалентно связываются специфические молекулы (обычно здесь называемые *лигандами*). Основными свойствами этих С. с. являются специфичность (круг лигандов, способных к связыванию) и сродство (или аффинность, характеризует силы межмолекулярного взаимодействия).

Tobias Restle

Сайт сплайсинга. *Консервативная последовательность* на границе *интрона* и *экзона*. 5'-С. с. (5'-конец интрона) определяется по прямому связыванию с U1-мяРНК (см. *U-мяРНК*). 3'-С. с. (3'-конец интрона) определяется косвенно по связыванию U2-мяРНК (также посредством пар оснований) с *точкой ветвления*, расположенной *выше*, и связыванию белка U2AF (сопутствующего фактора U2) с полипиримидиновым трактом между точкой ветвления и самим 3'-С. с. Некоторые 3'-С. с. оказываются «слабыми», т. е. связывание U2-мяРНК и U2AF происходит неэффективно. В этом случае для успешного сплайсинга требуется присутствие дополнительных белков. Например, в этом процессе могут участвовать *SR-белки* (обогащенные серином и аргинином). Эти белки специфически узнают интронные или экзонные энхансеры сплайсинга и связываются с ними.

Bernd-Joachim Benecke

Сайт узнавания. Последовательность *нуклеотидов* (также последовательность аминокислот), которая специфически распознается и связывается белком, например *эндонуклеазой рестрикции*. С. у., образуемые последовательностью *нуклеотидов*, часто оказываются палиндромными (см. *палиндром*).

Jörn Wolf

Сайт, лишенный основания. *Мономерный* остаток в протяженной цепи нуклеиновой кислоты (обычно ДНК), который не содержит *азотистого основания*. В зависимости от того, какое основание утрачено (это видно в случае *двуцепочечной ДНК*), выделяют апуриновые и апириимидиновые сайты. С. л. о. возникает в результате гидролиза *гликозидной связи*, который происходит или спонтанно, или в результате ферментативного катализа. Во втором случае реакция осуществляется в отношении химически поврежденных остатков ДНК и представляет собой первую стадию *эксцизионной репарации*. Пентозная часть существует в равновесии между открытой цепью и двумя фуранозными формами (β - и α -конфигурации). В молекуле ДНК свободная альдегидная группа в линейной форме оттягивает электронную плотность на атом С2', что, в свою очередь, содействует расщеплению цепи у 3'-углерода в С. л. о. путем β -элиминирования фосфомоноэфира с образованием двойной связи между атомами 2' и 3' и смещением электронной плотности за счет мезомерного эффекта от атома С4'. Спонтанная потеря основания в молекуле ДНК обусловлена низким рН и одноцепочечной структурой; у пуринов этот процесс протекает интенсивнее, чем у пирими-

динов. Ферменты, которые осуществляют гидролиз гликозидной связи в ДНК, называются ДНК-гликозилазами (с указанием их основания-субстрата, например урацил-ДНК-гликозилаза). Исторически С. л. о. также называют АР-сайтами (т. е. апуриновые или апиримидиновые сайты).

Hans-Joachim Fritz

Сайт-направленный мутагенез. Метод, который позволяет внесение специфических *мутаций* в молекулу ДНК. Определенные *азотистые основания* в *гене* изменяются или полностью удаляются. В 1978 г. М. Смит был удостоен Нобелевской премии за разработку С.-н. м. с использованием *олигонуклеотидов* для синтеза мутантной ДНК *in vitro*.

Bettina Appel

Сайт-специфическая рекомбинация. Специализированная обратимая *рекомбинация*, осуществляемая сайт-специфическими рекомбиназами, которые узнают, разрезают и лигируют две специфические ДНК-мишени. В зависимости от оказываемого биологического эффекта сайт-специфические рекомбиназы можно подразделить на интегразы, инвертазы и резолвазы, если они катализируют соответственно интеграцию, инверсию или вырезание рекомбиногенных молекул ДНК.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Самоорганизация. Приводит к повышению сложности системы без эволюции и естественного отбора, например звезды и ячейки Бенара в подогреваемой снизу жидкости, завихрения и т. д. Примеров С. в живых системах много, поскольку ведь не *гены* определяют физические и химические законы. Реальные самоорганизующиеся системы не накапливают адаптации кумулятивным путем; они просто существуют.

Eörs Szathmáry

Самопраймирование. Процесс образования *пар оснований* таким образом, что 3'-конец молекулы ДНК перегибается назад и создает внутримолекулярные *шпильчатые петли*, которые, в свою очередь, могут служить *праймерами* для *обратных транскриптаз* или *ДНК-полимераз*. Ретровирусы (например, ВИЧ) выработали сложные стратегии предотвращения С. синтезируемой ДНК *in vivo*.

Jörn Wolf

Саморасщепляющаяся РНК. *Рибозим*, которые катализируют реакцию внутримолекулярного расщепления. Природные рибозимы обычно функционируют как *цис-действующие*, опосредующие *репликацию* вирусов при *амплификации по механизму катящегося кольца*.

Denise Strohbach

Саморепликация. В процессе С. ее участники (репликаторы) создают копии самих себя при помощи других агентов или без них. Структура репликатора остается в значительной степени неизменной. Как химический процесс автокатализ в какой-то степени всегда приводит к репликации; верно и обратное: репликация химических агентов всегда требует автокатализа. Репликатеры обладают ограниченным или неограниченным наследствен-

ным потенциалом. В первом случае число индивидуумов соразмерно числу возможных типов (например, последовательностей), во втором — число типов многократно превосходит число индивидуальных объектов. Современные *гены* обладают неограниченным наследственным потенциалом, но на ранних этапах эволюции ситуация могла быть иной. Характер *репликации* может быть холистическим (например, в случае интермедиатов в восстановительном цикле лимонной кислоты, или цикле Кальвина) либо модульным (как при репликации нуклеиновых кислот). Прионы — это химические (на белковой основе) репликаторы, мемы реплицируются в культурном пространстве, компьютерные вирусы — в киберпространстве.

Eörs Szathmáry

Самосборка. См. *ДНК самосборка*.

Самосплайсинг. Самостоятельно осуществляемый процесс вырезания *интронов* из молекулы *пре-мРНК*. К такому преобразованию в виде двух реакций *трансэтерификации* способны *интроны группы I* и *интроны группы II* (см. *самосплайсирующаяся РНК*).

Stéphanie Vauléon

Самосплайсирующаяся РНК. Интрон РНК, который может самостоятельно вырезаться из молекулы *пре-мРНК* (см. *самосплайсинг*). С. РНК принадлежат к *интронам группы I* и *интронам группы II*.

Санкоффа алгоритм. См. *РНК, выравнивание и сравнение структуры*.

Сателлитная ДНК. Состоит из множества *тандемных повторов* коротких последовательностей ДНК, часто расположена в теломерной (т. е. в конце линейной *хромосомы*; см. *теломера*) или центромерной (см. *центромера*) областях.

Mauro Santos

Сателлитная РНК. Субвирусные агенты, состоящие из РНК. Если С. РНК кодирует белки вирусной оболочки, говорят о сателлитном вирусе или содержащем одноцепочечную РНК сателлитном вирусе.

Сателлитная хромосома. См. *SAT-хромосома*.

Саузерн-блот. Перенос ДНК на носитель (нитроцеллюлозную, нейлоновую или другую мембрану). Приготовление *блота* является частью методики *саузерн-гибридизации*.

Irene Drude

Саузерн-вестерн гибридизация. Способ идентификации и описания *ДНК-связывающих белков* на основе их способности связываться со специфическими *ДНК-зондами*. Использует сочетание методов *саузерн-блота* и *вестерн-блота*. Белок из образца разделяют *гель-электрофорезом* на полиакриламидном геле с добавлением додецилсульфата натрия и пропускают через мембрану (обычно нитроцеллюлозную) для анализа связывания ДНК. После обработки мембраны меченым ДНК-зондом *ДНК-связывающие*

белки могут быть обнаружены различными методами в зависимости от рода метки ДНК-зонда (см. *блот-анализ*).

Irene Drude

Саузерн-гибридизация. Впервые методика описана Эдвином Саузерном в 1975 г. Используется для обнаружения и количественного определения фрагментов ДНК. Сначала ДНК расщепляют до коротких фрагментов с помощью *эндонуклеаз*, и далее эти фрагменты разделяют на полиакриламидном или агарозном геле (см. *гель-электрофорез*). ДНК денатурируют щелочами непосредственно в геле, что приводит к образованию одноцепочечных ДНК. После перенесения ДНК с геля на фильтр или мембрану (путем изменения давления, под действием капиллярных сил или электрического поля) ДНК связывается с мембраной под действием УФ-облучения («запекается»). Мембрана инкубируется с мечеными ДНК- или РНК-зондами (см. *мечение ДНК и РНК*) с известной последовательностью, что приводит к *гибридизации* зондов с *комплементарной последовательностью* в одноцепочечных ДНК. Связанные фрагменты можно определить с помощью разных методов детектирования в зависимости от особенностей метки: радиографически в случае радиоактивной метки, детектором флуоресценции в случае введения *флуоресцентной метки* или по появлению окраски в случае использования хромогенных красителей (см. *блот-анализ*).

Irene Drude

Сахарная сторона. См. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*.

Сахарофосфатный остов. Остов молекул нуклеиновых кислот, состоящий из чередующихся остатков фосфатных групп и пентоз. В качестве боковых групп к С. о. присоединены через одинаковые интервалы гетероциклические основания. Нуклеотиды ДНК или РНК ковалентно связаны мостиками из фосфатных групп. 5'-Гидроксильная группа одного нуклеотида присоединена к 3'-гидроксильной группе следующего нуклеотида фосфодиэфирной связью. С. о. нуклеиновых кислот имеет гидрофильные свойства. Ориентация всех фосфодиэфирных связей вдоль цепи одинаковая, что придает цепи нуклеиновой кислоты в целом определенную полярность (см. *полярность цепи*), но различные 5'- и 3'-концы. Конформация С. о. во *вторичной структуре* ДНК характеризуется значениями шести торсионных углов сахарофосфатного остова (см. *гликозидный торсионный угол, псевдовращение, конформация сахара*).

Н. Г. Долинная

Сверхвиток. См. *сверхспирализованная ДНК*.

Сверхспирализации плотность. Количественный параметр, который определяет, в какой мере кольцевая молекула сверхспирализована (см. *сверхспирализованная ДНК*). В случае *кольцевой ДНК* этот термин может относиться к числу свехвитков на каждые 10 п. н. Описывается уравнением: $\delta = (Lk - Lk_0)/Lk_0$, где δ — плотность сверхспирализации, Lk_0 — *порядок зацепления* релаксированной кольцевой молекулы, а Lk — порядок зацепле-

ния в той же, но сверхспирализованной молекуле. Для природной ДНК δ обычно отрицательна (см. *ДНК сверхструктура*).

Jörn Wolf

Сверхспирализованная ДНК. Компактное состояние замкнутой кольцевой двухцепочечной ДНК (аналогичное третичной структуре белков). В природе некоторые ДНК существуют в виде кольцевых *макромолекул*, в которых 5'- и 3'-концы обеих цепей ковалентно связаны друг с другом. Это плазмидные ДНК, ДНК бактерий, некоторые вирусные геномы, репликативные формы вирусов. Именно в замкнутых кольцевых двойных спиральях наблюдается явление сверхспирализации, которое представляет собой форму аккумуляции энергии в виде структурного напряжения. Если перед тем как замкнуться в кольцо, в двойной спирали ДНК расплетается несколько витков, то в ковалентно-замкнутом состоянии она может компенсировать возникшие структурные проблемы двумя путями: (1) сохранить цепи разведенными на участке, соответствующем по длине расплетенным виткам спирали (релаксированное состояние), или (2) свернуться в сверхспиральную структуру, если ДНК стремится восстановить нормальный ход двойной спирали с числом пар оснований на виток, характерным для В-формы. Сверхспирализованное состояние ДНК, индуцированное расплетанием (недокручиванием) двойной спирали перед замыканием в кольцо, определяется как отрицательное, хотя сверхспираль будет правой. И наоборот, если ДНК перед замыканием в кольцо перекрутить, то возникает положительная сверхспирализация с левой сверхспиралью. Природная ДНК всегда отрицательно сверхспирализована. Если в сверхспирализованной ДНК возникнет разрыв, то свободное вращение цепей в этой точке приведет к ее спонтанному переходу в релаксированное состояние (см. *релаксированная ДНК*). Важным параметром кольцевой замкнутой ДНК является *порядок зацепления* (Lk), который равен числу оборотов одной полинуклеотидной цепи вокруг другой. Порядок зацепления является целочисленным топологическим инвариантом системы, который не зависит от деформации и изгибов ДНК и не меняется до тех пор, пока *сахарофосфатный остов* полинуклеотидных цепей остается целым. Независимая от длины ДНК характеристика — плотность сверхспирализации $\delta = \Delta Lk / Lk_0$, где ΔLk — изменение порядка зацепления, а Lk_0 — это Lk релаксированной формы ДНК. В клеточных ДНК δ обычно варьирует в пределах от $-0,05$ до $-0,07$; знак минус означает изменение порядка зацепления в результате недокрученности двойной спирали перед замыканием цикла (см. *сверхспирализации плотность*). Две формы кольцевой ДНК, которые отличаются только топологическими характеристиками, такими как Lk , называются топоизомерами. Порядок зацепления Lk связан с двумя геометрическими параметрами: Tw — *число витков двойной спирали*, и Wr , который характеризует *число сверхвитков* и связан с формой спиральной оси в пространстве. Топология замкнутой двухспиральной ДНК описывается соотношением: $Lk = Tw + Wr$. В релаксированном ненапряженном состоянии $Lk = Tw$. В отличие от Lk геометрические параметры Tw и Wr могут принимать любые, не только целочисленные значения, в зависимости от пространственной формы ковалентно-замкнутой ДНК. Значения Lk и Tw положительны, а Wr — отрицательны в отрицатель-

ной сверхспирали. Степень сверхспирализации может изменяться под действием малых молекул, в частности тех, которые интеркалируют в двойную спираль и раскручивают ее (см. *интеркаляция*). При определенной концентрации интеркалятора может наблюдаться полная компенсация отрицательных сверхвитков и даже образование положительной сверхспирали ДНК.

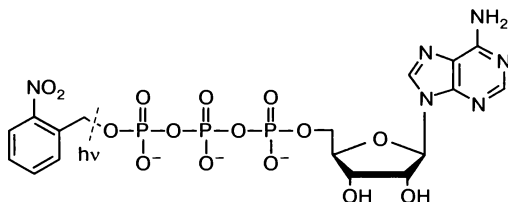
Сверхспирализованное состояние — это биологически активная форма молекул ДНК. Оно подразумевает не только наличие кольцевых замкнутых структур, но и ограничение свободы вращения фрагментов длинных двухцепочечных молекул, например фиксация концов петель ДНК на хромосомном белковом каркасе у эукариот; при этом каждая петля топологически изолирована и может быть сверхспирализована независимо от других. Отрицательная сверхспирализация, которая облегчает расплетание цепей (разрушение пар оснований) в двойной спирали, имеет критическое значение для процессов *репликации* и *транскрипции*, а также способствует образованию неканонических форм ДНК, смягчающих топологический стресс: *Z-ДНК*, крестообразные структуры, *H-ДНК*, *G-квадруплексы*, интеркаляционная ДНК (*i-ДНК*) и др. Эти структуры формируются при складывании расплетенных (неспаренных) участков ДНК определенной нуклеотидной последовательности. Сверхспирализация ДНК играет ключевую роль в структурной динамике нуклеосом. Ферменты, которые переводят ДНК из одной топологической формы в другую, называют *топоизомеразами*. Топоизомеразы играют особенно важную роль в таких процессах, как репликация и упаковка ДНК. Существуют топоизомеразы двух типов. Топоизомеразы типа I, снимающие сверхспирализацию без помощи АТФ, расщепляют одну из цепей ДНК и после ее вращения вокруг нетронутой цепи соединяют «разорванные» концы, используя для этого энергию сверхспирализации; при этом порядок зацепления меняется на 1. АТФ-зависимые топоизомеразы типа II, способные не только снимать, но и добавлять сверхвитки, расщепляют обе цепи ДНК и изменяют порядок зацепления на 2. Эти же очень распространенные ферменты могут образовывать катенаны и завязывать узлы на ДНК. Топоизомеразы, ответственные за поддержание топологического состояния клеточной ДНК, участвуют в важнейших клеточных процессах, таких как *транскрипция*, *рекомбинация*, конденсация и сегрегация хромосом.

Н. Г. Долиная

Сверхспираль. Сверхструктура, которую принимает молекула ДНК при упаковке в виде соленоида в ядре. Сверхспиральная *конформация* может также индуцироваться белками (например, *РНК-полимеразой* при ее движении по цепи). См. *ДНК сверхструктура, сверхспирали плотность*.

Jörn Wolf

Связанные нуклеозиды или нуклеотиды Биологически активные *нуклеозиды* или *нуклеотиды*, которые временно инактивированы, например, посредством светочувствительных *защитных групп*. При воздействии света определенной длины волны (что зависит от природы защитной группы) защита снимается, и биологическая активность молекулы полностью восстанавливается. В случае нуклеотидов молекулы с защитной группой ино-



гда называют светоактивируемыми (или маскированными) нуклеотидами. Впервые защитные группы были введены в *аденозинтрифосфат*, в качестве защиты — *орто*-нитробензильная группа.

Обычно связанные молекулы используют для изучения биологических рецепторов, ионных каналов, центров активации нейронов или механизма действия ферментов, пептидов и нуклеиновых кислот (подробный обзор см. G. Mayer et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, p. 4900 ff.). Связанные молекулы могут использоваться для *контроля трансляции* или *регуляции гена*. Уже было показано, что введенная в клетки связанная *транспортная РНК* остается неактивной до облучения клеток светом, после чего происходит частичное восстановление трансляционной активности.

Valeska Dombos

Связка. См. *линкер*.

Связующий модуль. Структурный модуль в молекуле нуклеиновой кислоты, который связывает две функционально различных структурных единицы (модуля) и аллостерически передает информацию о событиях на одном модуле на другой.

Sabine Müller

2',5'-Связывание. Образование Z-образной связи между мономерами в молекуле РНК. *Фосфодизэфир* образуется при соединении 5'-гидроксильной группы одного *нуклеотида* и 2'-гидроксильной группой другого (соседнего) нуклеотида.

Sabine Müller

Связывание переходного состояния. Действие биохимических *катализаторов* (белков или *рибозимов*) основано на том, что они за счет различных взаимодействий связываются с *переходным состоянием* более прочно, чем с субстратом или продуктом. Свободная энергия связывания комплекса «рибозим + переходное состояние субстрата» частично компенсирует энергию активации реакции, что стабилизирует комплекс и снижает активационный барьер.

Denise Strohbach

«Сдвинутая» пара оснований. Тип спаривания оснований в ДНК, включающий взаимодействие *хугстиновской стороны* одного *пуринового основания* с *сахарной стороной* другого и *транс*-ориентацию гликозидных связей. Термин обычно используется к парам А-А и G-А, соответствующим этим требованиям.

Sabine Müller

Секвеназа. Фермент, используемый при секвенировании по Сенгеру с радиоактивными или флуоресцентно мечеными дидезоксинуклеотидами. Модифицированный вариант ДНК-полимеразы бактериофага Т7, обладающий 5'–3'-полимеразной активностью, но не функционирующий как 3'–5'-экзонуклеаза. С. характеризуется высокой скоростью встраивания нуклеотидов и выраженной процессивностью, т. е. образует стабильный комплекс с ДНК-полимеразой, который после встраивания значительного числа нуклеотидов диссоциирует с матрицы праймера.

Susanne Brakmann

Секвенирование ДНК с помощью масс-спектрометрии. Олигонуклеотиды разделяются по параметру m/z после ионизации либо методом лазерной десорбции/ионизации из матрицы (МАЛДИ; MALDI), либо в электроспрее (ИЭР; ESI) (см. *масс-спектрометрия: методы ионизации*). Некоторые виды масс-спектрометров, например ионные ловушки, время-пролетные масс-анализаторы (TOF), масс-анализаторы ионно-циклотронного резонанса с фурье-преобразованием (ИЦР ПФ; FTICR) или тройные квадрупольные масс-спектрометры, позволяют изолировать разделенные по массе ионы и подвергнуть их дальнейшей фрагментации. Получающиеся фрагменты и, следовательно, тандемные масс-спектры ((МС)ⁿ-спектры) различаются в зависимости от кинетической энергии ионов (E_k) и передаваемой ими энергии. Разрывы связей *сахарофосфатного остова* приводят к образованию специфичных по структуре и последовательности молекулярных ионов. На рисунке показана номенклатура ионных фрагментов, согласно McLuckey с коллегами [(J. Wu and S. A. McLuckey, *Int J Mass Spectrom* 2004, 237, 197), в статье описаны также другие, менее распространенные и применимые варианты номенклатуры]. К методам фрагментации мощным излучением относятся также диссоциация инфракрасным излучением абсолютно черного тела (BIRD) и инфракрасная многофотонная диссоциация (ИКМФД; IRMPD). Активация изолированных ионов с помощью излучения приводит к довольно медленной и мягкой фрагментации, при которой разрушаются только самые слабые связи. Образуются a -(a -B)- и w -ионы. Эти ионные фрагменты ценны для анализа структуры и последовательности, но обычно кроме них присутствуют еще ионные фрагменты, возникшие в результате дополнительной потери оснований. Метод BIRD используют главным образом для определения физико-химических свойств. С помощью ИКМФД обычно удается успешно устанавливать всю последовательность. Оба эти метода можно применять только в ИЦР ПФ масс-спектрометрах.

Наиболее распространенный способ фрагментации — это диссоциация, индуцируемая (активируемая) соударениями (ДИС; CID). Для активации иона-предшественника соударениями используются либо остаточный газ, либо газ, подаваемый короткими вбросами. Обычно в качестве газа для соударений используют азот или благородные газы He, Ar или Xe. В зависимости от кинетической энергии (E_k) и энергии, передаваемой при соударении, по спектрам ионных фрагментов можно определить пути фрагментации. В ионных ловушках или в масс-спектрометрах ИЦР ПФ с диссоциацией методом индуцированной столкновениями диссоциации с непрерывным нерезонансным возбуждением SORI-CID (*sustained off-resonance irradiation*

для секвенирования ДНК произвольным образом расщепляют на короткие *фрагменты* и клонируют в подходящий *вектор*, составляя библиотеку субклонов. Произвольное расщепление достигается разрушением во френч-прессе, продавливанием ДНК через узкую иглу, ферментативным *расщеплением с ДНКазой* I или при обработке ультразвуком. Из библиотеки полученных субклонов случайным образом выбирают рекомбинанты и секвенируют. Используя компьютер с соответствующим программным обеспечением, проводят сравнение отдельных последовательностей и с учетом перекрывания реконструируют исходную последовательность. Такой подход характеризуется значительной избыточностью, степень которой зависит от длины последовательности, средней длины прочтения и числа секвенированных *клонов* (см. *ДНК, последовательности анализ*).

Susanne Brakmann

Секвенирование по Максаму—Гилберту. Метод анализа *последовательности* ДНК (см. *последовательности анализ*). Этот подход основан на химической фрагментации молекул ДНК и напоминает методики анализа первичной структуры белков. В начале секвенирования в целевую ДНК на 5'-конце вводят ^{32}P -метку (см. *радиоактивное мечение*). Затем образец ДНК подвергают модификации, проводя специфичные к различным основаниям четыре реакции гидролиза *фосфодиэфирной связи*. Условия реакции подбирают таким образом, чтобы в каждой реакции модифицировать в среднем одно основание в молекуле. В результате образуется смесь фрагментов, которые обрываются в каждом сайте модифицированного основания. Анализ четырех реакционных смесей проводят путем электрофоретического разделения в полиакриламидном геле с высоким разрешением (см. *гель-электрофорез*), авторадииографии и прочтения последовательности по набору расположенных в виде лестницы фрагментов на геле. Специфические реагенты, используемые для модификации, делают азотистые основания легко отщепляемыми от *сахарофосфатного остова*. Так, диметилсульфат используют для метилирования *пуриновых оснований аденина и гуанина* по положениям N7 (гуанин) или N3 (аденин). Метилирование этих атомов облегчает гидролиз *гликозидной связи*; в молекуле ДНК образуются *сайты, лишенные основания*. Фрагментация *остова* в этих положениях происходит при нагревании раствора. При нейтральных pH гликозидная связь гуанинового нуклеотида значительно более подвержена гидролизу, чем в аденозинфосфате, а связь между аденином и сахаром легко разрушается в кислой среде. Картину электрофореза после гидролиза можно таким образом направить в сторону А- или G-фрагментации, варьируя pH реакционной среды. Пиримидины *цитозин* и *тимин* реагируют с гидразином и затем с пиперидином, что приводит к элиминированию оснований и гидролизу *остова*. Этот тип реакции приводит к накоплению фрагментов, оканчивающихся цитозином и тиминном. Два основания можно разделить при повторении реакции в присутствии 2 М NaCl, который подавляет модификацию тиминовых нуклеотидов. Электрофоретическое разделение продуктов двух *пурин-направленных* (в нейтральной и кислой средах) и двух *пиримидин-направленных* (в присутствии NaCl и без него) реакций осуществляют в четырех различных дорожках, которые соответствуют А, А+G, С+Т и С.

Прочтение последовательности достигается путем сравнения образующихся фрагментов, начиная с самого короткого (с наибольшей электрофоретической подвижностью). Обычно может быть идентифицирована последовательность с максимальной длиной в 250 оснований. К настоящему времени секвенирование методом Максама—Гилберта вытеснено автоматизированными методиками секвенирования на основе ферментативного синтеза ДНК, за исключением редких случаев сложных для этого метода последовательностей. Такие последовательности обычно все же удается секвенировать методом Максама—Гилберта в единичных лабораторных исследованиях, но не в рутинных геномных проектах, генетических скринингах и т. п.

Susanne Brakmann

Секвенирование по Сенгеру. Метод анализа последовательности ДНК (см. *последовательности анализ*). Метод основан на ферментативном синтезе ДНК с использованием в качестве субстрата смеси нормальных нуклеотидов и терминирующих рост цепи *2',3'-дидезоксинуклеотидфосфатов* (ддНТФ). Начиная с *праймера*, который отжигается на одноцепочечной молекуле ДНК, в ходе реакции *удлинения праймера* синтезируется комплементарная копия. Терминирующие рост цепи *нуклеотиды*, используемые при секвенировании по Сенгеру, не имеют 3'-гидроксильной группы, необходимой для присоединения следующего нуклеотида и удлинения *сахарофосфатного остова*. Если вместо соответствующего дНТФ встраивается ддНТФ, элонгация цепи терминируется.

Секвенирование по Сенгеру предполагает проведение четырех реакций, в каждой участвует один из четырех ддНТФ (ддАТФ, ддГТФ, ддЦТФ и ддТТФ), а также радиоактивно меченный нуклеотид (обычно [α - ^{32}P]дАТФ или [α - ^{35}S]дАТФ). В результате реакций образуется смесь *фрагментов* ДНК, терминированных случайным образом по положениям, в которые произошло встраивание дидезоксианалогов. Например, при реакции с ддАТФ цепи терминируются в любом возможном месте, в котором в последовательности есть А. Разделение продуктов реакции проводят при *гель-электрофорезе* в высокоразрешающем полиакриламидном геле с последующей автордиографией, получая «лестницы» в виде набора полос с длиной от праймера до каждого основания А в цепи.

Продукты реакций с остальными тремя аналогами оснований при электрофоретическом разделении дают картины, которые в сочетании с первыми можно прочесть как последовательность ДНК. Образующаяся последовательность комплементарна (см. *комплементарная последовательность*) целевой ДНК-матрице, и в соответствии с правилами образования *пар оснований* может быть конвертирована в исходную последовательность.

Метод Сенгера был значительно усовершенствован и упрощен при использовании вместо радиоактивных *флуоресцентных маркеров*, причем их можно детектировать с сопоставимой разрешающей способностью ($\leq 10^{-15}$ моль ДНК на полосу). В отличие от радиоактивной метки, флуоресцирующие полосы в геле могут быть распознаны сразу в ходе электрофореза с помощью приборов, которые сочетают электрофорез с детектированием флуоресценции. Флуоресцентную метку можно присоединить к праймеру (метод меченого праймера) или к терминирующему нуклеотиду (метод меченого

терминатора). Если пигменты с эмиссией флуоресценции в разных диапазонах присоединены к каждому из четырех терминирующих оснований (А, G, C и T), реакцию со всеми четырьмя ддНТФ можно проводить в одной пробирке, поскольку определение флуоресцентных продуктов происходит независимо.

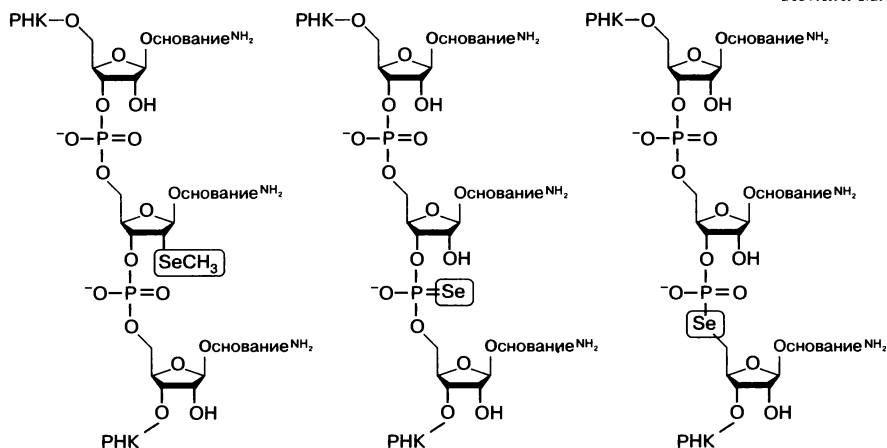
Изначально секвенирование по Сенгеру выполнялось для одноцепочечной ДНК-матрицы, которая была получена при *клонировании* с использованием бактериофага М13. Этот подход был вытеснен применением клонирования целевой ДНК в *плазмидном векторе*. Это технически проще и позволяет провести анализ последовательности в обоих направлениях, используя праймеры, фланкирующие целевую область. Кроме того, встраивание терминирующих нуклеотидов может быть совмещено с *амплификацией* в ходе *полимеразной цепной реакции* (циклическое секвенирование).

Susanne Brakmann

Секвенирование. См. проект «Геном человека», ДНК секвенирование, секвенирование по Максаму–Гилберту, секвенирование по Сенгеру.

Селеномодифицированная РНК Молекулы РНК, несущие модификации, которые содержат селен (например, 2'-метилселеногруппы или селенофосфаты). Представляют собой ценные производные с необычными рассеивающими свойствами и могут быть использованы для фазирования кристаллографической информации при анализе нуклеиновых кислот (см. *кристаллизация нуклеиновых кислот*). 2'-Se-Метильные производные нуклеотидов могут быть сайтспецифически встроены в последовательности при химическом синтезе олигонуклеотидов (см. *олигонуклеотидов синтез*).

Ronald Micura



Селеномодифицированные РНК

Сенсоры на основе трехстороннего соединения. Трехсторонние соединения характеризуются наличием гидрофобных «карманов», образованных не участвующими в *стэкинге парами оснований* на концах отдельных двуцепочечных плеч. Эти «карманы» имеют сходство с другими гидрофобными

рецепторами, например циклодекстранами. Если трехстороннее соединение модифицировано *флуоресцеином*, обнаружить присоединение гидрофобных молекул (к примеру, стероидов) можно по изменению флуоресценции.

Milan Stojanovic, Darko Stefanovic

Сестринские хроматиды. Два идентичных ДНК-дуплекса метафазной *хромосомы*.

Сигма-фактор. Субъединица бактериальной *РНК-полимеразы*, необходимая для узнавания *промотора*. У *Escherichia coli* есть семь различных С.-ф. Фактор σ^{70} (RpoD), предназначенный для генов «домашнего хозяйства», направляет РНК-полимеразу к промоторам, которые содержат характеристические последовательности узнавания (см. *узнавания последовательность*) в положениях -35 и -10 (TTGACA и TATAAT соответственно). В особых условиях альтернативные С.-ф. контролируют экспрессию ряда генов посредством связывания с промоторами, последовательности которых отличаются от консенсусной для σ^{70} . Содержание альтернативных С.-ф. в клетке зависит от условий среды. Например, содержание фактора голодания σ^S (RpoS) повышается в стационарной фазе в условиях ограниченного количества питательных веществ, а фактор σ^{32} (RpoH) индуцируется при *тепловом шоке*.

Franz Narberhaus

Сигнальная последовательность. Последовательность аминокислот (в белке) или *нуклеотидов* (в ДНК или РНК), которая узнается белками клетки или другими *лигандами*. Действие С. п. осуществляется только при непосредственном контакте. Типичным примером С. п. в ДНК некоторых бактерий служит сигнальная последовательность поглощения (USS) — короткая последовательность (9–10 нуклеотидов), распознаваемая определенными бактериями. При наличии природной компетенции у этих бактерий аппарат поглощения ДНК специфически распознает USS при трансформации. *Геномы* этих видов несут множество копий видоспецифичных USS (см. *цис-действующий, компетентность, сигнальная структура*).

Jörn Wolf

Сигнальная структура. Олигонуклеотидная структура, присутствующая в качестве характеристической особенности во многих процессах — *репликации, транскрипции, трансляции*. С. с. может маркировать *ориджин* репликации (точку, в которой инициируется репликация), входить в состав структуры *промоторов, операторов и терминаторов* при *транскрипции*. С. с. играют также важную роль в процессе *трансляции* (см. *сигнальная последовательность*).

Jörn Wolf

Симметричная пара оснований. Неканоническая пара, образуемая одинаковыми основаниями, например, А-А. В симметричной паре ось второго порядка проходит перпендикулярно плоскости оснований, гликозидные связи находятся в транс-положении, а цепи ДНК ориентированы антипараллельно.

Matthäus Janczyk, Н. Г. Долинная

син-Конформация. Определенное взаимное расположение гетероциклического основания и фуранозного остатка, возникающее при вращении основания вокруг гликозидной связи C1-N. В син-конформации, которая является одной из двух предпочтительных конформаций (син и анти), основание нависает над фуранозным кольцом. Континуум поворотных изомеров, соответствующих син-конформации, можно соотнести со значениями торсионного угла поворота вокруг гликозидной связи, κ или χ , равными приблизительно $0 \div 90^\circ$. В растворе нуклеозидов между син- и анти-конформациями наблюдается быстрый равновесный переход; в пиримидиновых нуклеозидах преобладает *анти*-конформации, а в пуриновых нуклеозидах равно вероятны обе конформации. *син*-Конформация может быть предпочтительной в случае присоединения объемной группы к положению 8 пуринов и положению 6 пиримидинов, из-за стерических препятствий для реализации анти-конформации. В канонических двуспиральных ДНК и РНК все нуклеотиды имеют исключительно анти-конформацию. Однако в некоторых неканонических формах ДНК, например в Z-ДНК, пуриновые нуклеотиды принимают син-конформацию.

Klaus Weisz

Синтения. Сохранение порядка *генов* у различных видов.

сиРНК. См. *малая интерферирующая РНК*.

Система рестрикции—модификации. Обычно термин относят к системе, обладающей двумя ферментативными активностями, характерными для *эндонуклеазы рестрикции* и *метилтрансферазы*. Общепринято, что такие системы в норме используются бактериями (и, вероятно, другими прокариотами) для защиты от вирусов, *плазмид* и других *чужеродных ДНК*. *Эндонуклеазы рестрикции* узнают и расщепляют поступающую извне ДНК. Собственная ДНК клетки не расщепляется, поскольку узнаваемые *эндонуклеазами рестрикции* последовательности метилируются *ДНК-метилтрансферазами* и таким образом оказываются защищенными от гидролиза (см. *ДНК метилирование*).

Другое объяснение эволюционного поддержания С. р.-м. основано на наблюдении того факта, что некоторые комплексы *генов*, связанных с рестрикцией и модификацией у бактерий, не могут быть заменены конкурирующими генетическими элементами, поскольку потеря этих комплексов ведет к гибели клетки. Это открытие дало повод предположить, что С. р.-м. могут представлять собой одну из простейших форм жизни наравне с вирусами, *транспозонами* и *эндонуклеазами* генной конверсии. Эта гипотеза *эгоистичных генов* была предложена И. Кобаяши в 1996 г. и в настоящее время подкреплена рядом экспериментальных доказательств и геномным анализом (см. *генома анализ*).

Еще одна гипотеза, объясняющая существование описываемых систем, предполагает, что они способствуют генерации генетического разнообразия. Действительно, в ряде случаев присутствие С. р.-м. обуславливает изменчивость *генома*.

Существуют четыре типа С. р.-м. Они были названы в порядке открытия, хотя С. р.-м. типа II наиболее распространены.

Ферменты С. р.-м. типа I состоят из субъединицы с метилтрансферазной активностью, субъединицы, представляющей собой эндонуклеазу рестрикции, и субъединицы определяющей специфичность узнавания нуклеотидной последовательности (кодируются тремя различными генами). Ферменты С. р.-м. типа II кодируются двумя генами; это два разных фермента — эндонуклеаза рестрикции и метилтрансфераза. Ферменты С. р.-м. типа III также кодируются двумя генами. Один из них отвечает за синтез метилтрансферазы, которая может функционировать самостоятельно или образовывать комплекс с субъединицей, представляющей собой эндонуклеазу рестрикции. Ферменты С. р.-м. типа IV функционируют автономно и расщепляют метилированную ДНК.

Е. А. Кубарева

Системы транскрипции. Модельные системы для осуществления искусственной транскрипции (см. *in vitro* транскрипция). Наиболее популярные системы связаны с применением РНК-полимеразы фага T7. Реже используют РНК-полимеразы фагов T3 и SP6. С. т. на основе эукариотических РНК-полимераз более сложные, но также осуществимы. Если целью является синтез белка, транскрипция *in vitro* часто сопряжена с трансляцией (см. *in vitro* трансляция). Такие системы называют сопряженными системами транскрипции—трансляции.

П. В. Сергеев

Системы трансляции. Воспроизведение синтеза белка в условиях *in vitro* в течение длительного времени было целью исследований многих биохимиков, фактически начиная с 1940-х гг., когда стало возможным синтезировать радиоактивно меченные аминокислоты. По сравнению с прямым введением в организм животных или добавлением в ростовую среду системы синтеза *in vitro* дают возможность контролировать условия и специфическую активность изотопов. Наряду с этим такие методы позволяют использовать измененные или модифицированные компоненты (например, *трансляционные факторы*), *рибосомы* с измененной структурой или неприродные аминокислоты, присоединенные к *транспортным РНК*. С появлением таких возможностей стало доступным изучение механизмов трансляции и, что еще более важно, синтез трудных для выделения белков, одновременный скрининг большого числа белков или продукция токсичных либо содержащих новые аминокислоты полипептидов. Это позволяет избежать использования классической *сверхэкспрессии* в бактериальных клетках с последующей очисткой, поскольку системы трансляции составляют лишь небольшую часть из примерно 3000 белков живой бактериальной клетки. Очистка методами, основанными на аффинности к меткам на целевых белках, превращает выделение целевых соединений в процедуру на несколько часов, а не дней.

Согласно одному подходу работают с полуочищенным препаратом рибосом, смесью ферментов и трансляционных факторов, а другому — воспроизводят условия и исследуют изолированные компоненты. Первые С. т. выделены из тканей и клеток с высокой интенсивностью синтеза белка (печени, ретикулоцитов, прорастающих семян, бактерий в логарифмической фазе роста культуры). До 1990-х гг. выход в таких методиках был сравнитель-

но невысоким, но применение непрерывного *диализа* сделало возможной трансляцию в течение дней, а не часов, и увеличило выход до 1 мг/мл ли-зата. В ходе диализа происходит пополнение компонентов-энергоносителей и аминокислот параллельно с удалением потенциальных ингибиторов реакции. Определенное регулирование параметров реакции (состав солей, варьирование компонентов буфера и их концентраций) повысило выход до количества, которое уже нельзя очистить диализом. Вероятно, стабилизация трансляции *in vitro* достигается действием не единственного фактора, а совокупностью многих факторов. Коммерчески доступны несколько С. т., в том числе наборы для транскрипции–трансляции, в которых требуется добавление лишь продукта *полимеразной цепной реакции* или *вектора* с клонированным целевым *геном* для индукции *транскрипции матричной РНК* за счет эндогенных *РНК-полимераз*, что сопровождается синтезом белка (см. *in vitro* трансляция).

Stefan Vörtler

Сканирующая силовая микроскопия (ССМ). Метод, в котором поверхность физически сканируется с целью создания топографических изображений молекул [также называется атомной силовой микроскопией (АСМ) или сканирующей зондовой микроскопией (СЗМ)]. В идеале можно достичь разрешения на уровне атомов, но на биологическом материале это, как правило, не удается. Образец устанавливается на подставку, которая контролируется вдоль осей *X*, *Y* и *Z* тремя пьезоэлементами. Эластичный зонд (кантилевер) с тонкой иглой (диаметром 3–10 нм) приводится в контакт с поверхностью, и на обратную сторону иглы подается лазерный луч. Затем лазерный луч отражается на фотодиод, который регистрирует положение луча.

При движении подставки с объектом вдоль оси *X* игла регистрирует разницу в высоте, на которую сдвигается кантилевер, и игла натывается на препятствие. Следовательно, положение лазерного луча меняется. В контактном режиме (постоянной высоты) топография образца оценивается просто по отклонению лазерного луча, который, в свою очередь, зависит от изгиба кантилевера. При исследовании биологических образцов удобнее контактный режим постоянной силы, поскольку при этом лучше сохраняется объект. В данном случае отклонение лазерного луча также регистрируется фотодиодом, но сразу же по механизму обратной связи передается на кантилевер через пьезоэлемент, смещающий подставку по оси *Z*, так что сила взаимодействия иглы с образцом остается постоянной, т. е. изгиб кантилевера мгновенно компенсируется движением подставки по оси *Z*.

По окончании сканирования по оси *X* подставка перемещается на один шаг по оси *Y* и сканируется следующая линия по оси *X*. Изображения состоят, например, из 512 *X*-линий, каждая из которых содержит 512 точек. В наиболее широко используемых приборах сканирование осуществляется со скоростью 1–2 Гц (линий в секунду). При контактном режиме постоянной силы и постоянной высоты игла всегда находится в контакте с образцом и может повредить его. На самом деле большие силы сейчас используются для иссечения образцов, например для вырезания участков *хромосом*.

Для визуализации биологических объектов наименее деструктивен полуконтактный (колебательный) режим. При этом стимулируются осцилляции кантилевера с частотой, близкой к резонансной (для разных кантилеверов резонансные частоты варьируют от одного до нескольких сотен кГц). Непосредственный контакт с образцом, таким образом, сводится к минимуму. Кантилеверы свободно осциллируют с амплитудой около 100 нм. Как и в контактном режиме, отклонение лазерного луча регистрирует изменения в топографии и дает рельефную картину образца. При работе с материалами, различными по своим свойствам, например по мягкости, фаза осцилляции может изменяться, позволяя отличать участки одной высоты, но разного состава. Некоторые материалы могут приглушать амплитуду колебаний, информация об этом непрерывно поступает от фотодиода обратно к *Z*-пьезоэлементу, что позволяет поддерживать постоянную амплитуду в ходе измерения.

В самых простых задачах образцы *биомолекул* или смеси реагирующих биомолекул готовят в соответствующем буфере, по возможности разбавленном для уменьшения концентрации соли, затем раствор распределяют по плоской поверхности, промывают водой и высушивают. Хорошими плоскими поверхностями являются свежие слюды, обработанное силанами стекло или стекло, покрытое золотом. В сканирующем силовом микроскопе (ССМ) образцы можно изучать без обработки.

Существенное преимущество ССМ заключается в возможности изучать отдельные молекулы в условиях, близких к физиологическим. Образец помещается во влажную камеру, установленную на пьезоподставку, кантилевер погружается в жидкость, и измерение происходит по описанной выше схеме. При измерении в жидкости необходимо следить за тем, чтобы молекулы были плотно прикреплены к поверхности, иначе они будут сдвигаться кантилевером даже в полуконтактном режиме. Активированная плазмой слюда в сочетании с соответствующими двухвалентными катионами подходит для нуклеиновых кислот и белков. Силанизированное стекло тоже хороший субстрат для нуклеиновых кислот, но может слишком сильно связывать белки.

Сканирование сухих образцов и образцов под слоем жидкости позволяет определить *сайты связывания* белков с нуклеиновыми кислотами и, в некоторой степени, структуры комплексов белок–нуклеиновая кислота и белок–белок.

Измерение в жидкой среде может дать представление о ферментативных реакциях в реальном времени, однако в подобных исследованиях скорость сканирования кантилевером ограничена.

Этот метод можно сочетать с обычной световой или флуоресцентной микроскопией области образца для исследования с помощью ССМ.

Wolfgang Nellen

Сканирующая силовая спектроскопия (ССС). Специализированный метод *сканирующей силовой микроскопии* (ССМ) для измерения внутримолекулярных (например, разворачивание белка) и межмолекулярных (например, взаимодействие белок–белок или белок–нуклеиновая кислота)

сил. Как и в ССМ, изгиб небольшого кантилевера с тонкой иглой отслеживается с помощью лазерного луча, отражающегося от кантилевера на фотодиод. В отличие от ССМ здесь кантилевер движется только по оси *Z*. При анализе межмолекулярных взаимодействий один участник реакции связан с иглой, в то время как второй прикреплен к поверхности, зафиксированной на пьезоподставке. Игла приближается к поверхности до тех пор, пока не фиксируется достижение контакта (по изгибу кантилевера и, следовательно, отклонению лазерного луча, сфокусированного на его обратной стороне). Затем игла поднимается, и, если молекулы на конце иглы и на поверхности взаимодействуют, на кантилевер будет действовать нарастающая сила и отклонять его. Прерывание взаимодействия проявится в исчезновении этой силы, и кантилевер быстро возвратится на исходную нулевую позицию. Разделение веществ может происходить в несколько стадий, что будет заметно по нескольким периодам нарастания, а затем уменьшения силы.

При измерении внутримолекулярных сил исследуемую молекулу обычно модифицируют по обоим концам специальной группой, чтобы обеспечить правильную ориентацию на поверхности и определенный участок прикрепления иглы кантилевера. На игле закрепляется соответствующий рецептор для специфического связывания меченой молекулы (например, *биотин–стрептавидин*). При приближении кантилевера к поверхности молекула связывается с иглой. Когда в дальнейшем кантилевер поднимают от поверхности, молекула движется вместе с иглой и вытягивается. Тогда внутримолекулярные силы изгибают кантилевер, пока поднимающая сила не уравнивается, а затем не превысит действие структурных сил, формирующих нестабильные части молекулы. Вынужденное раскручивание в этой области молекулы продолжает разворачивать молекулу далее без приложения внешних сил со стороны кантилевера, пока деформация не достигнет следующего стабильного домена разворачиваемой молекулы. В итоге субстрат полностью вытягивается и, наконец, разрушается последняя связь с кантилевером или поверхностью. Силы, необходимые для разворачивания или разрушения связи, рассчитывают из измерений изгиба кантилевера и константы упругости (величина, характеризующая гибкость конкретного кантилевера). Таким образом возможна регистрация столь малых сил, как ~ 15 пН.

Силы, вызывающие разворачивание или разрушение, зависят от скорости подъема кантилевера (скорость нагружения = скорость подъема \times эластичность молекулы). При малых скоростях нагружения флуктуации температуры в существенной мере способствуют преодолению энергетического барьера, необходимого для разделения молекул, поэтому измеряемая сила меньше. При больших скоростях нагружения необходимы большие силы для разворачивания или разрушения. Характеристики связывания различных белков с исследуемыми молекулами удастся измерить только в режиме большой скорости нагружения.

Существуют приборы, сочетающие ССМ и ССС. Они позволили впервые создать топографическое изображение и затем помещать специфичные молекулы на поверхность с высокой точностью.

Wolfgang Nellen

Слайсер. Предполагаемый белок, обладающий эндонуклеолитической активностью при расщеплении *матричной РНК* при *РНК-интерференции*. Белки семейства Argonaute обладают активностью С.

Nicolas Piganeau

Слитый ген. Полученный методами генной инженерии *ген*, в котором объединены (слиты) две *открытые рамки считывания*, что приводит к синтезу рекомбинантного химерного белка. Наиболее часто используемые белковые компоненты для получения С. г. — глутатион-S-трансфераза *Escherichia coli* (для выделения и очистки рекомбинантных белков) и модифицированный зеленый флуоресцентный белок (маркер).

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Слот-блот. Методика, позволяющая связать ДНК или РНК с мембраной. *Олигонуклеотид* фиксируют на мембране при УФ-облучении или нагревании. *Гибридизация* меченой ДНК или РНК (см. *мечение*), комплементарной целевому олигонуклеотиду, позволяет детектировать анализируемую ДНК или РНК.

Irene Drude

Случайная ДНК. ДНК с неопределенной структурой (см. *пул последовательностей*).

Случайная полимеразная цепная реакция (сПЦР). Модификация *полимеразной цепной реакции*, которая позволяет осуществить *амплификацию* случайных последовательностей (см. *случайная ДНК*) с *матрицы*, сложных смесей ДНК или целых клеток. Возможно создание целых библиотек *кДНК*, пригодных для последующего скрининга со специфическими зондами ДНК (см. *нуклеиновая кислота-зонд*). Существует несколько вариантов проведения сПЦР: с единственным *случайным праймером* (происходит линейное накопление продукта) или ПЦР при нормальных условиях (экспоненциально). Обычный вариант сПЦР — амплификация с *праймером*, часть которого имеет определенную последовательность, а другая часть — вырожденную. Включение вырожденных районов в последовательность праймера делает возможным его отжиг на множестве *сайтов связывания* в целевой матрице (или матрицах). Вырожденные праймеры образуют продукты ПЦР с различной длиной и последовательностью, покрывающей значительную часть целевой ДНК. Часто используется для *амплификации* преобладающей ДНК или *вставочных последовательностей*, последовательность и длина которых неизвестна. Менее распространенный вариант сПЦР, когда реакцию проводят при низких температурах (например, 30 °С). При этом праймеры отжигаются на матрице неверно, приводя к амплификации продуктов сПЦР.

David Loakes

Случайная последовательность. См. *случайная ДНК*, *случайная РНК*, *случайный олигонуклеотид*.

Случайная РНК. Молекулы РНК с неопределенной последовательностью (см. *пул последовательностей*).

Случайный дрейф. Изменение в частотах *генов*, происходящее от поколения к поколению из-за случайного выбора при размножении.

Случайный мутагенез. Используется для генерации *мутаций* в неизвестной последовательности ДНК. Используется, например, для получения мутантной *ДНК-библиотеки*.

Bettina Appel

Случайный олигонуклеотид. *Олигонуклеотид*, состоящий из случайных нуклеотидов.

Случайный праймер. Короткий сегмент *одноцепочечной ДНК*. Эти *олигонуклеотиды* длиной всего несколько нуклеотидов представлены случайной комбинацией оснований (например, для октамеров, т. е. длина восемь нуклеотидов, в смеси возможно $4^8 = 65536$ комбинаций). Так как присутствуют все возможные комбинации, С п. связываются с любым участком ДНК.

Matthäus Janczyk

Смещение полосы. Наблюдение за миграцией определенной нуклеиновой кислоты в виде полосы в геле при *гель-электрофорезе* (см. *бэнд-шифт*). В классическом виде основной причиной С. п. является присоединение *ДНК-связывающих белков*. К числу таких случаев относят многочисленные примеры присоединения *транскрипционных факторов* и *репрессоров* к специфическим *сайтам связывания* на *двуцепочечной ДНК*; в этих сайтах происходит контроль *экспрессии генов*. Наряду с *ДНК-белковыми взаимодействиями*, С. п. может быть вызвано иными взаимодействиями между макромолекулами и мотивами в структуре нуклеиновых кислот. К ним относятся ассоциации между антителами и комплексами «белок — нуклеиновая кислота» (так называемое *сверхсмещение*), связывание белков с *одноцепочечной ДНК*, а также с одно- и *двуцепочечной РНК*. Чтобы детектировать С. п., необходимо определенное минимальное *сродство* связывающихся компонентов в условиях эксперимента. На экспериментальном уровне С. п. не дает надежного доказательства существования взаимодействий белка и нуклеиновой кислоты, нуждается в осторожной интерпретации и адекватном контроле для оценки специфичности связывания.

Georg Sczakiel

Смысловая цепь. Цепь молекулы ДНК, которая имеет ту же последовательность нуклеотидов, что и транскрибируемая *матричная РНК*. Носит также название *кодирующей цепи*, так как содержит последовательность *кодонов* (нуклеотидных триплетов), которые взаимодействуют с *антикодонами* молекул *транспортных РНК* в ходе *трансляции*, определяя первичную последовательность образующегося белка.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Смысловой кодон. Любой *кодон* в открытой *рамке считывания* молекулы *матричной РНК*, который кодирует встраивание аминокислоты в полипептид *рибосомой* (см. *трансляция*). К С. к. не относятся *стоп-кодоны* (или *нонсенс-кодоны*), если они находятся в пределах рамки считывания.

Stefan Vörtler

Снаряженная тРНК. *Транспортная РНК* с этерифицированной аминокислотой на *ССА-«хвосте»* (см. *аминоацил-тРНК-синтетаза*).

Снурп. Обиходный термин для обозначения малого ядерного уридин-богатого рибонуклеопротеина (от англ. **s**mall **n**uclear **r**iboprotein). Используется также применительно к сплайсосомным *малым ядерным рибонуклеопротеинам* (см. *сплайсосома*, *сплайсосомный РНП*).

Bernd-Joachim Benecke

Снурпосома. Термин впервые использован для обозначения гранул, содержащих *малые ядерные рибонуклеопротеины* в ядрах яйцеклеток лягушек и тритонов. Гранулы, содержащие только U1-*малую ядерную РНК* (мяРНК), были названы А-С. В-С. содержат все мяРНК, участвующие в сплайсинге, кроме U7. Третий класс С., называемых С-С., содержат мяРНК U7. В и С часто ассоциированы, и их комплекс имеет сферическую форму.

Как показывают недавние исследования, В-С. содержат *РНК-полимеразу II*, что дает им возможность осуществлять *транскрипцию* и процессинг. Поэтому для них был предложен термин «Pol II-транскриптосомы». С-снурпосомы — основной компонент клеточных структур, называемых тельцами Кахала. Предполагается, что части РНК-полимеразы II собираются в тельцах Кахала и затем посылаются в В-С.

Jörn Wolf

Соединение. См. *спиральное соединение*, *трехстороннее соединение*, *четырёхстороннее соединение*, *структура Холлидея*.

Соединяющая петля. Структурный мотив, присутствующий в молекулах *разветвленных нуклеиновых кислот*. Разветвленные нуклеиновые кислоты состоят из двух спиральных плеч, состыкованных в точке *соединения*. Последняя часто содержит несколько неспаренных оснований, соединяющих спиральные плечи и образующих *петлю* (см. *трехстороннее соединение*, *РНК структура*).

Sabine Müller

Созревание. См. *РНК-созревание*.

Спейсер. Как правило, С. связывает две функционально различные части молекулы. Обычно С. сами по себе химически нейтральны, например полиэтиленгликолевые или алифатические цепи. Термин также может быть использован для обозначения *спейсерной ДНК*. Спейсерная ДНК в геномах вирусов и эукариот обычно представляет собой участки ДНК, разделяющие два специфических функциональных элемента, например сайты связывания белков или функциональные гены. С. обеспечивают корректное и независимое функционирование двух разделяемых участков ДНК.

Valeska Dombos

Спейсерная ДНК. Сегменты ДНК, разделяющие области, кодирующие разные функциональные РНК. В основном термин употребляется для обозначения протяженных последовательностей ДНК, разделяющих гены *рибосомных РНК* (рРНК), а соответствующую РНК можно обнаружить в

первичных рРНК транскриптах (см. *первичный транскрипт*). С. ДНК присутствует в *геноме* в большом количестве копий, транскрибируется вместе с рРНК и удаляется при процессинге рРНК. Она может включать функциональные элементы (см. *спейсер, спейсерная тРНК*).

Jörn Wolf

Спейсерная тРНК. Гены *транспортной РНК*, присутствующие в спейсерных участках между генами *рибосомных РНК* в первичном транскрипте (см. *спейсерная ДНК*).

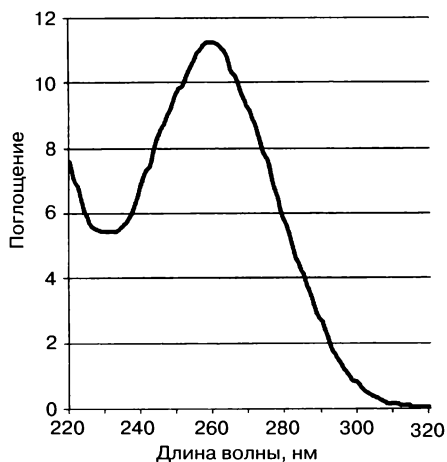
Спектроскопия кругового дихроизма (КД). Метод измерения различия в поглощении левого и правого циркулярно поляризованного света по сравнению с правым, которое возникает в случае хиральных молекул, структурной асимметрии или асимметричного окружения. Одним из источников хиральности в *нуклеозидах* является атом углерода в молекуле *рибозы*, к которому присоединено гетероциклическое азотистое основание. Вклад этого фактора, однако, менее существенен, чем вклад спиральности молекул нуклеиновых кислот. Спектроскопия КД чрезвычайно чувствительна к изменениям взаимного расположения оснований и потому весьма удобна для изучения конформационных переходов *нуклеиновых кислот* в растворе, таких, например, как *спираль—клубок*, В—Z-переходы, образование *триплексов* или гуаниновых *тетраплексов*.

Klaus Weisz

Спектрофотометрия в УФ-области спектра. В методе используется излучение ультрафиолетового диапазона электромагнитного спектра. На спектрофотометре измеряется интенсивность света, проходящего через образец (I), по сравнению с интенсивностью падающего излучения (I_0). Измерение оптического поглощения при 260 нм часто используется для определения концентрации нуклеиновых кислот; сильное поглощение обусловлено присутствием в нуклеиновых кислотах остатков азотистых оснований (см. *спектры поглощения азотистых оснований*). *Оптическая плотность* подчиняется *Ламберта—Бэра закону*, т. е. изменяется линейно с увеличением расстояния. Исследования зависимости поглощения от температуры показали существование *гиперхромного эффекта*, т. е. возрастания коэффициента поглощения вследствие нарушения стэкинга оснований нуклеиновых кислот (см. *стэкинг оснований*). Таким образом, структурные изменения некоторых оснований, взаимодействующих путем стэкинга, также влияют на величину коэффициента поглощения. Коэффициент поглощения зависит от наступления структурных изменений в каждом основании и от взаимной ориентации соседних оснований.

Klaus Weisz

Спектры поглощения нуклеиновых кислот. Используются для определения концентрации ДНК и РНК в растворе. Молекулы ДНК и РНК поглощают ультрафиолетовый свет в диапазоне 250–270 нм (максимум поглощения 260 нм) благодаря азотистым основаниям, имеющим ароматическую природу. Согласно *закону Ламберта—Бэра*, существует линейная зависимость между концентрацией и поглощением света. Чем выше *оптическая плот-*



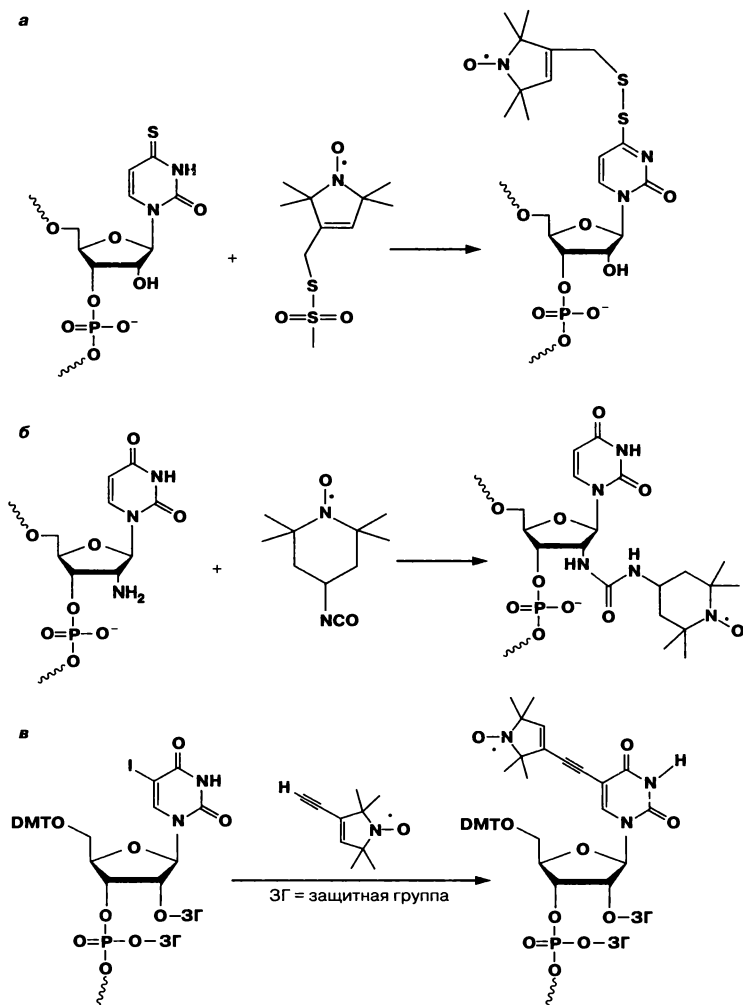
Спектр поглощения фрагмента РНК длиной в 41 нуклеотид

ность, тем выше концентрация нуклеиновой кислоты в образце. Чтобы определить концентрацию растворов нуклеиновых кислот, образец подвергают облучению ультрафиолетовым светом при 260 нм, и с помощью фотодетектора измеряют *оптическую плотность*. Ниже приведен образец спектра фрагмента РНК длиной в 41 нуклеотид.

Если известен *молярный коэффициент экстинкции* образца, может быть рассчитана его концентрация. Для *оптической плотности*, равной 1, существуют некоторые фиксированные значения, относящиеся к нуклеиновым кислотам: (а) это значение соответствует концентрации двуцепочечной ДНК, равной 50 мкг/мл; (б) 37 мкг/мл для одноцепочечной ДНК; (в) 40 мкг/мл для РНК. Помимо этого, спектрофотометрические измерения позволяют оценить чистоту нуклеиновых кислот. Определение величины поглощения при 230 нм позволяет обнаружить примеси таких веществ, как мочевины, ароматические соединения или белки, хотя и сами нуклеиновые кислоты слабо поглощают в области 230 нм из-за ароматичности азотистых оснований. Белки обладают максимумом поглощения при 280 нм. Таким образом, отношение значений оптической плотности при 260/280 нм можно использовать для оценки загрязнения образца нуклеиновых кислот белками. Величина этого отношения, превышающая 1,9 для ДНК и 1,8 для РНК, — показатель того, что образец нуклеиновой кислоты не содержит белков.

Bettina Appel

Спиновая метка. Небольшие стабильные органические молекулы, несущие неспаренный электрон. Они ковалентно связаны с РНК, чтобы сделать ее доступной для изучения методом *электронного парамагнитного резонанса спектроскопии* или в спектре *ядерного магнитного резонанса* для погашения сигналов от ядер, расположенных рядом со спиновой меткой. В качестве метки широко используются нитроксиды, термодинамическая и кинетическая стабильность которых обеспечивается локализацией неспаренного электрона в NO-группе. Следовательно, их можно использовать как в водном растворе буфера, так и в воздушной среде, и хранить без разрушения



Примеры различных спиновых меток и соответствующих модификаций РНК при их сайтспецифическом связывании: *a* — тиюридин и метантиосульфатнитроксид, *б* — 2'-аминсахарид и изоцианатнитроксид и *в* — 5-иодуридин и ацетиленнитроксид

в замороженном состоянии в течение месяцев. Чтобы получить возможность ковалентно присоединять нитроксиды к РНК, получают их производные с *изоцианатом*, *ацетиленом*, *иодацетамидом* или *метантиосульфатом*. Многие такие нитроксиды или их предшественники коммерчески доступны. Спиновое мечение наиболее эффективно, если оно производится сайт-специфическим образом, так как в этом случае известно, куда прикрепится метка. Если РНК достаточно мала, чтобы быть синтезированной на автоматическом РНК-синтезаторе, можно вставить меченый фосфорамидит в нужную позицию в РНК (см. олигонуклеотидов мечение, *олигонуклеотидов синтез*). В другом методе нуклеотиды, содержащие модификации, которые селективно реагируют со спиновой меткой, встраиваются в РНК в ходе

автоматизированного синтеза и затем реагируют со специфичной меткой. На рисунке показаны три примера.

Большие РНК можно метить ферментативным встраиванием тиюоснования на 3'-конец, проведя затем реакцию тиогруппы с иодацетамидным производным нитроксида. 5'-Конец можно метить после ферментативной элонгации РНК нуклеотидом, несущим тиофосфатную группу, которая затем реагирует с иодацетамидной меткой. Мечение длинных РНК в середине последовательности достигается путем синтеза небольших РНК соответствующей последовательности, их мечения и последующего лигирования этого меченого участка РНК с остатком последовательности (см. *лигирование*). Обычно необходимо следить за тем, чтобы метка не нарушала сворачивание РНК (см. *структуры РНК*). В данном отношении очень полезно иметь выбор из набора меток, связывающихся с различными сайтами РНК, среди которых некоторые метки прикрепляются к РНК через жесткий линкер, что хорошо для измерений методом PELDOR (см. *электронный парамагнитный резонанс*), в то время как остальные соединены через более гибкие линкеры, что лучше в случае сложной укладки РНК.

Olav Schiemann

Спираль. См. *двойная спираль ДНК*.

Спиральная стопка. См. *торцевое взаимодействие*.

Спиральное соединение. Структурный мотив в молекулах ДНК и РНК. Соединения образуются как точки встречи двуцепочечных плеч. Наиболее простое С. с. образовано только двумя спиральными плечами, которые встречаются в *соединительной петле*. В молекулах РНК встречаются соединения, образующиеся при стыковке трех (см. *трехстороннее соединение*), четырех (см. *четырёхстороннее соединение*) или даже большего числа спиральных плеч.

Sabine Müller

Спиральный стэкинг. См. *торцевое взаимодействие*.

Спираль—петля—спираль (HLH от англ. *helix—loop—helix*) мотив. Мотив, найденный в структуре молекул белков, которые участвуют в регуляции активности *генов*. Состоит из короткой α -спирали, соединенной через петлю со второй, более длинной α -спиралью. Не следует путать этот мотив с мотивом *спираль—поворот—спираль*. Гибкость петли позволяет одной спирали отгибаться и вновь прилегать ко второй. Двухспиральная структура связывается одновременно с ДНК и с HLH-мотивом второго HLH-белка. Как и в случае белков с лейциновой молнией, второй HLH-белок может быть таким же, как и первый (образуется гомодимер), или другим (образуется *гетеродимер*). В любом случае обе участвующие в димеризации α -спирали образуют специфический контакт с ДНК. Некоторые HLH-белки не имеют α -спирального домена, ответственного за связывание с ДНК. Эти усеченные молекулы функционируют как негативные регуляторы, так как они сохраняют способность образовывать гетеродимеры с полноразмерными HLH-белками, но образующиеся димеры не могут прочно связываться

с ДНК, имея лишь половину от необходимой контактной поверхности. Это дает возможность осуществлять селективное спаривание среди представителей обширного семейства *транскрипционных факторов*, участвующих в определении судьбы клетки.

Tobias Restle

Спираль—поворот—спираль мотив. Структурный мотив в молекулах белков, состоящий из двух спиралей (узнающей и стабилизирующей), которые разделены короткой петлей. Впервые описан в бактериальных белках, но позже обнаружен в сотнях *ДНК-связывающих белков* у эукариот и прокариот. Две α -спирали находятся под фиксированным углом, в первую очередь за счет взаимодействия между ними. С-концевая спираль называется узнающей, поскольку она конформационно соответствует *большому желобку* молекулы ДНК. Аминокислоты в ее составе могут различаться от белка к белку и играют важную роль в распознавании специфических последовательностей ДНК, с которыми связывается белок.

Tobias Restle

Сплайсинг. См. *РНК сплайсинг*.

Сплайсосома. Структура, состоящая из РНК и белков, катализирует реакцию *сплайсинга* молекулы *пре-мРНК*. Термин С. относится к «большой С.», которая удаляет *интроны* U2-типа. Малая же сплайсосома удаляет интроны U12-типа (см. *атаc-сплайсинг*). С. образуется в ходе постепенной сборки *U-мяРНП* на *сайте сплайсинга* пре-мРНК. На первой стадии U1-мяРНП связывается на 5'-сайте сплайсинга интрона благодаря спариванию U1-мяРНК и пре-мРНК. Образующийся Е-комплекс иногда называют «комплексом обязательства», поскольку с момента его образования пре-мРНК должна пройти все стадии сплайсинга. На второй (на этот раз АТФ-зависимой) стадии U2-мяРНП связывается с областью *точки ветвления* за счет образования пар оснований в области 3'-конца интрона. Образующаяся пре-С. называется А-комплексом и характеризуется пространственной близостью 5'- и 3'-сайтов сплайсинга, что обеспечивается белок-белковыми взаимодействиями между U1- и U2-мяРНП. Затем 25S-комплекс трех *снурпов* (в его составе U4/U6.U5-мяРНП) проникает в пре-С. и содействует образованию зрелой С. В процессе сборки С. происходит несколько различных конформационных изменений, требующих затраты АТФ. Кроме того, эти конформационные изменения сопряжены с образованием альтернативных пар оснований РНК (см. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*) и приводят к возникновению С-комплекса. Последний представляет собой каталитически активную форму С. (см. *рибозим*). В результате *катализа* происходит образование сплайсированной *матричной РНК* и интрона (в форме *лариата*, впоследствии деградирующего). С. распадается, и ее свободные U-мяРНП становятся доступными для нового раунда сплайсинга.

Две последовательных реакции *трансэтерификации* в ходе сплайсинга зависят от каталитических свойств РНК. 5'-Сайт сплайсинга первоначально образует пары оснований с U1-мяРНК. Затем это взаимодействие сменя-

ется спариванием с U5- и U6-мяРНК. В 3'-сайте сплайсинга нуклеотид А в точке ветвления оказывается выпетленным наружу (активированным) за счет образования пар между U2-мяРНК и смежными с ним нуклеотидами пре-мРНК. В триснурповом комплексе существуют пары U4- и U6-мяРНК. Перед первой стадией трансэтерификации это взаимодействие нарушается и сменяется спариванием между U6- и U2-мяРНК, что представляет собой важную каталитическую стадию. Показано, что U5-мяРНК взаимодействует с последовательностью пре-мРНК одновременно и в 3'-, и в 5'-сайтах сплайсинга. В результате все эти РНК—РНК-взаимодействия предотвращают преждевременное высвобождение обоих концов экзона и обеспечивают верно ориентированное вхождение интермедиатов в каталитический центр С.

Помимо взаимосвязанных компонентов С., ее сборка требует также других факторов. Так, при биохимическом фракционировании и анализе комплементации при постановке сплайсинга *in vitro* были выделены «не-мяРНК-факторы сплайсосомы». Эти факторы пока еще изучены недостаточно.

Bernd-Joachim Benecke

Сплайсосомная РНК. Группа малых ядерных РНК, вовлеченных в сплайсинг пре-мРНК. Состоит из пяти U-мяРНК (U1-, U2-, U4-, U5- и U6-мяРНК). U-мяРНК длиной 106–187 нуклеотидов имеют общий уридин-богатый Sm-мотив для связывания сплайсосомных белков. За исключением U6-мяРНК (синтезируется РНК-полимеразой III), все прочие С. РНК синтезируются РНК-полимеразой II. У транскрибируемых этой полимеразой U-мяРНК присутствует особый кэп — *триметилгуанозин* кэп. В то же время 5'-конец, III U6-мяРНК, синтезируемых РНК-полимеразой, несет γ -*монометилфосфат*. С. РНК богато представлены: у млекопитающих их число достигает 10^6 копий на клетку. В функциональном состоянии С. РНК ассоциированы со специфическим набором белков, образуя *сплайсосомный РНП*.

Bernd-Joachim Benecke

Сплайсосомные белки. См. *сплайсосомные РНП, сплайсома*.

Сплайсосомный РНП. *Малый ядерный рибонуклеопротеин* (мяРНП), состоящий из одной *сплайсосомной РНК* и набора белков (от 10 для U1-мяРНП до 19 для U2-мяРНП). Эти белки различаются по массе, которая варьирует от 9 до более чем 200 кДа. В целом известны две группы белков в составе мяРНП. Одна группа состоит из семи коровых белков Sm, которые специфически распознают Sm-мотив сплайсосомной РНК. Вторая группа включает в себя 3–12 дополнительных белков, специфичных для каждой частицы мяРНП. В функциональном состоянии мяРНП могут быть мономерными (U1- и U2-мяРНП) или образовывать гетероолигомерные структуры (например, *триснури* U4/U6.U5-мяРНП).

Bernd-Joachim Benecke

СПЦР. См. *случайная полимеразная цепная реакция*.

Сродство к связыванию. Сила (см. *энергия связывания*) нековалентного химического связывания между *макромолекулами*, определяемая *константой диссоциации* образующегося комплекса.

ССМ. См. *сканирующая силовая микроскопия*.

ССС. См. *сканирующая силовая спектроскопия*.

Стартовый кодон. Точка начала *трансляции* — первая аминокислота, которая будет включена в растущий полипептид. Обычно это *кодон* AUG, хотя с существенно меньшей частотой встречаются также CUG и UUG (у эукариот также GUG и AUU). У *Escherichia coli* частота встречаемости составляет 90% для AUG, 8% для GUG и 2% для UUG. Все они распознаются одной и той же *инициаторной тРНК* (тРНК_и) — специализированной тРНК^{Met}, несущей *антикодон* CAU и у прокариот подвергающейся формилированию после аминоацилирования (см. *формилметионил-тРНК*). Для этого распознавания важно образование «*качающихся*» *пар оснований*, а варьирование последовательности С. к. является стратегией для регуляции уровня биосинтеза белка (см. *контроль трансляции*).

С. к. AUG необходим, но недостаточен для *инициации трансляции* — обязательно также присутствие специфических последовательностей *выше* него. У бактерий последовательность Шайна–Дальгарно (например, AGGAGG; см. *Шайна–Дальгарно последовательность*), богатая пуринами, примерно на 10 нуклеотидов *выше* С. к.; она позволяет стабилизировать взаимодействие РНК–РНК с *комплементарной последовательностью* в 30S-*субъединице рибосомы* и осуществить последующую сборку рибосомы. У эукариот на молекуле *матричной РНК* расстояние до 5'-*кэпа* — параметр, определяющий узнавание С. к. и взаимодействие с *факторами трансляции*. Это отличается от ситуации со *стоп-кодоном* и позволяет использовать AUG как единственный метиониновый кодон также во время *элонгации*.

Stefan Vörtler

Статистический клубок. *Топология полимерной молекулы* (например, нуклеиновой кислоты), характеризующаяся статистическим распределением геометрических форм мономерных единиц в результате их случайной ориентации. У молекул нуклеиновых кислот конформацию С. к. часто принимают области, не имеющие *вторичной структуры*. *Денатурация* нуклеиновых кислот при нагревании приводит к переходу из двойной спирали в С. к. (см. *температурное плавление*).

Sabine Müller

Стебель–петля структура. Структурный мотив, который возникает, когда одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты перегибается и образует комплементарную двойную спираль (стебель), закрытую *петлей*. Очень распространенный мотив в структуре РНК, обычно заканчивающийся *тетра-петлей*. Такие структуры также называют шпилькой или *шпильчатой петлей*.

Sabine Müller

Стоковой транскрипции метод. *Транскрипция in vitro*, при которой РНК-полимераза синтезирует *транскрипт*, пока не диссоциирует с ДНК-матрицы, так что конец транскрипта совпадает с концом матрицы.

Стоп-кодон. Сигнал остановки *трансляции*. Универсальный *генетический код* содержит три *кодона*, которые не кодируют аминокислот: UAG (см. *ам-*

бер-кодон), UGA (см. *опал-кодон*) и UAA (см. *охра-кодон*). Методами классической генетики они распознаются после мутагенной обработки, вызывающей преждевременную *терминацию*. Хотя природа соседних нуклеотидов, предположительно, тоже оказывает влияние на эффективность терминации, С.-к. достаточно эффективны для прерывания биосинтеза белка. Вызвать появление С.-к. в *кодирующей последовательности*, нарушая тем самым нормальную экспрессию (см. *гена экспрессия*), способны также спонтанные *мутации* (см. также *нонсенс — мутации*). Быструю деградацию таких мРНК (так называемый нонсенс-опосредованный распад), а также мРНК, не имеющих С.-к. на 3'-конце, обеспечивают специальные механизмы. В случае жизненно важных белков у клетки есть способы исправить положение, в том числе за счет *супрессорных мутаций* (например, *супрессорных транспортных РНК*) производить минимальное количество белка и обеспечивать тем самым жизнеспособность клетки. Эти тРНК — производные функциональных тРНК, но несут мутации в *антикодонной петле*, которые позволяют осуществить *декодирование* С.-к. Их концентрация в клетке слишком мала, чтобы повлиять на правильную терминацию (отчасти потому, что в 3'-нетранслируемой области присутствуют несколько С.-к.; см. *рибосома*).

Stefan Vörtler

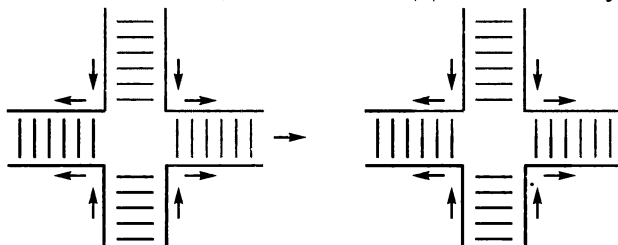
Стрептавидин. Белок (53–60 кДа), который состоит из четырех субъединиц, с высоким сродством ($K_d \approx 10^{15} \text{ M}^{-1}$) связывается с *биотином*. Столь прочное связывание может быть использовано в экспериментальных целях, например для *иммобилизации нуклеиновых кислот*, несущих биотиновую метку. Из-за отсутствия углеводных остатков и близости изоэлектрической точки к нейтральному рН С. менее склонен к неспецифическому связыванию, чем, например, авидин, что делает его особенно привлекательным в лабораторной практике.

Jörn Wolf

Стриппинг. Процедура, позволяющая удалить зонд в виде нуклеиновой кислоты (см. *нуклеиновая кислота-зонд*) или антител с мембраны, использованной в *саузерн-блоте*, *нозерн-блоте* или *вестерн-блоте*, с целью повторного использования ее с новым зондом или антителом.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Структура Холлидея. Динамическое *соединение*, образующееся из четырех цепей ДНК в ходе *гомологичной рекомбинации*. Названо в честь Робина Холлидея, предложившего в 1964 г. такую модель молекулы ДНК. С. Х. состоит из гомологичных последовательностей ДНК и поэтому может сколь-



Модель Холлидея

зять вдоль спиралей ДНК (см. *миграция ветвей*). Этот процесс опосредован белками и требует затрат энергии в форме АТФ. Разделение такого соединения приводит к образованию двух *дуплексов*, которые либо сохраняют родительскую конфигурацию, либо являются следствием *кроссинговера*.

Slawomir Gwiazda, Sabine Müller

Структурное картирование. Подход к картированию *нуклеотидов* в молекуле нуклеиновой кислоты на основании их доступности действию ферментов и прочих химических соединений. Метод определяет вклад одно- и двучепочечных фрагментов в структуру нуклеиновых кислот. Эти данные в сочетании с компьютерным моделированием и филогенетическими подходами могут служить основанием для моделирования *вторичной структуры* молекул РНК (см. *химическое и ферментативное картирование структуры РНК, in vivo структурное картирование РНК*).

Pascale Romby, Pierre Fechter

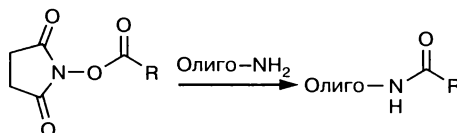
Структурные гены. *Гены*, которые кодируют любые РНК- или белковые продукты, кроме регуляторных.

Стэкинг. См. *оснований стэкинг*.

Субъединицы рибосомы. См. *рибосома*.

Сукцинимидиловый эфир. Органическое соединение — реакционноспособный сложный эфир N-гидроксисукцинимид, который может реагировать с *олигонуклеотидами*, содержащими в качестве заместителя алифатический амин, при этом образуется амидное производное олигонуклеотида.

Snorri Th. Sigurdsson



Взаимодействие сукцинимидилового эфира с амин олигонуклеотидом

Супрессия. Изменения, которые нивелируют действие *мутации*, для большинства первичных мутаций может произойти обратная мутация и восстановлено нормальное *фенотипа*. Если измененная в результате мутации *пара оснований* возвращается к дикому типу, говорят о реверсии. Фенотип может восстанавливаться мутацией в другом сайте, тогда это С., или реверсия, второго сайта. С. может происходить в *кодоне*, в гене или за пределами гена. Внутригенная С. может возникать в другом кодоне, вызывая встраивание аминокислоты, что восстанавливает структуру белка, поврежденную первоначальной мутацией. К внегенным (межгенным) С. относятся, например, мутации в генах *транспортных РНК* (тРНК; см. *РНК-ген*). Такая С. позволяет кодируемой этим геном тРНК декодировать *стоп-кодон*, возникший в результате первоначальной мутации.

Beatrix Süß

Супрессорная мутация. В классической генетике обозначает вторую *мутацию*, которая отменяет действие первой мутации. Спонтанные мутации,

приводящие к возникновению *стоп-кодонов* в *открытой рамке считывания*, могут быть нивелированы *супрессорной тРНК*, а также мутациями в генах *рибосомной РНК*, *факторов терминации* или рибосомных белков (S4, S5 и S12). В последнем случае возможно даже возникновение излишне точных или устойчивых к ошибкам рибосом.

Stefan Vörtler

Супрессорная тРНК. Специфическая *транспортная РНК* (тРНК), способная декодировать (расшифровывать) *стоп-кодон* и подавлять *терминацию* биосинтеза белка (см. *трансляция*) из-за возникновения *супрессорной мутации* (мутации второго сайта). Компонент клеточной системы безопасности, которая противодействует изначальным *мутациям* в *смысловых кодонах*, приводящим к образованию стоп-кодонов UAA, UAG и UGA в *открытых рамках считывания*. Многие С. тРНК — производные *элонгаторных тРНК*, которые возникли в результате мутаций в *антикодонах*. Например, su2, наиболее распространенная С. тРНК. в клетках *Escherichia coli*, получается из тРНК₂^{Gln} в результате мутации G36A в антикодоне CUG. Она встраивает Gln в ответ на кодон UAG вместо CAG. В клетке содержится совсем немного С. тРНК, но этого достаточно для обеспечения *трансляции* мРНК важных *генов* без нарушения процессов нормальной терминации в конце трансляции, в том числе и благодаря тому, что в 3'-нетранслируемой области мРНК обычно присутствуют несколько стоп-кодонов. Повышение содержания С. тРНК при сверхэкспрессии или добавлении их к системам трансляции *in vitro* (см. *in vitro трансляция*) — это важная стратегия в биотехнологии для сайтспецифического встраивания модифицированных или неканонических аминокислот.

Stefan Vörtler

Супрессорный ген. *Ген*, который подавляет фенотипическое проявление другого гена (в том числе и мутации).

Схемы на основе нуклеиновых кислот. См. *схемы на основе дезоксирибозимов и рибозимов*.

Сшивка внутри цепи. См. *кросс-линкинг в ДНК*.

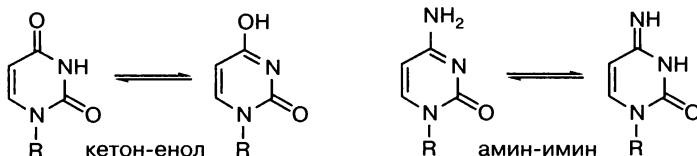
Т

Тандемный повтор. Последовательности ДНК, которые дублированы и расположены на цепи ДНК в ориентации «голова к хвосту». *Геном* человека содержит множество таких последовательностей с длиной звеньев 9–70 п. н. Эти участки характеризуются переменным числом Т. п. Число повторов варьирует у разных людей от нескольких до сотен копий. Повторы *динуклеотидов* (например, СА-повторы) чрезвычайно распространены в геноме человека, могут быть амплифицированы в ходе *полимеразной цепной реакции* и проанализированы при электрофорезе в полиакриламидном геле. Таким образом, людей можно различить, сравнив длины амплифицированных *фрагментов* ДНК. СА-повтор относится к *микросателлитам*.

Irene Drude

Таутомерные основания. В молекулах *азотистых оснований гуанина, урацила и тимина* кетоновая и енольная формы находятся в таутомерном равновесии. Аналогично в азотистых основаниях *аденине и цитозине* равновесие устанавливается между амино- и иминоформами. Более 99,99% оснований в составе *нуклеозидов* существуют в кето- или аминоформах. Таутомерные формы азотистых оснований, возникающие в ходе *репликации*, могут приводить к возникновению *неспаренных оснований* и в худшем случае вызывать *мутации*.

Bettina Appel



R = рибоза или дезоксирибоза

Твердофазный синтез ДНК и РНК. См. *олигонуклеотидов синтез*.

Твердый носитель. См. *олигонуклеотидов синтез*.

ТДФ. Тимидиндифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Текто-нуклеиновые кислоты. Собрание молекул РНК, удерживаемых вместе за счет взаимодействий между петлями. Текто-РНК — это искусственные молекулы РНК, способные к *самоорганизации* с образованием объектов с размерами в нанодиапазоне. См. *ДНК-нанотехнология, ДНК наноархитектура*.

Bettina Appel

тел-ДНК. См. *теломеры*.

Теломераза. Крупный *рибонуклеопротеин* (РНП), который присоединяет специфические последовательности ДНК на концах *хромосом*; *РНК-зависимая ДНК-полимераза*, содержащая молекулу РНК в качестве *матрицы* для удлинения G-богатой цепи. В принципе активность Т. дополняет работу *ДНК-полимеразы* и играет важную роль в репликации хромосомных концов и поддержании целостности генетического аппарата в активно делящихся клетках. Ферментативный комплекс состоит из двух компонентов: один — функциональный РНК-компонент, служащий матрицей при синтезе ДНК; второй — каталитический компонент с активностью *обратной транскриптазы*.

При нормальном росте активность Т. находится под строгим контролем. Есть сообщения о том, что теломеразная активность не регулируется в ходе клеточного цикла, а подавляется лишь по его завершении и в начале дифференцировки. Снятие контроля экспрессии или отсутствие активности Т. часто ассоциируют с онкологическим заболеванием — теломеразная активность отмечена более чем в 90% клеток злокачественных образований. В норме в соматических клетках человека она не обнаружена. Показано, что

Т. активна только в некоторых типах клеток, например в половых клетках или лимфоцитах.

Отсутствие активности Т. приводит к прогрессирующей утрате теломерных фрагментов с каждым циклом клеточных делений, в результате чего происходит укорочение *теломер*. Механизмы регуляции активности Т. до сих пор не вполне понятны.

Rajesh Singh

Теломеры. Последовательности ДНК, связанные с теломерсвязывающими белками (тел-ДНК). Т. определяют концевые части *хромосом*. Функция Т. — защита хромосом от деградации. Т. состоят из нескольких *тандемных повторов* G-Т-богатых гексануклеотидов (TTAGGG)_n.

Длина теломерных сегментов ДНК варьирует у разных хромосом, зависит от вида, типа и возраста клеток. Показано, что у человека Т. завершается 3'-концевым одноцепочечным *выступом* длиной 75–300 *нуклеотидов*. Изменчивость длины Т. часто связывают с онкологическим заболеванием и старением, так как они защищают хромосомы от *рекомбинации* и обеспечивают полную *репликацию* хромосом в течение всего цикла клеточного деления.

Есть сообщения о том, что с каждым делением клетки Т. укорачиваются на 50–200 п. н. Когда Т. достигает критической длины, клетка вступает в фазу прекращения роста, также называемую клеточным старением (см. *теломераза*).

Rajesh Singh

Температурное плавление. Метод определения стабильности дуплексов *олигонуклеотидов* или других высокоупорядоченных структур. Дуплексы стабилизированы *водородными связями* между комплементарными *парами оснований* (см. *комплементарное основание*). Большинство оснований образуют водородные связи в *уотсон-криковских взаимодействиях*, однако существуют и другие способы образовывать водородные связи — с помощью хугстиновских пар оснований, обращенных уотсон-криковских пар оснований и «качающихся» пар оснований. К другим факторам, влияющим на стабильность дуплекса, относятся взаимодействия по типу стэкинга между соседними азотистыми основаниями, гидрофобные взаимодействия и концентрация солей в растворе. Как правило, пары G-С прочнее, чем A-T(U), поэтому G-С-богатый дуплекс плавится при более высокой температуре, чем A-T-богатый. Т. п. проводят при постепенном повышении температуры, при этом непрерывно измеряют оптическое поглощение УФ-света образцом (см. *оптическая плотность*, *спектры поглощения азотистых оснований*, *гиперхромный сдвиг*) или сигнал КД методом спектроскопии кругового дихроизма (см. *кругового дихроизма (КД) спектроскопия*). По мере нагревания начинается диссоциация дуплекса с образованием двух *статистических клубков* и происходит кооперативное изменение наблюдаемых параметров. Температуру плавления (см. *плавления температура*) определяют по точке, в которой 50% ДНК или РНК сохраняет структуру дуплекса, а 50% — статистического клубка. В литературе описаны различные методы для расчета T_m , но необходимо учитывать, что этот параметр зависит от концентрации солей в растворе.

David Loakes

Температурный профиль денатурации. См. *плавления кривая*.

Температурозависимое рибопереключение. См. «*РНК-термометр*».

Тепловой шок. Реакция на Т. ш. — это универсальная реакция на стресс, при которой в ответ на увеличение температуры в клетке происходит индукция экспрессии *генов*, кодирующих белки теплового шока (БТШ). Другие условия, приводящие к накоплению неверно свернутых молекул белка (например, при продукции рекомбинантного белка, действии антибиотиков или токсинов), зачастую также приводят к реакции на Т. ш. Большинство БТШ — высококонсервативных белков прокариот и эукариот — относятся к шаперонам, способствующим фолдингу белков, или протеазам, осуществляющим деградацию неверно уложенных белков.

Franz Narberhaus

Терминальное мечение. См. *концевое мечение*.

Терминация транскрипции. См. *транскрипция*.

Терминация. Одна из трех стадий *трансляции*, в ходе которой распознавание *стоп-кодона* приводит к высвобождению белка (пептида) и рециркуляции рибосомы, т. е. возвращению рибосомы в свободное, ожидающее состояние. Этот термин также относится к процессу *транскрипции*. Транскрипция прекращается, если терминаторная последовательность приобретает характерную конформацию в зависимости (или вне зависимости) от наличия белка.

Stefan Vörtler, Sabine Müller

Терминирующий кодон. См. *стоп-кодон*.

Тест на механизм «в линию». Метод, используемый *in vitro*, чтобы получить информацию о структуре последовательностей РНК. Он основан на относительной нестабильности связей между нуклеотидами РНК вследствие того, что 2'-гидроксильная группа может выступать как внутренний нуклеофил и атаковать соседний фосфат по S_N2-механизму. Для этого взаимодействия нужно, чтобы атакующий 2'-кислород, фосфор и уходящий 5'-кислород были выстроены в линию. В обычной *A-форме* двуцепочечной РНК связи между нуклеотидами удерживаются в конформации, препятствующей атаке в линию, а одноцепочечные участки, как правило, более гибкие и легче принимают линейную конформацию. Поэтому картина спонтанного расщепления данной РНК в растворе (со слегка повышенным рН) позволяет сделать заключение о ее строении. Доказано, что линейное зондирование исключительно полезно для описания рибопереключателей, где оно используется как простой способ отследить лиганд-индуцированные изменения структуры РНК в очищенных от белка растворах.

Rüdiger Welz

Тетрапетли рецептор. См. *GAAA-тетрапетли рецептор*.

Тетрапетля. Наиболее распространенная среди *петель* РНК, состоит из четырех неспаренных нуклеотидов. По современным представлениям, более 50% петель — тетрапетли. Обнаружено, что они могут служить центрами нуклеации при *фолдинге РНК* и важны также в процессах узнавания РНК–РНК и РНК–белок. Тетрапетли классифицируют в соответствии с их нуклеотидной последовательностью. Известно три основных класса тетрапетель; им соответствуют последовательности GNRA, UNCG и CUUG; ниже представлены их термодинамические характеристики.

Тетрапетля cUUCGg — представитель мотива YNMG. В третичной структуре тетрапетли UNCG участвуют в дальних взаимодействиях РНК–РНК через второй неспаренный уридин, который способен связывать неспаренный *аденозиновый нуклеотид* в дальней части последовательности.

На основании трехмерной структуры можно следующим образом объяснить исключительную стабильность этой конструкции. Урацил-1 и гуанин-4 образуют *неканоническую пару оснований*, так как гуанин-4 принимает *син-конформацию* относительно *гликозидной связи*. Эта пара оснований стабилизирована *водородными связями* между имино- и аминогруппами гуанина и O2-урацила [иминогруппа: G4(N1)⋯H⋯(O2)U1, аминогруппа G4(N2)⋯H⋯(O2)U1]. Более того, пара стабилизируется необычной водородной связью между гидроксильным фрагментом *рибозного кольца* урацила-1 и O6 гуанина-4. Несмотря на то что эта пара относится к неканоническим, *уотсон-криковская* сторона гуанина-4 образует полноценные водородные связи с урацилом-1.

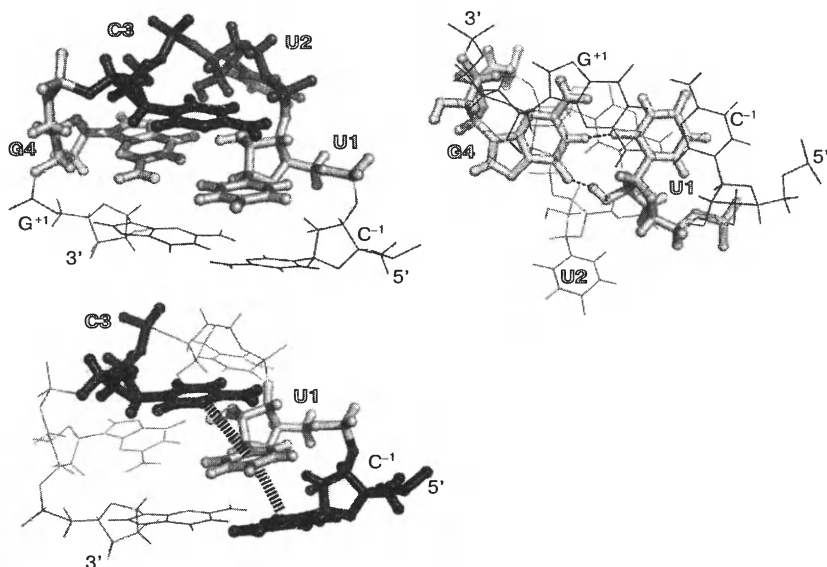
Основание второго нуклеотида U2 вывернуто и обращено в сторону раствора. *Рибозная* часть этого нуклеотида, как и следующего (C3), принимает C2'-*эндо*-конформацию и, таким образом, упрощает поворот остова *нуклеиновой кислоты* на 180°.

Между нуклеотидами C3 и U1 существует дополнительное *стэкинговое взаимодействие*, которое в случае тетрапетель cUUCGg может расширяться благодаря дополнительному стэкингу с граничным цитозином. Более того, боковые водородные связи между аминогруппой и одним из атомов кисло-

Таблица. Термодинамические характеристики тетрапетель РНК с различными последовательностями, образующими петлю

Последовательность*	T_m (°C)	ΔH (ккал/моль)	ΔG (ккал/моль)
YNMG UUCG	76,2	–55,9	–6,3
UACG	73,8	–53,6	–5,7
He YNMG GCUU	70,9	–45	–4,4
UUUG	70,3	–44	–4,2
UUUU	69,9	–44,3	–4,2

* В каждом случае остальные нуклеотиды расположены в порядке: 5'-GGACLLLL-GUCC-3' (L = нуклеотиды, образующие петлю и приведенные в таблице). Значения определены для раствора 1 М хлорида натрия, 0,01 М фосфата натрия, 0,1 мМ ЭДТА при pH 7.

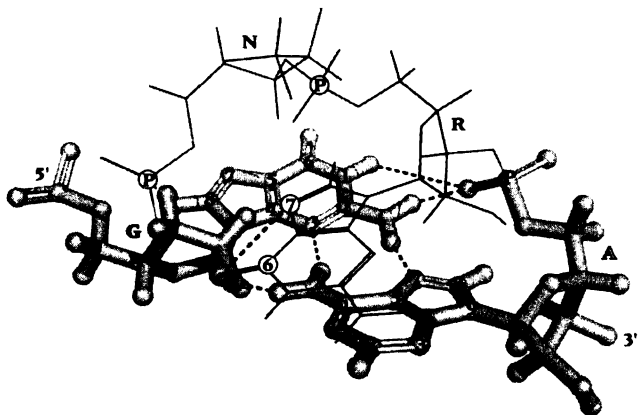


Трехмерная структура тетрапетли cUUCGg, определенная методом рентгеноструктурного анализа (PDB: 1F7Y). *Слева сверху*: расположение нуклеотидов петли, нуклеотиды U1 и G4 образуют неканоническую пару G-U (светло-серый цвет), вывернутый наружу нуклеотид U2 отмечен темно-серым, нуклеотид C3, расположенный над неканонической парой, показан черно-серым, граничные пары, называемые C⁻¹ и C⁺¹, изображены линиями; *справа сверху*: вид снизу тетрапетли cUUCGg, позволяющий рассмотреть неканоническую пару C4 и U1, стабилизированную водородными связями G4(N1)⋯H⋯(O2)U1 и C3(O2')⋯H⋯(O2)C3; хорошо виден вывернутый наружу нуклеотид U2; *снизу слева*: стэкинговые взаимодействия между нуклеотидами C3 (темно-серый), U1 (светло-серый) и C⁻¹ обозначены полосками из поперечных штрихов

рода фосфатной группы [C3(N4)⋯H⋯(^{pro}RO)C3], а также между гидроксильной группой и основанием [C3(O2')⋯H⋯(O2)C3] стабилизируют структуру.

Стабильность другого семейства тетрапетель, содержащих *консенсусную последовательность* GNRA, тоже можно объяснить с помощью трехмерной конформации.

В тетрапетлях GNRA главная особенность структуры заключается в наличии сети гетерогенных водородных связей. Протяженный стэкинг нуклеотидов в петле придает определенную прочность внутримолекулярным взаимодействиям донора и акцептора с помощью нескольких водородных связей. Для трех различных тетрапетель GNRA с помощью *ядерного магнитного резонанса спектроскопии* высокого разрешения было обнаружено, что изменение направления молекулярной цепи происходит между первым и вторым нуклеотидами, тем самым формируется асимметричная петля, в которой первый нуклеотид, т. е. гуанин, связан стэкингом с 5'-концом стебля спирали, а нуклеотиды 2–4, т. е. N, R и A — с 3'-концом. Все нуклеотиды находятся в *анти*-конформации, благодаря чему и образуется «сдвинутая» *анти-анти* пара G-A (см. «сдвинутая» пара оснований) между первым и последним нуклеотидами петли. В этих неканонических парах оснований сторона малой бороздки нуклеотида G1 связана водород-



Трехмерная структура тетрапетли GNRA, полученная методом спектроскопии ЯМР (PDB-Id.: 1ZIF, 1ZIC, 1ZIH): водородные связи, образуемые нуклеотидами G1, R3 (в данном случае G3) и A4, обозначены штриховыми линиями; образующие пару нуклеотиды показаны в виде шаростержневых моделей, а нуклеотиды N/R показаны линиями; цифрами показан порядок счета атомов по номенклатуре; P — атом фосфора в остоле, основание нуклеотида N2 для простоты не изображено

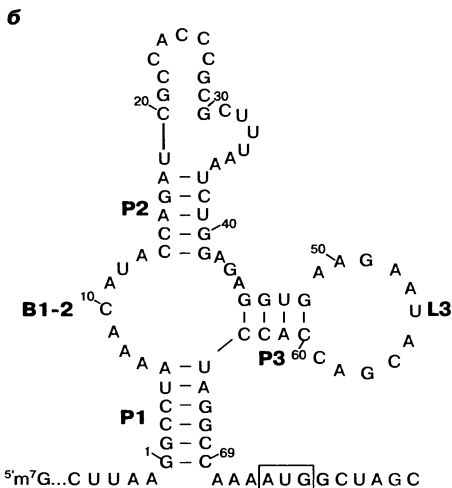
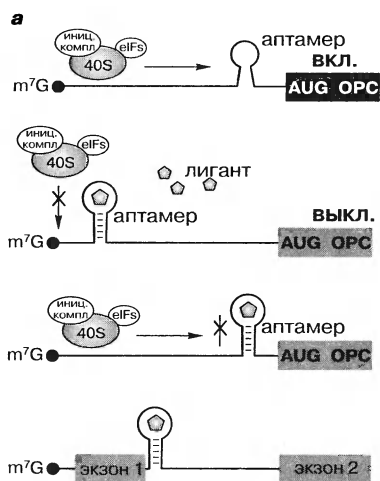
ными связи со стороной *большой бороздки* нуклеотида A4. Что интересно, эта пара продолжает стэкинг в спирали, так как A4 сдвинут в сторону малой бороздки, укорачивая расстояние между фосфатами на 6,2 Å по сравнению с классической уотсон-криковской парой G-C.

Описанную центральную пару G-A окружает сеть, включающая до семи водородных связей, стабилизирующих петлю. Следует отметить, что сеть водородных связей петли динамична и различается в каждой индивидуальной *конформации* структуры. Изменение может отражать конформационные флуктуации, которые лучше всего описываются как сеть гетерогенных водородных связей. Такой стэкинг оснований играет стабилизирующую роль, что проявляется не только в удлинении спирали за счет пары G-A, но и в том, что при уменьшении способности к стэкингу тетрапетля теряет упорядоченность.

Boris Fürtig, Harald Schwalbe

Тетраплекс. См. *G-квадруплекс*.

Тетрациклиновый рибопереключателъ. Выделенный *in vitro* тетрациклинсвязывающий *аптамер*, который можно использовать для зависимой от условий *экспрессии генов* при вставке в нетраслируемые области эукариотической *матричной РНК* (мРНК). Т. р. состоит из двух основных стеблей, образующих остов. Они разделены *однонуклеотидным выпетливанием* и *петлей*, которые образуют тетрациклинсвязывающий карман. Обе эти области взаимодействуют при связывании тетрациклина; при этом увеличивается прочность внутримолекулярных связей внутри структуры *аптамера*, таким образом препятствуя связыванию *малой субъединицы* рибосомы, если располагается сразу за *триметилгуанозинowym* кэпом, или образованию 80S-рибосомы, если находится проксимально относительно *стартового кодона*, или *сплайсингу* мРНК, если он вставлен рядом с 5'-сайтом



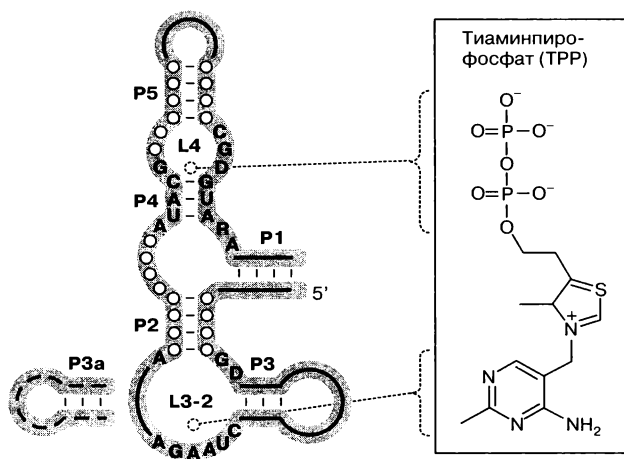
Модель регуляции генной экспрессии, опосредованной тетрациклиновым переключателем. а — добавление лиганда тетрациклина упрощает формирование комплекса тетрациклин–аптамер, который препятствует связыванию 43S-преинициаторного комплекса и сканированию мРНК или сплайсингу пре-мРНК. б — предсказанная вторичная структура тетрациклинового рибопереклювателя в составе мРНК (старт-кодон выделен рамкой). Отмечены важные элементы, такие как стебель (P), однуклеотидное выпетливание (B) и петля (L). Позиции связывания тетрациклина в основном расположены в B1-2 и L3

сплайсинга интрона. *In vitro* одна молекула тетрациклина связывается одной молекулой РНК с очень низкой константой диссоциации в 770 пМ.

Beatrix Süß

Тиаминпирофосфатный (ТРР) рибопереключитель. Один из самых многочисленных классов *рибопереклюателей*. Он регулирует работу *генов*, задействованных в биосинтезе, фосфорилировании и транспорте тиамина (витамина В₁). *Консенсусный мотив аптамера* обнаружен во всех трех доменах живых существ. Он наиболее распространен у бактерий, где он контролирует *экспрессию генов* на уровне транскрипции или трансляции. Отдельные примеры функционирования аптамеров ТРР у грибов и растений позволяют предположить их роль в регуляции *сплайсинга* и стабильности матричной РНК.

Аптамер ТРР состоит из двух протяженных участков *стебель–петля*, окружающих центральную часть, образованную стеблем P1 и петлями L2–4. Стебель P3 высоковариабелен по длине, у некоторых эукариот она достигает более 100 нуклеотидов. Биохимические и кристаллографические данные указывают на то, что наиболее консервативные нуклеотиды находятся в областях, селективно распознающих отдельные части ТРР: петли L3–2 связывают пиримидиновую часть, в то время как остатки внутри и вокруг стебля P4 образуют контакты с *пирофосфатной группой*. Специфических взаимодействий с тиазольной группой, играющей главную роль в работе ТРР как кофактора в реакциях переноса карбонильной группы, не обнаружено, но аптамер ТРР связывается с высокой аффинностью с антагонистом тиамина



Консенсусная последовательность аптамера TPP-рибопереклещателя

пиритиамином (РТ), который содержит *пиридин* вместо тиазольного кольца. Более того, аптамер, несмотря на то что образован полианионной РНК, не только связывает *лиганд*, несущий отрицательно заряженную пиррофосфатную группу, но также эффективно отличает его от метаболитических предшественников, таких как тиамин и его *монофосфат*, при разнице концентраций более чем в 1000 раз.

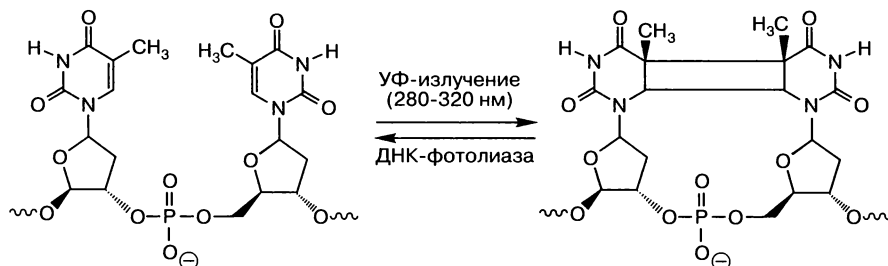
Rüdiger Welz

Тимидин. Природный строительный блок молекулы ДНК (см. *нуклеозиды*).

Тимидиндифосфат (ТДФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Тимидинмонофосфат (ТМФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Тимидиновый димер. УФ-излучение (280–320 нм) вызывает значительные повреждения молекулы ДНК. Один из основных типов нарушений при действии такого мутагена — образование цикlobутанпиримидиновых димеров (ЦПД). Тимидин-тимидиновые димеры образуются значительно чаще, чем цитидин-цитидиновые. Причиной образования таких димеров является фотохимическое [2π–2π]-циклоприсоединение с участием двойных связей C5=C6 молекул соседних остатков пиримидинов. Облучение двух остатков тимидина, расположенных один за другим в одноцепочечном олигонуклео-



тиде, приводит к образованию Т. д. в виде двух изомеров (*цис-син* и *транс-син*). Из-за стерических особенностей в *дуплексах* ДНК образуются только *цис-син*-тимидиновые димеры, которые, таким образом, представляют основной тип повреждений ДНК (см. *ДНК повреждение*), возникающих в ДНК под действием УФ-излучения. ДНК-фототиаза катализирует репарацию *цис-син*-циклобутантимидиновых димеров, используя энергию видимого света для разрыва циклобутанового кольца. Т. д. достаточно стабильны в составе *двойной спирали* ДНК и предположительно вызывают рак кожи и/или индуцируют клеточную смерть путем блокирования *репликации* и *трансляции*. Хотя цитидиновые димеры образуются в существенно меньшем количестве, чем тимидиновые, они считаются более мутагенными из-за способности вызывать различные сопутствующие реакции (например, дезаминирование). Последнее неизбежно приводит к *мутации* — замене С на Т (см. *ДНК репарация*).

Hans-Achim Wagenknecht

Тимидинтрифосфат (ТТФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Тимидинфосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

Тимин. См. *азотистое основание*.

Тиминовый арабинонуклеозид. См. *арабинонуклеозиды*.

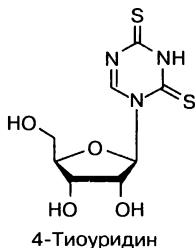
Тиминовый димер. См. *тимидиновый димер*.

Тиминовый ксилонуклеозид. См. *ксилонуклеозиды*.

Тиминовый рибонуклеозид. См. *нуклеозиды*.

4-Тиоуридин (S4U). Аналог *уридина*, содержащий серу в положении 4. Некоторые бактериальные *транспортные РНК* содержат 4-тиоуридин. Может быть использован в экспериментах по фотохимическому *образованию сшивок* или как сайт для функционализации олигонуклеотидов (см. *олигонуклеотидов мечение*).

Bettina Appel



Тиофосфат. См. *фосфотиоатные олигонуклеотиды*.

ТМФ. Тимидинмонофосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

ТНК. См. *треозонуклеиновая кислота*.

Топоизомераза. *ДНК-топоизомераза*.

Топология. См. *ДНК топология*, *РНК топология*.

Торцевое взаимодействие. Один из важнейших элементов пространственной структуры РНК — взаимодействие двух двуцепочечных участков своими торцами с образованием структурно непрерывной спирали (см. *оснований стэкинг*).

Точечная мутация. Особый тип мутации *замещения*, при которой заменяется только один остаток ДНК или РНК.

Точка ветвления. См. *сайт ветвления*.

Точное ориентирование субстрата. Связывание субстрата (субстратов) с *катализатором* и ориентация принимающих участие в (био)химической реакции остатков таким образом, что они занимают оптимальное положение в наибольшей близости к реакционным *функциональным группам*. В таком случае уменьшается доля поступательных и вращательных движений. Для катализатора это — один из способов понижения энергии активации (био)химической реакции. При катализе реакции расщепления небольшие *рибозимы* располагают атакующую 2'-гидроксильную, расщепляемую фосфатную и 5'-гидроксильную группы в линию. В результате этого достигается совершенная взаимная ориентация реагирующих функциональных групп, что делает возможным S_N2 -механизм (см. *атака в линию*).

Denise Strohbach

Транзиция. Замена одного *пуринового основания* на другое или одного *пиримидинового основания* на другое в цепи молекулы нуклеиновой кислоты. Транзиция — это мутация *генов* (см. *трансверсия, мутация, точечная мутация*).

Sabine Müller

транс-Активатор. *Ген* (часто кодирующий *транскрипционный фактор*), который контролирует уровень *экспрессии* других генов. Транскрипционные факторы опосредуют связывание *РНК-полимеразы* и инициацию транскрипции (см. *инициация транскрипции*).

Mauro Santos

Трансверсия. Событие, которое приводит к замене *пиримидинового основания* на *пуриновое основание*, и наоборот, в цепи нуклеиновой кислоты. Т. могут вызывать мутации *генов*. См. *транзиция, мутация, точечная мутация*.

Sabine Müller

Трансген. *Ген*, который переносят из одного организма в другой.

транс-Действующий. В противовес *цис-действующему*, белок (или генетический элемент, расположенный на определенном расстоянии), который стимулирует (энхансер) или подавляет *транскрипцию* генов у эукариот. При *РНК-катализе* термин относится к межмолекулярным реакциям.

Mauro Santos, Sabine Müller

Трансдукция. Перенос *генетической информации*, это может быть либо перенос ДНК из клетки в клетку при участии фагов или вирусов, либо каскад передачи сигнала в клетке от стимула до конечного белкового эффектора.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Транскрипт. Молекула РНК, синтезируемая *РНК-полимеразой* в процессе *транскрипции*.

Транскриптаза. *ДНК-зависимая РНК-полимераза*. Фермент, ответственный за синтез РНК в соответствии с информацией, содержащейся в *генах*. У типичных бактерий (например, у *Escherichia coli*) есть одна РНК-полимераза, которая осуществляет синтез всех молекул РНК в клетке. У эукариотических клеток есть три ядерные РНК-полимеразы (I, II и III). РНК-полимераза I транскрибирует гены, кодирующие предшественник большой *рибосомной РНК*. РНК-полимераза II осуществляет синтез *матричных РНК* и некоторых типов малых *некодирующих РНК*. РНК-полимераза III синтезирует различные малые РНК (*5S-рибосомную РНК, транспортные РНК, малую ядрышковую РНК* U6 и некоторые другие). Т. по свойствам отличается от *обратной транскриптазы (РНК-зависимой ДНК-полимеразы)*.

П. В. Сергеев

Транскрипционная аттенуация. Механизм *аттенуации* с участием высокоупорядоченной лидерной последовательности РНК, например так называемого Т-бокса. Последний часто обнаруживают в *генах*, кодирующих *аминоацил-тРНК-синтетазы*, и ферментах биосинтеза аминокислот у грамположительных бактерий. В присутствии лимитирующего количества соответствующей аминокислоты *антитерминация транскрипции* осуществляется за счет неснаряженной *транспортной РНК* (тРНК), которая функционирует как положительный регулятор. Неснаряженная тРНК напрямую взаимодействует с лидерной *матричной РНК* в сайте-спецификаторе (*кодоне* соответствующей аминокислоты) и последовательности Т-бокса для стабилизации антитерминаторного стебля и облегчения антитерминации транскрипции. Механизм Т. а. с участием Т-бокса — часть регуляции работы *оперонов* генов многих аминокислот и тРНК-синтетаз у грамположительных бактерий.

Beatrix Süss

Транскрипционные факторы. *ДНК-связывающие белки*, влияющие на инициацию *транскрипции*. У эукариот Т. ф. подразделяют на две группы: базальные (основные) Т. ф. (необходимы для транскрипции всех *генов*) и специфические Т. ф. (контролирующие транскрипцию определенной группы генов, часто регулирующих один и тот же или несколько сопряженных процессов). Основными (базальными) Т. ф. для *РНК-полимеразы I* являются SL1 и UBF. Для РНК-полимеразы II необходимы основные факторы TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIF, TFIIE и TFIIH. Наконец, для всех типов *промоторов* РНК-полимеразы III нужен фактор TFIIIB. Специфические Т. ф. призваны активировать (активаторы) или ингибировать (репрессоры) процесс *транскрипции*. Белки, которые влияют на транскрипцию, но не способны связывать ДНК и поэтому взаимодействуют с конкретными генами при участии других *ДНК-связывающих белков*, называются коактиваторами или *корепрессорами*. ДНК-связывающие Т. ф. часто образуют семейства с общими структурными особенностями. К ДНК-связывающим структур-

ным мотивам в факторах транскрипции относятся *спираль—поворот—спираль*, *спираль—петля—спираль*, лейциновая молния и «цинковые пальцы» (см. *ДНК-связывающие белки*).

П. В. Сергеев

Транскрипционный пузырь. См. *ДНК-пузырек*.

Транскрипционный сайленсинг генов. См. *гена сайленсинг*, *РНК-интерференция*, *RITS*.

Транскрипция. ДНК-Зависимая полимеризация РНК из нуклеозид-5'-трифосфатов. Осуществляется ферментом *РНК-полимеразой* (см. *транскриптаза*). В процессе Т. можно выделить три стадии: *инициация*, *элонгация* и *терминация*. В ходе инициации РНК-полимераза распознает *промотор* — специфическую часть молекулы ДНК, необходимую и достаточную для связывания РНК-полимеразы и начала Т. Для инициации требуются *транскрипционные факторы*. У типичных бактерий (например, *Escherichia coli*) для распознавания промотора и инициации Т. требуется особая субъединица РНК-полимеразы — *сигма-фактор*. Большинство промоторов *E. coli* распознаются σ^{70} , но инициация Т. с минорных промоторов (активных при различных стрессах) осуществляется при участии других сигма-факторов. Кроме сигма-фактора для активации или ингибирования инициации Т. требуются различные ДНК-связывающие *транскрипционные факторы*. У эукариот вместо единственного сигма-фактора для начала транскрипции требуются различные базальные (основные) транскрипционные факторы: для РНК-полимеразы I — SL1 и UBF; для РНК-полимеразы II — TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIF, TFIIE и TFIIH. Кроме того, для Т. каждого отдельного гена нужны различные специфические транскрипционные факторы. Так, для РНК-полимеразы III обязательно присутствие фактора TFIIB в случае любых типов промоторов; TFIIA и TFIIC — для транскрипции гена *5S рибосомной РНК*; Oct-1, STAF и SNAPc — для синтеза различных малых РНК.

В ходе узнавания промотора РНК-полимераза образует закрытый комплекс, внутри которого ДНК остается двуцепочечной. Затем происходит локальная денатурация ДНК для образования открытого комплекса. После синтеза РНК длиной ~9 нуклеотидов РНК-полимераза приступает к стадии элонгации. С этого момента факторы инициации транскрипции больше не нужны. В процессе элонгации РНК-полимераза катализирует нуклеофильную атаку 3'-гидроксильной группы растущей цепи РНК на α -фосфат входящего *нуклеозид-5'-трифосфата*, комплементарного основанию ДНК-матрицы. РНК-полимераза взаимодействует с различными факторами элонгации, которые необходимы для регуляции этого процесса. У бактерий элонгация подвержена регуляции посредством механизмов *антитерминации* и *аттенюации* (см. *транскрипционная аттенюация*).

Т. прекращается на определенных последовательностях — терминаторах. Терминаторы *E. coli* подразделяются на Rho-зависимые (взаимодействующие с Rho-фактором, который представляет собой РНК-хеликазу) и Rho-независимые. Последние состоят из РНК-шпильки, за которой следуют несколько остатков уридина.

П. В. Сергеев

Транслокация. Пошаговое движение *рибосомы* по молекуле *матричной РНК* параллельно с переносом *пептидил-тРНК* с *А-сайта* рибосомы на *Р-сайт*. Термин также относится к меж- и внутрихромосомному переносу сегмента *хромосомы*. Иногда такой перенос приводит к развитию заболеваний (например, хронической миелоидной лейкемии).

Valeska Dombos

Трансляции фактор. Общий термин для всех факторов, которые содействуют синтезу белка на рибосоме (см. *трансляция*). Пептидилтрансферазная реакция связана с РНК и происходит даже на изолированных 50S-субъединицах *рибосом*. Однако скорость реакции в этом случае примерно на три порядка ниже скорости реакции в оптимальных условиях *in vivo* на нативных рибосомах (на нативных рибосомах скорость синтеза составляет 20–50 молекул белка в секунду). Т. ф. способствуют достижению такой скорости, обеспечивая специфичность, а также делают возможным непрерывность синтеза при уменьшении числа ошибок благодаря *проверочной активности*. Все эти факторы представляют собой белки, что особенно интересно для понимания эволюции систем трансляции и их взаимодействия с РНК *рибосомы*. Так как одним из основных реагирующих компонентов является *транспортная РНК* (тРНК), многие Т. ф. взаимодействуют с РНК или *сайтами связывания* РНК, часто имитируя молекулы РНК по структуре и/или функциям. Эта модель недостаточно совершенна, чтобы описать все сложные межмолекулярные взаимодействия, но все равно оказалась существенным прорывом по сравнению с представлениями о простой *полимеризации*, которые были приняты до 1980-х гг.

Т. ф. классифицируют по стадии цикла трансляции, где они участвуют. Во всех основных таксонах встречаются их функциональные гомологи, что подтверждает высокую консервативность механизмов трансляции. Обозначения: «е» — Т. ф. эукариот, «а-е» — эукариотические Т. ф. архей. По историческим причинам номенклатура достаточно запутана. Одинаковые номера не означают функциональной или структурной гомологии; число эукариотических Т. ф. превышает число прокариотических в 10 раз вследствие: (а) более чувствительной и сложной инициации; (б) существования параллельных путей для регуляции на уровне различных стадий трансляции с участием одних и тех же факторов в двух и более процессах; (в) образования многофакторных комплексов, которые сохраняют характер ассоциата, действуя как супрамолекулярная единица, и уменьшают число участников реакции.

Факторы инициации (IF/eIF/a-eIF) помогают идентифицировать сайты начала трансляции, привлечь субъединицы рибосомы и совместить *инициаторную тРНК* (см. *формилметионил-тРНК*) с правильным *стартовым кодоном*. Это чрезвычайно важно, поскольку определяет границы транслируемой *рамки считывания*. Прокариоты используют три мономерных фактора инициации, в то время как у эукариот существует как минимум 12 факторов, собранных из 23 различных полипептидов. Фактор инициации IF1/eIF1a связывается с *А-сайтом* на малой субъединице, предположительно, препятствуя преждевременному входу тРНК. IF2/eIF5B — ГТФаза, которая способствует связыванию инициаторной тРНК с *Р-сайтом* и

присоединению субъединицы. IF3 (не имеет прямого гомолога у эукариот, но функционально отчасти сходен с eIF1) содействует IF2 в поиске верного сайта начала трансляции, но, кроме того, предположительно, поддерживает рибосомы в диссоциированном состоянии, препятствуя их преждевременной сборке и обеспечивая их повторное использование после терминации. Благодаря присутствию этого белка стадии трансляции оказываются взаимосвязанными. Дополнительные эукариотические факторы участвуют в альтернативных путях блокировки преждевременной сборки рибосомы, способствуют ее повторной диссоциации и отчасти идентифицируют и связывают молекулу *матричной РНК* (мРНК) с собирающейся рибосомой. У прокариот нет проблемы с последним из перечисленных процессов, так как у них *транскрипция* и трансляция сопряжены. Как только синтезируется *последовательность Шайна—Дальгарно*, рибосомы присоединяются к ней. Эукариотическая мРНК представляет собой изолированную, процессированную, высокоупорядоченную и связанную с белками молекулу. Именно поэтому требуются, например, идентификация 7-метилгуанозина и поли(А)-фрагмента (см. *кэп*, *поли(А)-«хвост»*), а также свидетелей того, что завершены процессинг, раскручивание РНК и удаление мРНК-связывающих белков (см. *РНК-связывающие белки*). Все эти стадии должны предшествовать соединению мРНК с малой субъединицей рибосомы.

Факторы элонгации (EF/eEF/a-eEF) обеспечивают непрерывную полимеризацию, начиная с момента, когда инициаторная тРНК попадает в Р-сайт. Здесь наблюдается самая высокая степень сходства среди факторов, что служит признаком универсальности пептидилтрансферазной реакции. Вновь приходящие молекулы *элонгаторных тРНК* (любых тРНК, кроме участвующих в инициации или подавлении трансляции) связываются с Р-сайтом в составе трехкомпонентного комплекса с EF-1A и ГТФ. Бактериальный фактор был назван EF-Tu (сокращение от англ. transfer — перенос и unstable — «нестабильный», чтобы отличить его от S, stable — стабильный). Первоначально Tu был выделен в комплексе с Ts, но при очистке комплекс распадается. Этот фактор относится к наиболее распространенным белкам в трансляционно-активных клетках (около 100 мкМ, до 5–10% всех клеточных белков). Обладая наномолярной аффинностью к *аминоацил-тРНК*, он защищает ее от деацилирования. Правильное взаимодействие *кодона* с *антикодоном* приводит к гидролизу ГТФ, отделению EF-1A и переносу пептидильной группы на аминоацил-тРНК. Для продолжения полимеризации *пептидил-тРНК*, связанная с А-сайтом рибосомы, должна быть перенесена в Р-сайт, находящаяся там тРНК — в Е-сайт, а рибосома совершить сдвиг на один *триплет* по молекуле мРНК. Все эти шаги катализируются фактором EFG (eEF2, a-eEF2) с затратой ГТФ.

Факторы терминации делают возможным контролируемое завершение синтеза белка на уровне соответствующего *стоп-кодона*, высвобождение образовавшегося полипептида и начало диссоциации рибосомы. За это их называют рилизинг-факторами (RF; англ. release — освобождать). У прокариот RF1 и RF2 расшифровывают кодоны UAG/UAA и UGA/UAA соответственно; у эукариот все три *стоп-кодона* распознает единственный фактор eRF1, у архей — a-eRF1. Это все факторы терминации класса I; они реагируют на присутствие стоп-кодона в А-сайте, индуцируют гидролиз пептидил-тРНК,

находящейся в Р-сайте (сходным образом происходит и гидролиз, индуцируемый самой рибосомой при элонгации), и остаются связанными с А-сайтом до момента, пока не произойдет их высвобождение с участием рилизинг-факторов класса II (RF3, eRF3 и a-eRF3) с затратой ГТФ.

Наконец, требуется регенерация ГДФ-связанных факторов с образованием ГТФ-связанных форм. Специальные факторы обмена гуанина (GEF, E — от англ. exchange) выполняют эту задачу и позволяют осуществить регуляцию, зависимую от G-белков. GEF могут быть белками (например, EF-Ts для EF-1A), многофакторными комплексами (eEF1B, образованный eEF1 α и eEF1 β ; последний из перечисленных ранее был известен как eEF1 γ) или даже *рибосому*, как это предполагается для RF3/eRF3.

Stefan Vörtler

Трансляция. Процесс биосинтеза белка, происходящий на *рибосоме* (см. *аттенюация трансляции*, *контроль трансляции*, *система трансляции*, *трансляционный фактор*).

Транспозиция. Копирование фрагмента ДНК из одного локуса в другой с потерей переносимой последовательности в исходном сайте или без таковой. Т. в типичном случае подвергаются ДНК-элементы со специфичной модульной организацией — инсерционные последовательности (IS) или *транспозоны*.

Hans-Joachim Fritz

Транспозон. См. *мобильный элемент*.

Транспортная РНК (тРНК). Повсеместно распространенные РНК, которые переносят аминокислоты к растущей цепи полипептида в процессе *трансляции*. Молекула тРНК состоит из 70–85 *нуклеотидов* и включает модифицированные основания (см. *редкие основания*). У каждой входящей в состав белков аминокислоты в клетке есть как минимум одна специфическая тРНК. Так как разнообразие тРНК зависит от органеллы и вида, общее число тРНК в клетке составляет 50–70. Для упрощенного обозначения различных тРНК были введены сокращения: например, тРНК^{Ala}_{yeast} — специфическая алаиновая тРНК из дрожжей. Все тРНК обладают характеристической структурой (см. «*клеверный лист*» *структура*). Она включает четыре внутримолекулярные спирали, разделенные тремя *петлями*. *Акцепторный стебель* несет 3'-концевой *выступ* ССА (см. ССА-«*хвост*»), на котором аминокислота присоединяется эфирной связью к одной из гидроксильных групп остатка *аденозина*. 3'-Концевой аденозин всегда отстоит на 21 нуклеотид от первого нуклеотида *риботимидиловой петли*. *Антикодоновая петля* содержит *сайт узнавания* для кодона, специфичный у каждой тРНК и ответственный за распознавание соответствующего кодона в молекуле *матричной РНК* (мРНК). Третья петля — *дигидроуридиловая петля*, которая вместе с двумя другими петлями участвует в узнавании и взаимодействии с белком, мРНК и *рибосомой*. См. *мажорная тРНК*, *минорная тРНК*, *рибосома*, «*качания*» *гипотеза*, *аминоацил-тРНК*, *элонгаторная тРНК*, *трансляция*.

Sabine Müller

транс-Сплайсинг. Редкая межмолекулярная реакция *сплайсинга*, которая соединяет экзоны из разных *первичных транскриптов*. т.-С. описан у низших эукариот — грибов, трипаносомы, нематод. Хорошо изучен пример поведения трех *матричных РНК* (мРНК) актина у нематоды *Caenorhabditis elegans*. На 5'-концах эти мРНК несут одинаковые 22-нуклеотидные *лидерные последовательности*, которые не кодируются *геном* актина. Эти последовательности происходят от 100-нуклеотидной молекулы РНК, кодируемой другим геном.

Bernd-Joachim Benecke

Трансфекция. Внедрение экзогенной ДНК в эукариотические клетки, чаще с использованием *плазмид*.

Трансформация. Процесс генетической модификации клетки-акцептора путем внедрения в нее экзогенной ДНК. Некоторые бактерии обладают природной *компетентностью* для захвата ДНК извне. Остальные (например, *Escherichia coli*) подвергают различным видам обработки для получения клеток, способных принимать ДНК. У эукариотических клеток под Т. понимают наследуемое превращение нормальной клетки в опухолеподобную под действием вирусов или *канцерогенов*.

Annegret Wilde

Трансэтерификация (переэтерификация). В молекулах нуклеиновых кислот — превращение одного *фосфодиэфира* в другой путем расщепления фосфодиэфирной связи и образования новой.

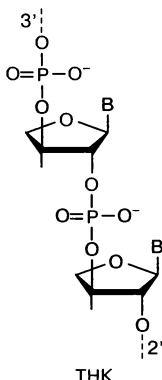
Sabine Müller

Трейлер. Применительно к структуре *матричной РНК* — 3'-нетранслируемая область (UTR), противопоставленная «лидеру» (см. *лидерная последовательность*) в 5'-нетранслируемой области. В настоящее время чаще используют более универсальные термины для обозначения нетранслируемых областей.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Треозонуклеиновая кислота (ТНК). Аналог РНК, содержащий α -D-треофуранозильные остатки, связанные 3',2'-*фосфодиэфирными связями*. ТНК могут быть собраны природными ферментами.

Bettina Appel



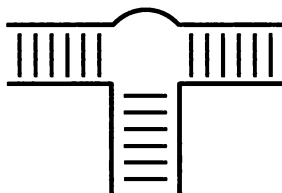
Третичная структура. Пространственное расположение элементов вторичной структуры в *биомолекулах*, например спиралей, петель, *соединений* или *выпятиваний*.

Slawomir Gwiazda

Трехстебельное соединение. См. *трехстороннее соединение*.

Трехстороннее соединение. Структурный элемент молекулы ДНК или РНК. Термин описывает конструкцию в составе *вторичной структуры* одной молекулы (или мультимолекулярного комплекса), разветвляющуюся на три двуцепочечных плеча.

Slawomir Gwiazda



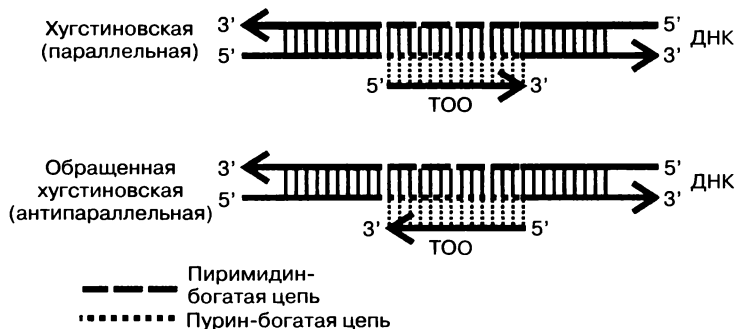
Триметилгуанозиновый кэп. Вариант строения *кэпа*, обнаруживаемый в некоторых видах *U-мРНК* и *малых ядрышковых РНК*, транскрибируемых РНК-полимеразой II. Химически такой кэп представляет собой производное нуклеотида $m_3^{2,2,7}GpppN$ на 5'-конце этих малых РНК.

Bernd-Joachim Benecke

Тринуклеотидный повтор. Мотив, состоящий из трех *нуклеотидов*, которые последовательно повторены в *геноме*. Избыточное число повторов может приводить к развитию болезней тринуклеотидных повторов, например болезни Хантингтона (см. *генетические заболевания*).

Valeska Dombos

Триплекс-образующие олигонуклеотиды (ТОО). В то время как *антисмысловые олигонуклеотиды* действуют на посттранскрипционном уровне и гибридизируют со специфическими *матричными РНК*, ТОО модулируют экспрессию генов (см. *гена экспрессия*) на более ранней стадии путем связывания с *двуцепочечной ДНК*. Этот подход был назван антигенной стратегией по аналогии с *антисмысловой стратегией*. ТОО специфически распознают олигопиримидин-олигопуриновые последовательности и связываются с *большим желобком* богатой пурином цепи *двойной спирали*.



ли ДНК. ТОО образуют *водородные связи* с нетрадиционной хугстиновской геометрией (см. *хугстиновские пары оснований*) в параллельной или анти-параллельной ориентациях.

Можно также использовать ТОО для влияния на различные биологические функции ДНК, зависящие от последовательности. Чаше всего ТОО применяют для ингибирования экспрессии генов путем предотвращения *инициации* или *элонгации транскрипции*. Любопытно, что ТОО могут и повышать уровень транскрипции, например, конкурируя с *репрессором*. Кроме того, их используют для внедрения постоянных модификаций в молекулу ДНК в сайте образования триплекса. С этой целью реакционноспособные вещества (например, фотоиндуцируемые *кросс-линкеры* или ДНК-расщепляющие агенты) конъюгируют с олигонуклеотидом и доставляют в выбранный сайт с помощью ТОО. Прочие области приложения включают индукцию сайтноправленных *мутаций* в соматических клетках и стимулирование *гомологичной рекомбинации*.

Jens Kurreck

Триплет. Тринуклеотидный участок молекулы *матричной РНК*, образующий один *кодон* в *генетическом коде*.

Триплетный код. См. *генетический код*.

тРНК. См. *транспортная РНК*.

тРНК-нуклеотидилтрансфераза. Фермент, который добавляет *ССА-«хвост»* на 3'-конец молекулы *транспортной РНК*, образуя функциональное 3'-*акцепторное плечо* (см. *РНК процессинг*).

тРНК процессинг. См. *РНК процессинг*.

тРНК сплайсинг. Удаление *интронов* из молекул-предшественников *транспортной РНК* (тРНК). У дрожжей ~10% генов тРНК содержат интрон, всегда локализованный в направлении 3'-конца от *антикодона*. Удаление этой *вставочной последовательности* (от 14 до 46 нуклеотидов) происходит по несколько иному механизму, чем традиционный сплайсинг (см. *РНК сплайсинг*). Интрон тРНК удаляется в ходе двухстадийного процесса — расщепления и *лигирования* (это две разные стадии). Для осуществления этой реакции важно спаривание между интроном и последовательностью антикодона.

Bernd-Joachim Benecke

Тройная спираль. Трехцепочечная структура нуклеиновой кислоты, образующаяся при связывании дополнительной, третьей цепи с *большим же-лобком двойной спирали*. Это связывание происходит путем образования специфических *водородных связей* с *уотсон-криковскими парами оснований* в составе дуплекса (см. *хугстиновская пара оснований*). Т. с. классифицируют на основе состава и ориентации третьей цепи. В пиримидиновом (параллельном) мотиве гомопиримидиновая третья цепь связывается параллельно пуриновой цепи в гомопуриновом-гомопиримидиновом дуплек-

се с образованием триад Т–АТ и С⁺–ГС с хугстиновскими водородными связями. В пуриновом (антипараллельном) мотиве богатая пурином третья цепь связывается антипараллельно с пуриновой цепью уотсон-криковского дуплекса с образованием триад Г–ГС, А–АТ или Т–АТ на основе обращенных хугстиновских водородных связей (см. *параллельная ориентация, антипараллельная ориентация, триплекс-образующие олигонуклеотиды*).

Klaus Weisz

Тройной комплекс. Включает три компонента, например комплексы *рибозим–лиганд–субстрат* или *рибозим–субстрат 1–субстрат 2*.

ТТФ. Тимидинтрифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Тупые концы. Концы линейной *двуцепочечной молекулы ДНК*, образующиеся при расщеплении определенными *эндонуклеазами рестрикции* (например, *RvuII*) или при ферментативном преобразовании *липких концов*. Одноцепочечные липкие концы ДНК затупляются под действием *экзонуклеаз* или в ходе *реакций заполнения*. Одноцепочечные 5'-выступы заполняются за счет 5'-3' полимеразной активности *ДНК-полимеразы фага Т4* или *фрагмента Клёнова*. Одноцепочечные 3'-выступы затупляются за счет 3'-5' экзонуклеазной активности *ДНК-полимеразы фага Т4*. ДНК-полимеразы (например, *Rwo-полимераза*) с 3'-5' экзонуклеазной (проверочной) активностью продуцируют продукты *полимеразной цепной реакции* с тупыми концами.

Annegret Wilde

Тупых концов лигирование. Ферментативное соединение рестриктных фрагментов, имеющих *тупые концы*, с использованием *ДНК-лигазы*. См. *липких концов лигирование, лигирование*.

у

Удлинение праймера. Часто используется для картирования 5'-концевых областей фрагментов ДНК или РНК. Осуществляется путем отжига комплементарного *праймера ниже* 5'-конца целевой последовательности с последующим ферментативным удлинением праймера. Последний часто метят радиоизотопом или флуорофором (см. *олигонуклеотидов мечение*), чтобы облегчить детектирование и анализ после электрофоретического разделения на геле. Для целевых последовательностей РНК полимеризующим ферментом оказывается *обратная транскриптаза*, использующая ДНК-праймер и 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (см. *нуклеозидтрифосфаты*). Для последовательностей ДНК используют *ДНК-полимеразу*. Чаше всего применяют термофильную *Taq-ДНК-полимеразу* или фрагмент ДНК-полимеразы I (см. *фрагмент Клёнова*). Такая методика также актуальна при *секвенировании* коротких цепей ДНК и часто используется при детектировании *однонуклеотидных полиморфизмов*, которые могут быть следствием мутаций (см. *гена мутация*).

Химический синтез ДНК или РНК — рутинная процедура (см. *олигонуклеотидов синтез*), и в олигонуклеотиды могут быть встроены различные аналоги *нуклеозидов* (они могут быть внедрены и в составе 5'-трифосфатов при работе полимеразы). Часто для изучения функции этих модифицированных нуклеотидов применяют метод У. п. Он может не только определить, как аналоги взаимодействуют с нативными основаниями, но и оценить эффективность встраивания полимеразой.

David Loakes

Удлинения праймера метод. Используется для картирования 5'-концевых областей *транскриптов* для определения точного положения сайта начала *транскрипции*. Короткий комплементарный *олигонуклеотид*, меченный на 5'-конце (синтетический либо короткий *фрагмент*, образующийся при *рестрикции*), гибридизируют с РНК, и ДНК синтезируется с использованием *обратной транскриптазы*. Продукты реакции затем анализируют путем *электрофореза* в геле параллельно с анализом фрагментов, образующихся при секвенировании ДНК, содержащей тот же ген, с использованием того же праймера. Сайт инициации *транскрипции* идентифицируют как фрагмент в продуктах секвенирования, совпадающий по длине с продуктом обратной транскрипции. Множественные сайты инициации транскрипции при таком анализе детектируются как несколько полос. Таким же образом можно идентифицировать сайты *процессинга* РНК, точки разрыва и *модифицированные основания*. Этот метод применяют и для количественной оценки содержания мРНК, а также детектирования мРНК, содержащихся в малых количествах.

David Loakes

УДФ. Уридиндифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

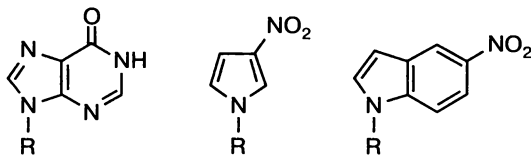
Узнавания мотив. Локальная структура (часто мотив *третичной структуры*), специфически распознаваемая определенными компонентами, например молекулами нуклеиновых кислот, белка или низкомолекулярного соединения (см. *сайт узнавания*).

Sabine Müller

Узнавания последовательность. См. *сайт узнавания*.

УМФ. Уридинмонофосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Универсальные основания. *Аналоги оснований*, способные образовывать *пары оснований* с любым основанием в ДНК или РНК с равной эффективностью. Чтобы определить, способен ли аналог *азотистого основания* функционировать как У. о., проще всего измерить *температуру плавления* (T_m , см. *температурное плавление*) олигонуклеотидных дуплексов, которые содержат аналоги напротив каждого из природных оснований (А, С, G и T/U). Если аналог обладает свойствами У. о., все четыре дуплекса будут иметь практически равные T_m . Уже давно и хорошо известно У. о. *гипоксантин*, который оказался очень полезным в практических приложениях с использованием *полимеразы*. В то же время дуплексы с гипоксантином напротив природных оснований обладают широким диапазоном темпера-



Распространенные универсальные аналоги оснований

тур плавления, а полимеразы распознают его преимущественно как остаток *гуанина*.

Описаны многочисленные аналоги азотистых оснований, способные функционировать как У. о., и у них есть ряд общих свойств. Обычно они гидрофобны, неполярны, с ароматической структурой и не образуют водородных связей. В силу последней особенности они стабилизируют пары с природными основаниями в олигонуклеотидных дуплексах за счет повышенной способности к *стэкингу*. Поскольку У. о. стабилизируются исключительно путем стэкинга, то чем больше площадь поверхности соприкосновения, тем стабильнее дуплекс, содержащий это основание. Пары между У. о. более стабильны, чем между У. о. и природным основанием, поскольку последнее должно быть десольватировано (лишено связанных молекул воды) для образования пары с гидрофобным У. о. На данный момент нет описаний У. о., способных образовывать пары на основе водородных связей с природными основаниями.

Все У. о. представляют собой гидрофобные ароматические соединения, неспособные к образованию водородных связей, они плохо совместимы с ферментативными реакциями. Например, в реакциях с участием полимераз они вызывают задержку роста цепи. Таким образом, они наиболее эффективны там, где используются способности содержащих У. о. олигонуклеотидов к *гибридизации*. У. о. могут быть входить в составе *праймеров* для полимеразных реакций (см. *полимеразная цепная реакция, секвенирование*), чтобы способствовать более прочному связыванию 3'-конца праймера. Например, У. о. могут стабилизировать короткие праймеры в полимеразной цепной реакции или быть комплементарными сайтам *матрицы*, точная последовательность которых неизвестна. У. о. также используются в зондировании (см. *нуклеиновая кислота-зонд*), гибридации *in situ* и детектировании *однонуклеотидных полиморфизмов*. Наиболее часто в качестве У. о. используют производные 3-нитропиррола и 5-нитроиндола. Целесообразность применения этих аналогов доказана в ряде приложений. 5-Нитроиндол обладает более выраженными стабилизирующими свойствами в дуплексе, чем 3-нитропиррол, но все же вызывает дестабилизацию по сравнению с нативной ДНК.

David Loakes

Универсальный праймер. *Праймер* представляет собой короткий *олигонуклеотид*, комплементарный *матрице* ДНК и используемый для ее *амплификации*, например, в *полимеразной цепной реакции*. Праймеры могут быть специфичными к определенной последовательности ДНК или универсальными. Специфичный праймер (или пара праймеров) используется при

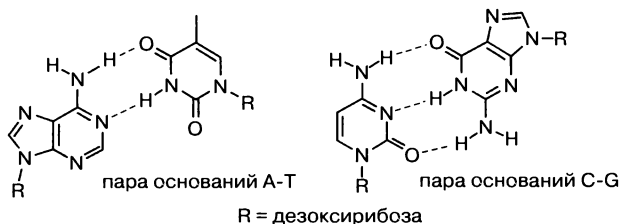
амплификации определенной последовательности ДНК. У. п. комплементарен к последовательности *нуклеотидов*, которая часто встречается среди определенных молекул ДНК, и потому способен к связыванию с многими ДНК-матрицами. Таким образом, если есть несколько последовательностей нуклеиновых кислот, каждая из которых комплементарна У. п., они будут амплифицированы.

David Loakes

Уотсон-криковская модель. Трехмерная модель молекулы ДНК, предложенная Джеймсом Уотсоном и Френсисом Криком в 1953 г. Состоит из двух цепей ДНК *антипараллельной ориентации*, закрученных вокруг общей оси и образующих правую двойную спираль (см. *правозакрученная ДНК*). Гидрофильный *остов* молекулы состоит из чередующихся остатков *дезоксирибозы* и отрицательно заряженных фосфатных групп, которые расположены на внешней поверхности спирали, контактирующей с водой. *Пуриновые основания* и *пиримидиновые основания* обеих цепей расположены стопкой внутри двойной спирали, так что их гидрофобные плоские кольца находятся на расстоянии ван-дер-ваальсова радиуса друг от друга и перпендикулярно оси спирали. Каждое основание одной цепи спарено с основанием другой цепи, лежащим в той же плоскости. Изоморфные уотсон-криковские пары оснований (А-Т, Т-А, Г-С и С-Г) наилучшим образом вписываются в эту структуру, обеспечивая рациональное объяснение равенства количества оснований (А=Т, Г=С), открытого Чаргаффом (см. *правило Чаргаффа*). У.-к. м. объяснила также необычные химические и физические свойства ДНК, а также данные по дифракции рентгеновских лучей. Кроме того, эта модель сразу позволила понять механизм передачи генетической информации.

Н. Г. Долиная

Уотсон-криковская пара оснований. Пары комплементарных оснований, образуются между *пуриновыми* и *пиримидиновыми основаниями*: А-Т, Т-А, Г-С и С-Г: комплементарные пары стабилизированы *водородными связями*: две водородные связи между *аденином* и *тимином*, и три между *гуанином* и *цитозином*. Стабильность пар оснований зависит не только от числа водородных связей, но и в значительной степени от электронной структуры соответствующих молекул (электронная комплементарность). Спаренные основания необязательно компланарны; они могут быть повернуты друг относительно друга подобно лопастям пропеллера. У.-к п. о. способны взаимно замещать друг друга в молекуле *двухцепочечной НК*, поскольку они изоморфны, т. е. близки по форме и имеют одинаковые размеры. Кроме того, во всех четырех уотсон-криковских парах оснований *гликозидные связи* (связи



между остатками сахара и гетероциклического основания) ориентированы одинаково относительно оси спирали и соответствуют псевдооси второго порядка, лежащей в плоскости пар. Благодаря этим особенностям, любая нуклеотидная последовательность может образовать двойную спираль с комплементарной последовательностью, причем обе взаимодействующие полинуклеотидные цепи всегда ориентированы антипараллельно друг другу (см. *антипараллельная ориентация*). Другие (неканонические) пары оснований в той или иной степени дестабилизируют структуру двойной спирали.

Н. Г. Долинная

Уотсон-криковская спираль. Правозакрученная двойная спираль ДНК, полинуклеотидные цепи которой невозможно разделить, не раскрутив ее (свойство плектонимичности). По периферии структуры идут гидрофильные *сахарофосфатные остовы* обеих цепей, внутри — гидрофобные *пурипиримидиновые пары гетероциклических оснований*: аденин-тимин, гуанин-цитозин, соединенные водородными связями. Пары оснований уложены стопкой одна над другой на расстоянии 0,34 нм и повернуты друг относительно друга вокруг оси спирали (см. *оснований стэкинг*). Длина шага спирали составляет примерно 3,4 нм, что соответствует ~10 п. н. (на самом деле 10,5) на каждый полный виток двойной спирали. Две антипараллельные полинуклеотидные цепи (см. *антипараллельная ориентация*) не совпадают ни по первичной структуре, ни по составу; они комплементарны друг другу (см. *комплементарная цепь*).

Н. Г. Долинная

Уотсон-криковская сторона. См. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*.

Уотсон-криковское спаривание. См. *уотсон-криковская пара оснований*.

Урацил. См. *азотистое основание*.

Урацил-ДНК-гликозилаза (UDG). Фермент, участвующий в ДНК-репарации. Любой остаток урацила, возникающий в результате неверного встраивания или дезаминирования *цитозина*, подлежит удалению. Такой *сайт, лишенный основания*, затем служит субстратом для ферментов репарации.

Sabine Müller

Урациловый арабинонуклеозид. См. *арабинонуклеозиды*.

Урациловый ксилонуклеозид. См. *ксилонуклеозиды*.

Урациловый рибонуклеозид. См. *нуклеозиды*.

Уридин. Природный компонент РНК (см. *нуклеозиды*).

Уридиндифосфат (УДФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Уридинмонофосфат (УМФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Уридинтрифосфат (УТФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Уридинфосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

УТФ. Уридинтрифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Ф

ФАД. См. *флавинадениндинуклеотид*.

ФАД-Н. Семихиноновая форма ФАД (см. *флавинадениндинуклеотид*).

ФАД-Н₂. Полностью восстановленная форма ФАД (см. *флавинадениндинуклеотид*).

Фаза сцепления. Обозначает расположение *аллелей* двух сцепленных локусов на *хроматидах*. Если оба (или доминантных, или рецессивных) аллеля расположены на одной *сестринской хроматиде*, они находятся в фазе притяжения; если они локализованы на разных хроматидах — в фазе отталкивания.

Mauro Santos

Фактор рециркуляции рибосомы (RRF). Белковый фактор, который определяет распад комплекса *рибосомы* с *матричной РНК* после высвобождения тРНК из Р-сайта и образовавшейся белковой цепи (см. *терминация*) с последующей диссоциацией рибосомы на две субъединицы.

Ada Yonath

Фактор теплового шока (ФТШ). Транскрипционный фактор, связывающийся в виде тримера с элементом *теплового шока* выше эукариотических *генов теплового шока*. ФТШ фосфорилируется в результате *теплового шока* и активирует *транскрипцию* генов теплового шока.

Franz Narberhaus

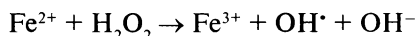
Фактор терминации. См. *фактор трансляции*.

Фактор элонгации. См. *фактор трансляции*.

Фенотип. Физическое воплощение индивидуального организма, возникающее как результат взаимодействия между его *генотипом* (т. е. индивидуальным генетическим составом) и средой, в которой генотип экспрессируется.

Mauro Santos

Фентона реакция. Разложение пероксида водорода в присутствии солей железа с образованием очень реакционноспособного гидроксильного радикала:



Добавление в реакционную среду восстановителя (аскорбата или дитиотреитола) приводит к развитию циклического процесса, который усиливает повреждение биомолекул.

Pierre Fechter

Фермент репарации. Любой фермент, который участвует в репарации (см. *ДНК репарация*). Обычно это ферменты, которые распознают премутагенное повреждение ДНК (см. *ДНК повреждение*) и инициируют его удаление из молекулы ДНК. Прототипами Ф.р. являются *ДНК-гликозилазы*. Кроме того, к Ф. р. относятся репарационные *эндонуклеазы*, *экзонуклеазы* (способные к удалению эндонуклеолитически расщепленных цепей ДНК) и специализированные репарационные *ДНК-полимеразы*. Другие ферменты и некаталитические белки (*ДНК-лигаза*, *ДНК-хеликазы* и белки, связывающие одиночную цепь) могут участвовать в репарации в дополнение к своим основным функциям.

Hans-Joachim Fritz

Фермент рестрикции. См. *эндонуклеаза рестрикции*.

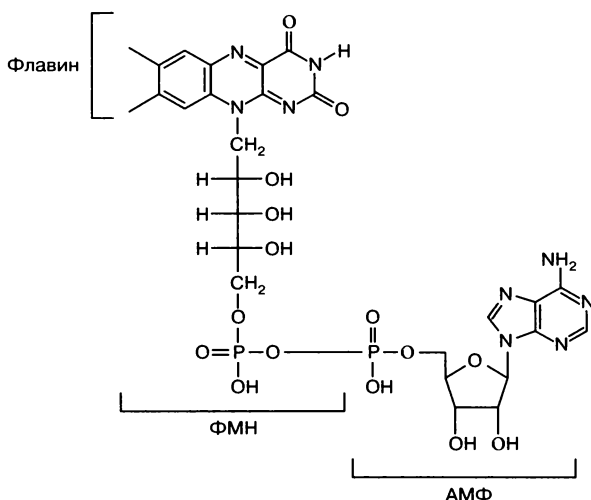
Ферментативное мечение. Модификации или метки могут быть внедрены в структуру молекул ДНК или РНК ферментативно. Примерами могут служить равномерное включение изотопной метки в молекулы *нуклеиновых кислот* в ходе работы полимераз или встраивание метки на 3'- или 5'-конце ДНК и РНК за счет активности киназ и лигаз (см. *олигонуклеотидов мечение*).

Snorri Th. Sigurdsson

Филадельфийская хромосома (Ph). Открыта в Филадельфии в 1960 г. Возникает в результате перестройки *хромосом* — реципрокной *транслокации* (обмена генетическим материалом) между 9-й и 22-й хромосомами у человека. С появлением Ф. х. связывают многие случаи хронической миелоидной лейкемии.

Mauro Santos

Флавинадениндинуклеотид (ФАД). Вопреки своему названию, ФАД представляет собой не истинный *динуклеотид*, а производное *нуклеотида*. Он состоит из *флавиномононуклеотида* (ФМН, рибофлавин-5'-фосфат) и



Флавинадениндинуклеотид

аденозин-5'-фосфата (см. *аденозинфосфаты*). Из-за хромофорных свойств флавина ФАД и ФМН обладают желтой окраской. Соответствующий витамин носит название рибофлавина (лактофлавин, витамин В₂) и является биосинтетическим предшественником ФМН и ФАД. В ходе киназной реакции рибофлавин фосфорилируется до ФМН и затем присоединяется к аденозин-5'-трифосфату (АТФ), в результате чего образуются ФАД и неорганический пирофосфат. Катализ второй реакции осуществляется ферментом ФАД-пирофосфатазой. Флавиновые нуклеотиды ФАД и ФМН — это редокс-активные простетические группы нескольких редокс-активных флавоферментов, например таких, как дегидрогеназы, оксидазы и редуктазы. Оба флавиносодержащих кофактора существуют в трех состояниях: (а) полностью окисленная форма (ФАД), (б) полностью восстановленная форма (ФАД-Н₂) и (в) семихиноновая форма (ФАД-Н). Последнее состояние позволяет ферментам, использующим ФАД или ФМН как редокс-активные кофакторы, функционировать по двухэлектронному (ионному) или одноэлектронному (радикальному) механизмам. См. *ФМН-рибопереключатель*.

Hans-Achim Wagenknecht

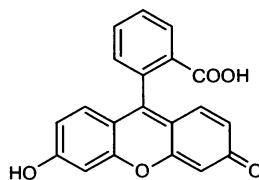
Флавиномононуклеотид (ФМН). См. *флавинадениндинуклеотид*.

Флавиномононуклеотидный рибопереключатель. См. *ФМН-рибопереключатель*.

Фланкирующая последовательность. Нетранскрибируемая последовательность ДНК, расположенная за 5'- или 3'-концом транскрибируемой области *гена*. Ф. п. часто играют роль в регуляции экспрессии генов (см. *гена экспрессия*).

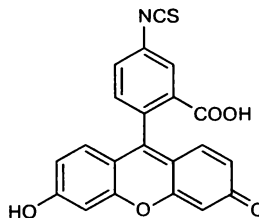
Slawomir Gwiazda

Флуоресцеин. Флуорофор с максимумом поглощения в УФ-диапазоне (390 нм) и максимумом эмиссии при 520 нм. Ф. характеризуется изобестической точкой (равная абсорбция при всех значениях рН) при 460 нм. Из-за выраженной способности к флуоресценции производные Ф. часто используются для *мечения* ДНК и РНК.



Bettina Appel

Флуоресцеина изотиоцианат (FITC). Производное флуоресцеина, в молекуле которого атом водорода в бензольном кольце бензойной кислоты (в *пара*-положении к остатку ксантенила) замещен изотиоцианатной группой. Изотиоцианат реагирует с аминогруппами с образованием сравнительно прочного тиомочевинного мостика. Эта способность используется для внедрения флуоресцеиновой метки в молекулы ДНК и РНК. Методом *твердофазного синтеза* можно получить различные модификации ДНК и РНК, так как нуклеиновые кислоты присутствуют в виде *фосфорамидитов*. Доступны различные модифицированные *линкеры* для 3'-конца (в качестве *твердой фазы*), 5'-конца и лю-



бого другого положения. Для защиты аминогрупп чаще всего используется трифторацетильная группа. В ходе постсинтетической обработки ДНК и РНК трифторацетильная группа снимается путем обработки аммиаком. Для получения меченных флуоресцеином олигонуклеотидов свободная аминогруппа может легко связываться с FITC в слабощелочной среде (pH 8,5–9). FITC также используют для внедрения флуоресцентной группы в белки (например, при флуоресцентном детектировании антител).

Bettina Appel

Флуоресцентная корреляционная спектроскопия (ФКС). См. *флуоресцентная спектроскопия нуклеиновых кислот*.

Флуоресцентная кросс-корреляционная спектроскопия (ФККС). См. *флуоресцентная спектроскопия нуклеиновых кислот*.

Флуоресцентная спектроскопия нуклеиновых кислот. Флуоресценция — это вид люминесценции, в котором захват фотона переводит хромофор в возбужденное состояние с коротким временем жизни — от 10^{-9} до 10^{-8} с (время жизни рассчитывают по времени затухания флуоресценции, экспоненциальная зависимость). Есть несколько путей дезактивации электрона, один из них — возвращение в основное состояние с испусканием характеристического фотона флуоресценции с большей длиной волны. Разность энергий поглощаемого и испускаемого фотона превращается в колебания молекул и, в конечном счете, в тепло. Разность длин волн между максимумом самой длинноволновой полосы поглощения, λ_A , и максимумом спектра флуоресценции, λ_F , называется сдвигом Стокса для данного флуорофора. Существование сдвига Стокса делает технически возможным провести детектирование сигналов почти на уровне фона, т. е. с очень высокой чувствительностью. Поскольку за очень короткое время флуорофор может многократно проходить через цикл поглощение—испускание, индуцированная лазером флуоресценция позволяет обнаружить, идентифицировать и охарактеризовать даже единственную флуоресцирующую молекулу.

Обязательным требованием для детектирования флуоресценции является наличие подходящего флуорофора с высоким квантовым выходом, Φ_F (отношение количества испускаемых фотонов к количеству поглощенных фотонов). Однако природные *азотистые основания* в нуклеиновых кислотах прошли эволюционный отбор на фотостабильность, поскольку побочный процесс внутренней конверсии приводит к быстрой безызлучательной дезактивации химически активных возбужденных электронных состояний. Время их жизни очень мало (менее 10^{-12} с), что приводит низкому квантовому выходу флуоресценции (менее 10^{-4}) и низкой вероятности необратимой фотореакции, приводящей к нефлуоресцентному продукту. Поэтому для исследования нуклеиновых кислот в качестве маркера необходимо встраивание в нуклеиновую кислоту неприродных азотистых оснований, таких как *2-аминопурин* или этеноаденозин, либо эффективного *флуоресцентного красителя* (например, родамина или цианиновых красителей). Такой маркер может также предоставить информацию о своем окружении. Как и при измерении нескольких параметров для одиночной молекулы, при совместном измерении ансамбля путем детектирования с разрешением по времени

можно получить пять измеряемых «параметров хромофора»: спектральные характеристики абсорбции и флуоресценции $F(\lambda_A, \lambda_F)$, яркость флуоресценции и квантовый выход Φ_F , время жизни флуоресценции τ и анизотропия флуоресценции r_0 .

Поскольку электронная плотность в хромофоре характеризуется определенной симметрией, большинство молекул поглощают свет преимущественно в определенном направлении. Поэтому, возбуждая флуоресценцию линейно поляризованным светом, можно определить ориентацию и подвижность хромофоров (фотоселекция). Поляризованная флуоресценция характеризуется анизотропией (определяется как разница между параллельным и перпендикулярным к поляризации возбуждающего света компонентами флуоресценции, нормированная на общую интенсивность флуоресценции, испускаемой во всех направлениях). В химии анизотропия флуоресценции служит для определения вращательной диффузии молекул по декорреляции поляризации флуоресценции. Путем измерения затухания анизотропии флуоресценции во времени получают времена декорреляции. Это информация о вращении молекулы как целого или ее фрагмента по отношению ко всей молекуле. По этим данным можно оценить общую форму и гибкость *макромолекулы* (например, переход из одноцепочечной формы в двуцепочечную). Измерение анизотропии относится к наиболее важным методам исследования связывания белков с мечеными нуклеиновыми кислотами. При использовании стандартных стационарных флуоресцентных спектрометров можно достичь чувствительности до наномолярных концентраций в объеме менее 100 мкл. Уменьшение или увеличение квантового выхода красителей в присутствии нуклеиновых кислот также часто используется для их определения в ходе *гель-электрофореза* или при проведении *полимеразной цепной реакции*: (а) связывание красителей с *малым* или *большим желобком* (например, красителя SYBR Green) и *интеркаляция* между *парами оснований* (например, бромистый этидий, TOTO, YOYO); (б) идентификация оснований нуклеотидов «умными» флуоресцентными красителями.

При рассмотрении молекулярных систем изменения параметров флуоресценции одного флуорофора иногда не дают достаточной информации для идентификации молекулы или более детального исследования молекулярных взаимодействий. Дополнительную информацию можно получить, используя большее число хромофоров или исследуя флуктуации флуоресценции во времени. (а) При наличии более одного флуорофора на одну изучаемую частицу возрастает возможность определить стехиометрию и взаимодействия индивидуальных частиц по плотности потока фотонов и по их совпадениям. (б) Оптическое взаимодействие между двумя хромофорами путем *флуоресцентного резонансного переноса энергии Фёрстера (FRET)*. (в) Транспортные характеристики (вращательная и поступательная диффузия) и более быстрые движения (флуктуации конформации) флуоресцентно меченных молекул можно изучать по результирующей флуктуации сигнала в конфокальных измерениях на уровне наномолярных или более низких концентраций. Разработано много различных методов для получения из этих флуктуаций информации о молекулярной динамике. Флуоресцентная корреляционная спектроскопия (ФКС) показывает как молекулярные кон-

центрации, так и параметры подвижности молекул. Двухцветная флуоресцентная кросс-корреляционная спектроскопия (ДФКС) позволяет детектировать молекулярные взаимодействия.

Наиболее привлекательным свойством оптического взаимодействия двух флуоресцирующих репортерных групп посредством FRET является возможность определять особенности строения нуклеиновых кислот на качественном или количественном уровне, выполняя измерения для одной молекулы или для их ансамбля. Метод был использован при изучении структуры и динамики нуклеиновых кислот: строения и укладки *рибозимов*, спиральности, *изгибания* и *соединений* ДНК и РНК, *шпилек* нуклеиновых кислот, *рибосом*, комплексов нуклеиновых кислот с белками, индивидуальных молекулярных траекторий в реакционных циклах различных белков, связывающих нуклеиновые кислоты (например, *полимераз*, *хеликаз*). При FRET энергия от возбужденных флуорофоров-доноров D безызлучательно передается к акцепторному флуорофору А посредством диполь-дипольных взаимодействий, сильно зависящих от расстояния. Измеряя эффективность FRET, можно получить информацию о больших молекулярных расстояниях (20–100 Å). Это практически невозможно сделать любым другим методом в растворе. Однако количественный анализ затруднен, поскольку FRET зависит не только от расстояния, но и от некоторых других изменяющихся во времени параметров. Это ориентация молекул, перекрывание спектров, тушение красителя, степень мечения красителем и его обесцвечивание. Чтобы получить высокое разрешение, необходимое для различения структурно похожих веществ, эксперименты по FRET выполняли с использованием многопараметрического флуоресцентного детектирования (интенсивность, время жизни и анизотропия) с двумерным анализом данных для одной молекулы, что и объясняет неомогенное уширение сигнала из-за перечисленных выше трудностей. При проведении анализа на уровне одиночных молекул FRET может дать информацию о гетерогенности в смысле конформаций и о конформационной динамике, что невозможно получить при изучении молекулярных ансамблей. Если расстояние от донора до акцептора составляет 100 Å или более, эффективность FRET, как правило, настолько мала, что флуоресценцию акцептора можно определить только с помощью дополнительного прямого возбуждения. Так происходит в случае двухфотонного или двухцветного возбуждения в режиме непрерывного излучения или в режиме переменного лазерного возбуждения (ALEX). Метод FRET применяется также как аналитический, очень высокоспецифический инструмент в полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР) (например, Light cycler, TaqMan). Эти схемы детектирования основаны на FRET с изменяющимся в течение цикла ПЦР расстоянием между D и A (может быть нефлуоресцентным).

Claus Seidel

Флуоресцентное мечение. Внедрение *флуоресцентного красителя* в молекулу ДНК или РНК (см. *олигонуклеотидов мечение*).

Флуоресцентный зонд. Зонд, используемый для детектирования анализируемого образца. Содержит *флуоресцентный краситель* и потому флуоресцирует при возбуждении светом с соответствующей длиной волны.

Флуоресцентный краситель. Органическая молекула (например, *флуоресцеин*), которая возбуждается при поглощении света определенной длины волны и при возвращении в основное (исходное) состояние испускает свет с большей длиной волны (светится). Спектры поглощения и испускания специфичны для каждого красителя. Ф. к. используются для локализации и отслеживания *нуклеиновых кислот* и других *биополимеров*, используются в *молекулярных маяках*. Ф. к. важные компоненты метода *FRET* для измерения расстояний в больших молекулах и для изучения конформационных изменений одиночных молекул.

Snorri Th. Sigurdsson

Флуоресцентный маркер. *Флуоресцентный краситель*, внедренный в изучаемую молекулу (например, *нуклеиновую кислоту*), обычно с целью отслеживания ее перемещений или мониторинга ее функций.

Snorri Th. Sigurdsson

Флуоресцентный праймер. Молекулярно-биологические методики, связанные с *амплификацией* ДНК и РНК, обычно предполагают использование таких количеств *нуклеиновых кислот*, которые не могут быть детектированы визуально. Разработаны методы, делающие возможным детектирование и манипулирование с очень малыми количествами нуклеиновых кислот. Наиболее широко распространено мечение ДНК или РНК радиоизотопной меткой (^{32}P или ^{35}S), которая позволяет обнаружить нуклеиновые кислоты на пленке методом автордиографии (см. *радиоактивное мечение*). Из-за опасности, связанной с хранением и использованием изотопных меток, были разработаны безопасные (без применения радиоизотопов) методики на основе флуоресценции. Возможно мечение *праймеров* путем внедрения флуоресцентно меченых нуклеотидов или путем прямого присоединения флуорофора к *олигонуклеотиду* в ходе твердофазного химического синтеза праймеров (см. *олигонуклеотидов синтез*). Ф. п. характеризуются определенными длинами волн возбуждающего и испускаемого излучений, часто в узком диапазоне, что делает возможным применение нескольких флуорофоров. Например, современная методика *секвенирования* предполагает использование четырех различных флуорофоров, соответствующих каждому из природных азотистых оснований. Детектирование происходит одновременно, поскольку длины волн эмиссии различны. Разработано множество флуорофоров с разными диапазонами длин волн возбуждающего и испускаемого света, а детектирование флуоресценции столь же чувствительно, что и детектирование радиоизотопной метки (хотя возможно выцветание флуорофоров при длительной экспозиции на свету). Ф. п. имеют широкое применение при секвенировании ДНК (см. *ДНК секвенирование*), количественной *полимеразной цепной реакции*, *FRET* и детектирование одиночных молекул.

David Loakes

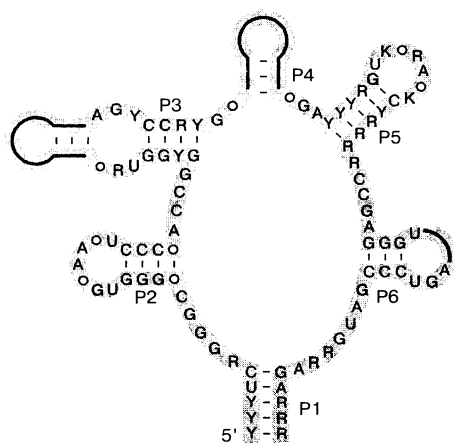
Флуоресцентный резонансный перенос энергии Фёрстера (FRET). См. *флуоресцентная спектроскопия нуклеиновых кислот*.

Флуоресцирующий краситель. См. *флуоресцентный краситель*.

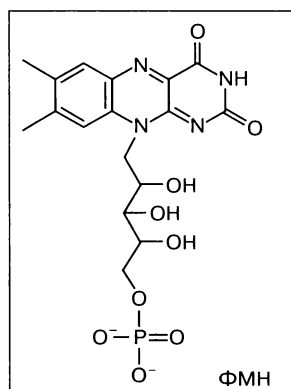
ФМН. См. *флавиномононуклеотид, флавинаденидинуклеотид, ФМН-рибопереключатель.*

ФМН-рибопереключатель. Высококонсервативный *РНК-домен*, часто обнаруживаемый в 5'-нетранслируемой области прокариотических *генов*, которые связаны с биосинтезом и транспортом рибофлавина и *флавиномононуклеотида* (ФМН); известен также как RFN-элемент. Был идентифицирован как *аптамер* в составе класса *рибопереключателей*, которые селективно и напрямую связывают ФМН. Биоинформатический анализ показал, что Ф. широко распространен среди различных видов бактерий и контролирует экспрессию генов (см. *гена экспрессия*) на уровне транскрипции или трансляции. Во всех изученных случаях связывание *лиганда* с РНК приводило к негативной регуляции уровня экспрессии; таким образом, Ф. относится к OFF-переключателям. *Консенсусная последовательность* аптамера, построенная по филогении этого рибопереключателя, состоит из 212 *нуклеотидов* и способна к укладке в сложную *вторичную структуру* в виде пяти *шпилек*, окружающих центральную *петлю*. Такое сложное устройство может быть нужно для избирательного связывания ФМН и исключения других сходных с ним метаболитов, например рибофлавина. Последний отличается от ФМН только отсутствием одной фосфатной группы, но связывается с аптамером с константой аффинности ниже почти в 100 раз.

Связывание ФМН с рибопереключателем детально изучено *in vitro*, и результаты показали, что *транскрипция* идет слишком быстро, чтобы связывание достигло равновесия. Это означает, что для успешной работы рибопереключателя (например, при терминции транскрипции) требуются более высокие концентрации ФМН, чем те, которые предполагает равновесная *константа диссоциации*. Иными словами, система функционирует как кинетический переключатель, и константа диссоциации пары аптамер—лиганд обеспечивает эффективное переключение, а не реальную внутриклеточную



○ любой нуклеотид
— различающиеся вставки



концентрацию ФМН. Это может оказаться важным общим свойством рибопереклюателей, поскольку измеренная напрямую *in vitro* K_d для большинства рибопереклюателей-аптамеров значительно ниже, чем концентрация метаболита *in vivo*.

Rüdiger Welz

Формилметионил-тРНК (тРНК_I^{Met}). *Инициаторная тРНК* (тРНК_и), которая используется в прокариотических клетках, митохондриях и пластах при инициации *трансляции*. Представляет собой специализированную тРНК^{Met}, которая аминоацилирована обычной метиониновой тРНК-синтетазой (как это происходит и у архей, и у эукариот), но несет дополнительно формилированную аминокислотную группу, присоединяемую ферментом метионил-тРНК-N-формилтрансферазой (другое название трансформилаза, EC 2.1.2.9). N-Формилирование может быть заблокировано путем генного нокаута, что у *Escherichia coli* приводит к замедленному росту. Однако для некоторых бактерий (например, для *Pseudomonas aeruginosa*) характерны менее выраженные эффекты и широкий спектр чувствительности. Нативные белки в любом случае подвержены быстрому деформилированию ферментом пептиддеформилазой (КФ 3.5.1.31). Преимущество столь недолговременного формилированного состояния, предположительно, заключается в большей устойчивости тРНК_I^{Met} к гидролизу, что повышает время ее жизни и снижает внутриклеточную концентрацию тРНК. N-Формилирование делает возможным более точное узнавание при инициации (позитивный или негативный детерминант для узнавания IF2 или EF-Tu соответственно) и блокирует реакцию между Р-сайтом и А-сайтом при первой пептидилтрансферазной реакции. Для эукариот формилирование нехарактерно, что делает все ферменты, вовлеченные в цикл формилирования, перспективной мишенью для антибиотиков.

Stefan Vörtler

Фосфатаза. См. *фосфоэстераза*.

Фосфатный остов. См. *сахарофосфатный остов*.

Фосфитный триэфир. См. *фосфорамидитный метод*.

Фосфодиэстераза яда змеи. *Фосфодиэстераза*, выделяемая из змеиного яда.

Фосфодиэстераза. Фермент, который расщепляет *фосфодиэфирные связи*. Субстратом может быть нуклеиновая кислота (ДНК, РНК) или циклические нуклеозидмонофосфаты (например, *цАМФ* или *цГМФ*). Так как эти циклические нуклеотиды участвуют в процессе передачи межклеточного сигнала в качестве вторичных мессенджеров, Ф. играют важную роль в клеточных процессах. Значительный интерес вызывает использование силденафила — ингибитора одной из *цГМФ*-расщепляющей Ф. человека. Силденафил — один из основных компонентов виагры, препарата для лечения мужской эректильной дисфункции (импотенции).

Uli Hahn

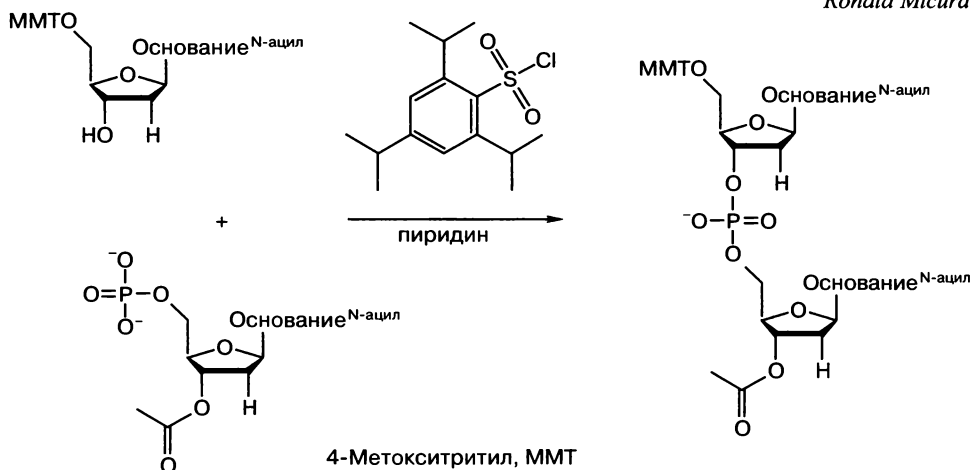
Фосфодиэфир. Химическая структура, которая соединяет нуклеотиды в цепях ДНК или РНК (см. *фосфодиэфирный метод*).

Фосфодиэфирная связь. В молекуле ДНК или РНК соединяет 3'-углерод одного *нуклеотида* с 5'-углеродом другого нуклеотида посредством образования фосфорного эфира. Связывает путем образования двух эфирных связей гидроксилем и фосфатом *сахарофосфатный остов* нуклеиновых кислот.

Bettina Appel

Фосфодиэфирный метод. Исторически первый метод синтеза *олигонуклеотидов* (см. *олигонуклеотидов синтез*), предложенный в 1960-е гг. На стадии присоединения нуклеозида использовался 5'-О-защищенный дезоксинуклеозид и фосфомоноэфир 3'-О-защищенный дезоксинуклеозид, активированный триизопропилбензолсульфонилхлоридом. В результате образуется 5'-3'-фосфодиэфирная связь между двумя *нуклеозидами*.

Ronald Micura



Фосфодиэфирный метод

Фосфодиэфирный остов. См. *сахарофосфатный остов*.

Фосфомоноэстераза. Фермент, расщепляющий эфиры фосфорной кислоты, в которых только одна гидроксильная группа кислоты взаимодействует со спиртом (см. *щелочная фосфатаза*).

Фосфомоноэфир. Химическая структура, образующаяся при взаимодействии фосфорной кислоты со спиртом (см. *нуклеозидфосфаты*).

Фосфорамидит. Связывающий нуклеозиды компонент, который используется в синтезе олигонуклеотидов *фосфорамидитным методом*.

Фосфорамидитный метод. Наиболее широко используемый твердофазный метод химического синтеза олигодезоксирибонуклеотидов (ДНК) и олигорибонуклеотидов (РНК), названный по стадии связывания, включающий реакцию ([2-цианоэтокс]-N,N-диизопропиламино)фосфинильной или (метокси-N,N-диизопропиламино)фосфинильной группы на 3'-О защищенного нуклеозида, активированного тетразолом (или его производным), с 5'-гид-

роксилом *нуклеозида* (цепочки нуклеозидов), прикрепленным к твердой подложке, что приводит к образованию фосфитной триэфирной связи.

Полный цикл присоединения нуклеозида состоит из 4 стадий: (а) удаление защитной группы с 5'-О терминального фрагмента рибозы в нуклеозиде, связанном с подложкой, (б) связывание активированной фосфорамидитной группы по описанному выше механизму, (в) окисление фосфитной триэфирной связи до соответствующего фосфатного триэфира и (г) защита непрореагировавших 5'-гидроксильных групп нуклеозида (см. *олигонуклеотидов синтез*).

Для синтеза РНК применяют в основном три варианта фосфорамидитного метода; название метода — от защитной группы на 2'-гидроксильной группе: *TBDMS-метод*, *ТОМ-метод* и *АСЕ метод*.

Ronald Micura

Фосфорибозный остов. См. *сахарофосфатный остов*.

Фосфорилирование. Перенос фосфатной группы на 5'-конец цепи нуклеиновой кислоты, осуществляемый *полинуклеотидкиназой* с затратой АТФ.

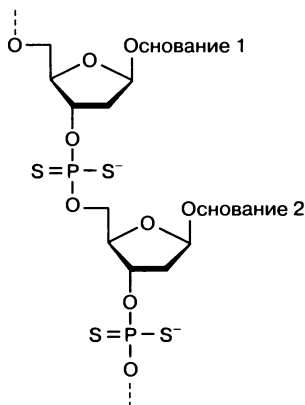
Фосфорной кислоты диэфир. См. *фосфодиэфир*.

Фосфорной кислоты моноэфир. См. *фосфомоноэфир*.

Фосфорной кислоты триэфир. См. *фосфотриэфир*.

Фосфородитионатные олигонуклеотиды. Аналоги ДНК, в молекулах которых оба немостиковых кислорода в остатке фосфорной кислоты между нуклеотидами замещены на серу (см. *антисмысловый медикамент*).

Irene Drude

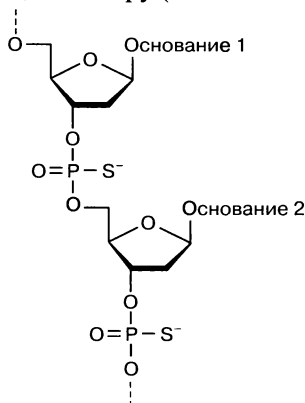


Фосфоротионатное секвенирование. Метод анализа последовательности (см. *последовательности анализ*) молекулы ДНК, сходный с *секвенированием по Сенгеру*. Этот метод основан на ферментативном синтезе ДНК с использованием в качестве субстрата смеси нормальных *нуклеозидтрифосфатов* и нуклеозид-γ-тиотрифосфатов (дНТФγS). Начиная с *праймера*, который отжигается на одноцепочечной ДНК-мишени, в ходе реакции *удли-*

нения *праймера* синтезируется комплементарная цепь. Фосфоротиоатные аналоги также служат субстратом *полимеразной цепной реакции*, встраиваясь случайным образом. Положения дНТФγS в новосинтезированной цепи можно выявить в реакции с 2-иодэтанолом или 2,3-эпоксиэтанолом, в результате которой образуются фосфоротиоатные триэфиры. Последние могут быть гидролизованы быстрее, чем *фосфодиэфиры*. Гидролиз в контролируемых условиях приводит к образованию *фрагментов* ДНК, которые анализируют так же, как и при использовании терминирующих цепь нуклеотидов в методе Сенгера.

Susanne Brakmann

Фосфоротиоатные олигонуклеотиды. Аналоги ДНК, в молекулах которых один из немостиковых атомов кислорода в остатке фосфорной кислоты между нуклеотидами замещен на серу (см. *антисмысловый медикамент*).



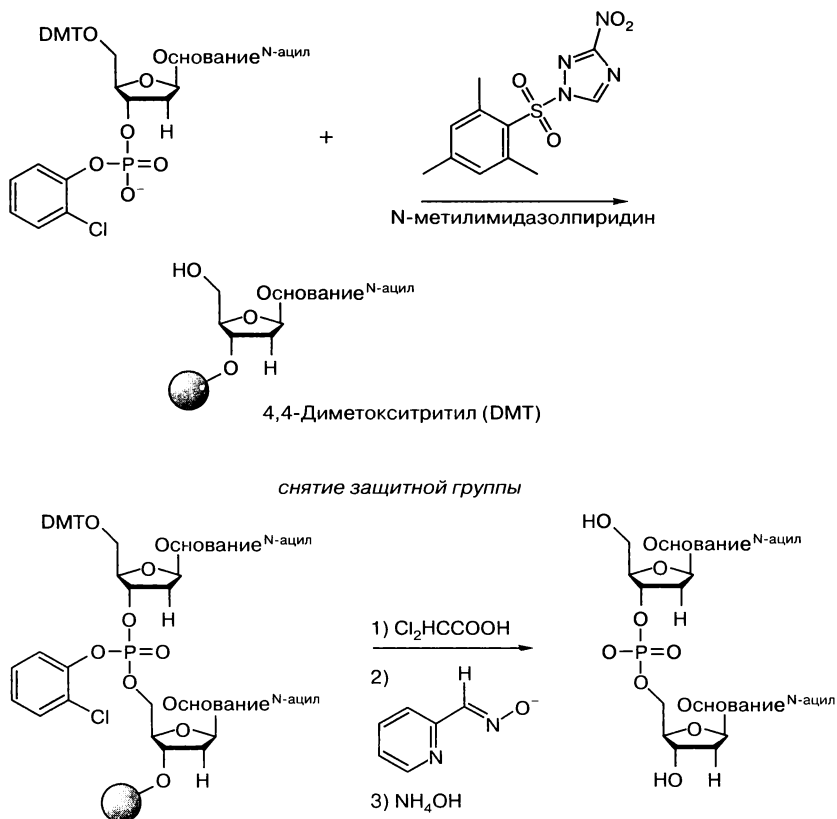
Фосфотриэфир. Производное фосфорной кислоты, в котором все ОН-группы фосфорной кислоты образуют эфиры со спиртовыми группами (см. *фосфотриэфирный метод*).

Фосфотриэфирный метод. Классический метод синтеза олигонуклеотидов (см. *олигонуклеотидов синтез*), впервые примененный для твердофазного синтеза в начале 1980-х гг. Стадия связывания включает реакцию между защищенным по 5'-О дезоксинуклеозид-3'-О-(хлорфенил)фосфатом и дезоксинуклеозидом, прикрепленным по 3'-О-положению к твердой подложке; последний активируется мезитилсульфонил-3-нитро-1,2,4-триаколидом, что приводит к образованию 5'-3'-*фосфотриэфирной* связи между двумя нуклеозидами. В последнее время фосфотриэфирный метод используется в специальных синтезах, например в твердофазном синтезе циклических ДНК- и РНК-олигонуклеотидов.

Ronald Micura

Фосфоэстераза. Фермент, который расщепляет фосфоэфирные связи (см. *ДНКаза, РНКаза, фосфодиэстераза*).

Фотолиаза. Мономерный белок, состоящий из 450–550 аминокислот и двух нековалентно связанных хромофоров-кофакторов. Один из кофакторов во всех изоформах фермента всегда *флавинадениндинуклеотид* (ФАД). Вто-



Фосфотриэфирный метод

рым кофактором служит метилтетрагидрофолат (МТНФ) или 8-гидрокси-7,8-дидеметил-5-деазарибофлавин (8-HDF). УФ-излучение вызывает два основных типа повреждений ДНК (см. *ДНК повреждение*): циклобутан-пиримидиновые димеры (см. *тимидиновый димер*) и пиримидинпиримидиновые (6—4) фотопродукты. Репарация обоих типов повреждений светозависима и осуществляется ДНК-Ф. с похожей структурой по похожим механизмам. Однако ДНК-Ф., которая репарирует один тип фотопродукта, неспособна репарировать другой. Поэтому эти ферменты подразделяют на фотолиазы циклобутанпиримидиновых димеров (CPD) и (6-4)фотолиазы. Из-за своей светозависимой активности Ф. обнаруживаются только у таких бактерий, как *Escherichia coli* или *Anacycstis nidulans*. Эти ферменты распознают субстрат (поврежденную ДНК) и образуют ДНК-белковый комплекс с вывернутым основанием (см. *выворачивание оснований*). Механизм репарации состоит из каскада различных фотоиндуцируемых стадий: кофакторы МТНФ или 8-HDF играют роль антенн для поглощения света в широком диапазоне видимого спектра и передают энергию возбужденного состояния по механизму Фёрстера на кофактор ФАД. Возбужденное состояние ФАД является одним из наиболее сильных восстановителей в биологических системах и способно восстанавливать повреждения ДНК в ходе процесса пере-

носа электронов, например, на *тимидиновый димер* во внеспиральной, вывернутой конформации. Восстановление циклобутанового кольца приводит к циклореверсии. После разделения димера электрон возвращается назад на флавиновый кофактор.

Hans-Achim Wagenknecht

Фотолинкинг. См. *кросс-линкинг под действием УФ-излучения, кросс-линкинг под действием лазерного облучения.*

Фрагмент Клёнова. Большой (67 кДа) фрагмент *ДНК-полимеразы I* из *Escherichia coli*, обладающий двумя ферментативными активностями. ДНК-полимеразная активность позволяет осуществить конденсацию *нуклеозидтрифосфатов* на 3'-гидроксильную группу цепи *возникающей ДНК* с высвобождением *пирофосфата*. 3'-5'-Экзонуклеазная активность катализирует гидролиз *нуклеотидов*, образующих неверные пары оснований (см. *оснований пара*), с 3'-конца синтезируемой цепи ДНК. См. *полимераза Корнберга*.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

Фрагмент. *Олигонуклеотид* или *полинуклеотид*, образующийся из молекулы нуклеиновой кислоты большего размера при эндонуклеолитическом расщеплении, механическом разрыве или химическом разрушении (например, при щелочном гидролизе).

Valeska Dombos

Фрагментация. Характеризует строение соединения по данным *масс-спектрометрии*. Ф. нуклеиновых кислот (*футпринтинг*) при действии гидроксильных радикалов, при эндонуклеолитическом расщеплении, щелочном гидролизе или действии иных факторов используется для исследования структуры нуклеиновой кислоты и специфических *взаимодействий нуклеиновых кислот с белками*.

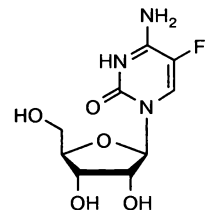
Valeska Dombos

Фрагменты Оказаки. Короткие фрагменты ДНК, которые образуются на отстающей цепи в процессе репликации ДНК. Названы в честь открывшего из Рэйдзи Оказаки. У эукариот длина фрагментов составляет около 100–200 нуклеотидов, у прокариот — около 1000–2000 нуклеотидов.

Andreas Marx, Karl-Heinz Jung

5-Фторуридин (5-FU). Аналог *уридина*, в котором атом водорода при С5 замещен фтором. Аналогично *5-фторцитидину*, 5-FU может быть использован при изучении метилирования *рибонуклеотидов* в качестве блокирующего субстрата для метилаз.

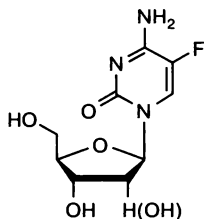
Sabine Müller



5-Фторуридин (5-FU)

5-Фторцитидин (5-FC) и 5-фтор-2'-дезоксцитидин. Аналоги *цитидина* и *2-дезоксцитидина*, в которых атом водорода при C5 замещен на фтор. Соответствующий *дезоксинуклеотид* используется при изучении метилирования ДНК (см. *ДНК метилирование*), особенно для выяснения механизма работы *метилтрансфераз*, которые переносят метильную группу на C5-атом уридина. Реакция протекает через ковалентный аддукт, обратимо образующийся в результате обратимого присоединения по Михаэлю фермента к двойной связи C5=C6 в остатке цитозина. Из-за наличия фтора при C5 последняя стадия с участием фермента (высвобождение фермента путем β -элиминирования) не происходит, в результате чего фермент остается ковалентно связанным с остатком цитидина. Использование 5-FC в составе ДНК-субстратов *цитозин(C5)-ДНК-метилтрансфераз* позволило изучить механизм работы этих ферментов и осуществить кристаллизацию аддукта белка с ДНК. См. *ДНК метилирование, ДНК-метилтрансфераза, цитозин(C5)-ДНК-метилтрансферазы*.

Sabine Müller



Функциональное клонирование. Отличается от *позиционного клонирования*. Ф. к. — это идентификация *генов*, связанных с развитием заболевания на основании их функции и предположительного участия кодируемых ими белков в развитии патологии.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Функциональные группы. Части молекулы, определяющие ее реакционную способность. Ф. г. органических соединений часто содержат гетероатомы (N, O, S и т. д.).

Футпринтинг. Метод поиска в структуре ДНК *сайта связывания* ДНК- или РНК-связывающих *лигандов* (белков, РНК, метаболитов), а также метод изучения сборки *рибонуклеопротеиновых комплексов*, при этом требуется защита нуклеотидов от взаимодействия с ферментами или химическими зондами. В основном используют химические зонды малых размеров, которые нечувствительны к *вторичной структуре* РНК и модифицируют рибозофосфатный остов, например Fe-ЭДТА или I_2 . Применение последнего требует использования *модифицированных РНК* на основе 5'-O-Sp(1-тио) нуклеотидных аналогов. Трифосфатное производное аналога нуклеотидов случайным образом встраивается в РНК-*транскрипт*, где *фосфортимоатная связь* может быть затем селективно расщеплена при добавлении I_2 .

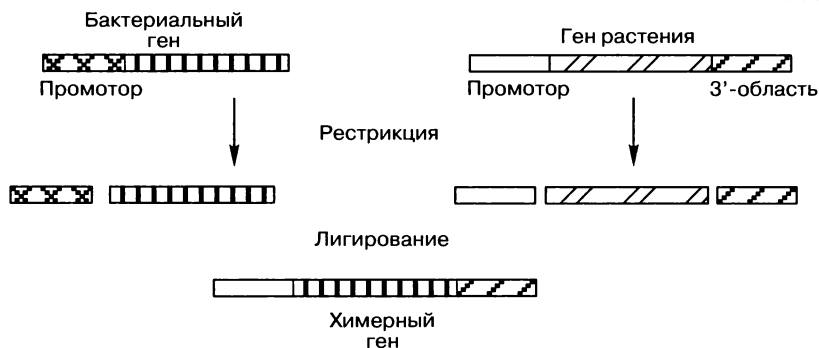
Pascale Romby, Pierre Fechter

X

Хеликаза. См. *ДНК-хеликаза*.

Химера. Организм, состоящий из генетически различных типов клеток. В молекулярной биологии конструкция, содержащая последовательности ДНК из различных источников.

Matthäus Janczyk



Химера

Химерная ДНК. Молекула ДНК, в которую путем рекомбинации был внедрен *ген* из другого организма. *Плазмиды*, используемые для *трансфекции* генов в клетку из внешних источников, несут химерную ДНК.

Matthäus Janczyk

Химический мутагенез. Метод индуцирования *мутаций* при помощи химических *мутагенов*. Химические мутагены обладают разным потенциалом воздействия на живые клетки, который зависит от таких параметров, как токсичность, способ взаимодействия с ДНК и возможность исправлять индуцированные химические изменения в молекуле ДНК системами репарации (см. *ДНК репарация*). К широко используемым мутагенам относятся этилметансульфонат и 2-гидрокси-4-метоксибензофенон.

Bettina Appel

Химический синтез ДНК и РНК. См. *олигонуклеотидов синтез*.

Химическое и ферментативное определение структуры РНК (картирование). Метод, позволяющий выяснить строение РНК любого размера. Упакованная РНК подвергается химическим или ферментативным реакциям, в ходе которых происходят модификации *оснований* РНК, фосфатов или *рибоз* и (или) разрывы по специфическим сайтам РНК. Реакции проводят в определенных условиях, когда на одну молекулу РНК приходится менее одного разрыва или модификации. *Нуклеазы*, которые используют в исследованиях строения РНК, проявляют одноцепочечную или двуцепочечную специфичность, а некоторые из них специфичны к определенной последовательности.

Таблица. Нуклеазы, наиболее часто используемые для определения вторичной структуры РНК.

Фермент	Одно- или двухцепочечная	Необходимые последовательности
РНКаза T1	одноцепочечная	3'-гуанин
РНКаза T2	одноцепочечная	нет (предпочтительно аденин)
Нуклеаза S1	одноцепочечная	нет
РНКаза V1	двухцепочечная	нет

Описано несколько типов химических реагентов, используемых при картировании РНК. (а) Соединения, специфичные к основаниям, широко используют для установления моделей *вторичной структуры РНК*. Сочетая диметилсульфат (DMSO), 1-циклогексил-3-(2-N-метилморфолиниоэтил) карбодиимид *n*-толуолсульфонат (СМСТ) и 2-оксо-3-этоксипутаналь (кетоксаль), можно картировать доступность четырех азотистых оснований в одной позиции из уотсон-криковской пары (см. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*). Эти реагенты модифицируют целевые нуклеотиды таким образом, что они не участвуют в образовании уотсон-криковской пары. Атом N7 пуринов можно модифицировать диэтилпирокрбонатом (DEPC) для *аденинов* и DMSO или комплексом никеля для *гуанинов*. Модифицируются те пурины, которые не участвуют в хугстиновских или обращенных хугстиновских взаимодействиях. Комплексы никеля и DEPC очень чувствительны к стэкингу оснований, поэтому N7 пуринов внутри спирали никогда не реагирует, кроме ситуации, когда в спирали расширен большой желобок. (б) Ионы двухвалентных металлов необходимы для *сворачивания РНК* — они нейтрализуют и связывают отрицательно заряженные *фосфорибозные остовы*. При определенных условиях связывание двухвалентных ионов может способствовать появлению разрывов в РНК. Например, ионы Pb^{2+} разрушают однонитевые участки РНК, *петли* и *выпетливания*. (в) Химические реагенты другого типа, к ним относятся этилнитрозомочевина (ENU) и гидроксильные радикалы, атакуют рибозофосфатный остов. ENU — алкилирующий агент, который этилирует фосфаты. Образующиеся этилфосфотриэфиры нестабильны и в мягких щелочных условиях легко распадаются. Гидроксильные радикалы могут образоваться при взаимодействии комплекса $Fe(II)$ –ЭДТА с пероксидом водорода. Радикалы атакуют атомы C1' и C4' рибозы и позволяют в одном-единственном эксперименте собрать информацию и о внутренних, и о наружных участках большой высокоструктурированной молекулы РНК. Кроме того, гидроксильные радикалы могут образовываться из пероксонитрита калия через промежуточный продукт — пероксоазотную кислоту. При радиоллизе воды под действием рентгеновского излучения гидроксильные радикалы образуются в достаточном количестве за миллисекунды. Методом углового рассеяния рентгеновских лучей с разрешением по времени (SAXS) можно обнаружить кратковременные взаимодействия РНК–РНК и быстрые изменения общих геометрических форм больших РНК. Анализ структуры с помощью химических реагентов может производиться и в различных эксперимен-

тальных условиях (например, при разных температурах или концентрациях двухвалентных ионов).

Определение разрывов или модификаций можно проводить двумя различными методами в зависимости от длины РНК и характера модификаций. В первом методе используют РНК, меченные с конца (см. *концевое мечение, олигонуклеотидов мечение*). Он позволяет определить только разрывы и ограничен длиной РНК до 300 нуклеотидов. Во втором методе применяется *удлинение праймера*; он дает возможность детектировать точки остановки *обратной транскрипции* на *модифицированных нуклеотидах* или разрывах. Этот метод применяется для РНК любых размеров, с любыми ферментами и реагентами.

Таблица. Химическое и ферментативное картирование структуры РНК

Химические реагенты	Специфичность
Реагенты, специфичные к основаниям	
DMS	C(N3), A(N1), G(N7)
CMCT	U(N3), G(N1)
Кетоксаль	G(N1, N2)
DEPC	A(N7)
NiCR	G(N7)
Двухвалентные ионы	
Pb ²⁺	специфические центры связывания двухвалентных ионов одноцепочечные участки
Реагенты, специфичные к рибозофосфатам	
ENU	фосфаты
Fe-ЭДТА, пероксонитрат калия	рибозы

Pascale Romby, Pierre Fechter

Химическое интерференционное картирование. Определение набора *нуклеотидов* в нуклеиновых кислотах, которые вызывают потерю функций молекулы при модификации химическими реагентами в определенных положениях. Метод применяется для любых РНК, для которых можно различить активные и неактивные состояния. Функции РНК, которые чувствительны к химической интерференции, — это катализ, фолдинг, связывание с белками или другими лигандами и способность выступать в качестве субстрата для химических реакций.

Pascale Romby, Pierre Fechter

Химическое лигирование. Химически индуцированное ковалентное соединение олигонуклеотидов, которые сближены на комплементарной матрице благодаря специфическим взаимодействиям, стабилизирующим двуспиральную структуру *нуклеиновых кислот*. При первых попытках провести Х. л. эксперименты проводили на несовершенных дуплексах нуклеиновых

кислот с целью моделирования пребиотического синтеза РНК и создания альтернативного метода сборки генов, в котором стадия ферментативного лигирования заменена Х. л. Позднее молекулярная архитектура двуспиральных моделей стала более разнообразной, что позволило изучать не только матричную конденсацию моно(олиго)нуклеотидов, но процессы конкатемеризации и циклизации ДНК, получения разветвленных и гантелеобразных ДНК. Прогресс в этой области шел параллельно с совершенствованием методов синтеза олигонуклеотидов. При исследовании закономерностей Х. л. чаще всего использовали двуспиральные структуры, содержащие единственный одноцепочечный разрыв (реакционный центр). Реакции Х. л. проводили в водной среде в условиях устойчивости двойных спиралей нуклеиновых кислот с помощью водорастворимых реагентов, активирующих фосфатную группу дуплексной структуры. Использовались также долгоживущие производные олигонуклеотидов, формирующие в дальнейшем двойную спираль и активирующиеся при сближении с нуклеофильной группой соседнего олигонуклеотида, либо с помощью внешних факторов, таких как окисление, облучение и др. Показано, что с помощью реакций Х. л. в заданное положение олигонуклеотидной цепи можно вводить, кроме природной фосфодиэфирной связи, новые типы межнуклеотидных связей: *пирофосфатную*, *фосфоамидную*, фосфорилдисульфидную, фосфотиозфирную, фосфоселеноэфирную, поскольку активация реагирующих групп с помощью химического реагента снимает ограничения, обусловленные требованиями субстратной специфичности фермента. Эффективность химической реакции в дуплексах нуклеиновых кислот определяется стабильностью вторичной структуры и степенью сближения реагирующих групп. Именно эти факторы приводят к увеличению локальной концентрации взаимодействующих компонентов на несколько порядков по сравнению с соответствующими реакциями в растворе. Важное значение имеет также ориентация реагирующих групп. Любой точечный дефект вблизи места одноцепочечного разрыва (неканоническая пара, *делеция* или *инсерция*), приводящий к отклонению геометрии *переходного состояния* от геометрии, «диктуемой» двуспиральной структурой ДНК, вызывает резкое замедление Х. л. Установлено, что реакционная способность взаимодействующих групп чувствительна даже к зависящей от последовательности вариации локальной *конформации В-ДНК*, т. е. эффективность химического лигирования зависит от природы звеньев, между которыми образуется новая фосфодиэфирная связь. Исследования последних десятилетий показали, что в качестве матрицы для Х. л. могут выступать олигонуклеотидные аналоги, содержащие остатки гексозы или пиранозы в *сахарофосфатном остове*, а также производные гетероциклических оснований. Более того, химические реакции в формате матричного синтеза, направляемого ДНК, могут проходить даже между функциональными группами, не имеющими отношения к нуклеиновым кислотам, например реакции с участием металлоорганических соединений, образование связи С—С. На природу матричных реакций большое влияние оказывают особенности архитектуры комплекса, образованного при гибридизации комплементарных последовательностей нуклеиновых кислот. В случае, когда реагирующие группы не фиксируются однозначно на матрице ДНК, как при их локали-

зации на концах комплементарных цепей разной длины, в результате Х. л. может реализоваться целый спектр химических реакций. Для таких систем показано, что константа скорости образования продуктов лигирования существенно не меняется при варьировании расстояния между реагирующими группами на концах дуплекса (аминогруппой и карбоксильной группой) от 1 до 30 нуклеотидных остатков.

Матричный синтез нуклеиновых кислот, катализируемый ферментами, играет ключевую роль в фундаментальных процессах биосинтеза, таких как *репликация ДНК*, *транскрипция* и синтез белка, при репарации и рекомбинации генетического материала. Замена фермента химическим реагентом позволяет расширить синтетические возможности и область применения матрично-направляемых реакций в химии и биологии, например проводить сборку сложных биологических структур, сиквенс-специфичную модификацию нуклеиновых кислот, опосредованное молекулярным узнаванием ковалентное связывание олигонуклеотидов с другими биомолекулами.

Н. Г. Долинная

Химическое мечение. Химический подход к внедрению метки (например, флуоресцентного красителя) в молекулы ДНК и РНК (см. *олигонуклеотидов мечение*).

Химическое секвенирование. См. *Максама—Гилберта метод секвенирования*.

«Хи-последовательность». *Горячая точка гомологичной рекомбинации* с последовательностью 5'-GCTGGTGG-3' в геноме *Escherichia coli*, узнаваемая ферментом RecBCD. В полной нуклеотидной последовательности генома *E. coli* (~5 м. п. н.) выявлено 1009 хи-сайтов, т. е. ~1 на 5 т. п. н. Повидимому, распределение хи-сайтов несколько выше в пределах *открытых рамок считывания*. «Хи» (chi) — от англ. *crossing-over hot-spot instigator* (горячая точка инициации кроссинговера).

Mauro Santos

«Хи-структура». Промежуточная структура ДНК, состоящая из четырех ветвей и наблюдающаяся при *гомологичной рекомбинации* в процессе физического обмена двумя ДНК-дуплексами. Название возникло из-за того, что при ультрамикроскопическом наблюдении за гомологичной рекомбинацией между *плазмидами* отмечается конфигурация молекулы, напоминающая греческую букву χ («хи»). Спираль из четырех цепей в центре Х. с. носит название *структуры Холлидея*, по фамилии автора первой генетической модели гомологичной рекомбинации.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Хлоропластная ДНК. *Кольцевая ДНК*, обнаруживаемая в фотосинтетических органеллах высших растений и водорослей. Хлоропластная ДНК происходит от генома предковой цианобактерии и обычно кодирует 110–120 генов. Некоторые водоросли содержат хлоропластный геном большего размера (более 200 генов). Генетический материал пластид, не содержащих хлорофилла, называется *пластидной ДНК*.

Annegret Wilde

Холодовой шок. Микроорганизмы часто испытывают опасные температурные перепады и выработали различные ответные стратегии и адаптации к условиям *теплового шока* и *Х. ш.* Понижение температуры приводит к снижению текучести мембраны и образованию вторичных структур РНК, которые снижают эффективность *транскрипции* и *трансляции*. В качестве защитного механизма клетки осуществляют ответ на *Х. ш.*, в результате которого изменяется состав липидов мембраны и появляются *РНК-шапероны*.

Franz Narberhaus

Хребет гидратации. Упорядоченная система *водородных связей*, образуемых молекулами воды и частично ионами Na^+ в *малом желобке В-ДНК*.

Хроматида. Одна из двух дублированных *хромосом*, возникших в результате *репликации*.

Хроматин. Комплекс ДНК и белков в ядре, который легко окрашивается основными красителями.

Хромосома. От греч. *chroma* — «цвет» и *soma* — «тело». Структурная единица генетического материала, состоящая из одиночной *двуцепочечной ДНК* (дцДНК) и связанных с ней белков. *Х.* содержит множество *генов*, регуляторных элементов и других вставочных нуклеотидных последовательностей (см. *вставочная последовательность*). Каждая особь определенного вида в норме имеет постоянное число хромосом во всех соматических клетках, и это число видоспецифично. У прокариот основную часть генетического материала составляет одиночная кольцевая *двуцепочечная ДНК*. В эукариотических *Х.* неконденсированная ДНК существует в виде квазиупорядоченной структуры в ядре, где она образует витки вокруг «катушек» — *гистонов* (весь комплекс носит название *хроматина*). В процессе митоза (клеточного деления) *Х.* конденсируются и приобретают вид так называемых метафазных хромосом. У прокариот нет гистонов и ядра. В релаксированном состоянии (см. *релаксированная ДНК*) молекула ДНК становится доступной для *транскрипции*, регуляторных воздействий и *репликации*.

Beatrix Süss

Хромосомная ДНК. Большая *макромолекула* ДНК, содержащая полную или частичную *генетическую информацию* во всех живых организмах и многих вирусах.

Хромосомная РНК. Большая *макромолекула* РНК. Генетический материал РНК-вирусов. Хромосомная РНК почти всегда *одноцепочечная РНК*, иногда *двуцепочечная РНК*. У человека патогенные РНК-вирусы — вирусы, например, гриппа и гепатита С.

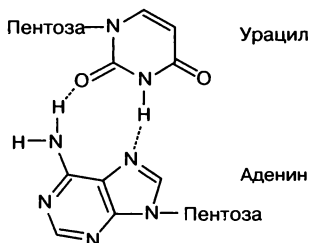
Mauro Santos

Хугстиновская сторона. См. *взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»*.

Хугстиновские пары оснований. Двухцепочечные молекулы нуклеиновых кислот обычно образуют пары оснований по уотсон-криковским правилам (см. *уотсон-криковская пара оснований*). При определенных условиях могут возникать дополнительные типы пар оснований. Примером может служить пара А-У, удерживаемая *водородными связями* в соответствующей хугстиновской геометрии. Такой тип образования пар оснований встречается также в тройных спиральях ДНК (см. *триплекс-образующие олигонуклеотиды*,

тройная спираль, взаимодействие азотистых оснований «сторона к стороне»).

Jens Kurreck



Ц

цАМФ. Циклический аденозин-3',5'-монофосфат.

цГМФ. Циклический гуанозин-3',5'-монофосфат.

ЦДФ. Цитидиндифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

«Целующиеся петли». Мотив вторичной структуры молекулы *РНК*, в котором две концевые *петли шпик* взаимодействуют между собой с образованием *уотсон-криковских пар оснований* или «*качающихся*» *пар оснований*.

«Целующиеся шпильки». См. «*целующиеся петли*».

ЦеНК. См. *циклогексенилнуклеиновая кислота*.

Центральная догма молекулярной биологии. В современных организмах функционирование главных систем связано в основном с белками (протеом) и немногочисленными, но очень важными рибонуклеопротеиновыми комплексами (см. *рибонуклеопротеин*), такими как *рибосома* и *сплайсо-сома*. Вся программа развития сохраняется в виде *генетической информации*, кодированной в структуре молекулы ДНК (см. *геном*). Для создания и настройки множества необходимых *макромолекул* необходима *транскрипция* ДНК, приводящая к формированию структурно и функционально различающихся молекул *транспортной РНК*, *рибосомной РНК*, *сплайсosomal РНК* и т. д. Кроме того, при транскрипции образуется промежуточный участник передачи информации — *матричная РНК*, которая служит *матрицей* для синтеза белков с участием рибосом (см. *трансляция*). Поток генетической информации изначально был смоделирован лишь как однонаправленный, что и было закреплено в Ц. д. м. б. Эти представления изме-

нились с открытием *обратных транскриптаз*, которые позволяют вирусам передавать кодированную в РНК информацию на ДНК. До настоящего времени «обратные транслязы» неизвестны и, строго говоря, представляются ненужными. Эволюция происходит путем возникновения в генетическом материале *мутаций*, что приводит к образованию измененных белков. Если это дает преимущества, клетка выживает и сохраняет измененную информацию в свое *геноме*.

Stefan Vörtler

Центромера. Район перетяжки в *хромосомах* эукариот, содержащий сложную систему фибриллярных структур, называемую кинетохором, которая служит местом прикрепления микротрубочек веретена деления в процессе кариокинеза. Ц. удваивается вместе с хромосомой. У большинства эукариот в прицентромерном районе обнаруживается скопление *гетерохроматина*, что, как считается, играет важную роль в осуществлении функций Ц.

Mauro Santos

Циклическая ДНК. См. *кольцевая ДНК*.

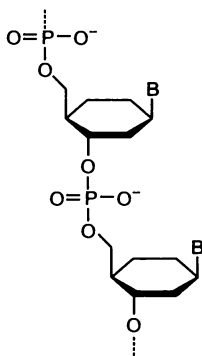
Циклический аденозин-3',5'-монофосфат. См. *нуклеозидфосфаты*.

Циклический гуанозин-3',5'-монофосфат. См. *нуклеозидфосфаты*.

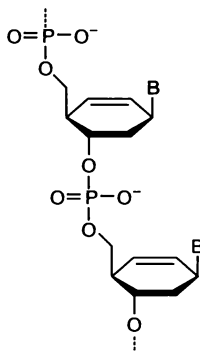
Циклический фосфат. Нуклеотид, в котором две гидроксильные группы при соседних атомах углерода рибозы образуют эфирные связи с фосфорной кислотой. 3',5'-Циклические фосфаты *аденозина* и *гуанозина* имеют большое биохимическое значение и выполняют функцию вторичных мессенджеров в процессах передачи сигнала. 2',3'-Циклические фосфаты образуются в реакциях расщепления РНК при индуцированной нуклеофильной атаке 2'-гидроксильной группы на соседний фосфат. См. *нуклеозидфосфаты*, *трансэтерификация*, *РНКаза*, *рибозим*.

Sabine Müller

Циклогексанныклеиновая кислота (ЦНК). Нуклеиновая кислота, в которой остаток сахара заменен циклогексаном. ЦНК используют в *антисмысловых стратегиях*.



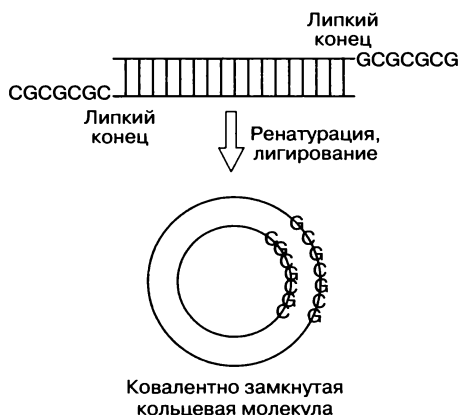
Циклогексенилнуклеиновая кислота (ЦеНК). Нуклеиновая кислота, в которой углеводный компонент заменен циклогексеном. ЦеНК представляет собой конформационно подвижные олигонуклеотиды и используется в некоторых исследованиях по образованию связей с нуклеиновыми кислотами и белками, а также в *антисмысловых стратегиях*. ЦеНК способны образовывать двойную цепь с РНК; при этом обработка получившегося дуплекса *РНКазой Н* приводит к деградации РНК (см. *РНК деградация*).



цИМФ. Циклический инозинмонофосфат (см. *инозина фосфаты*).

Циркуляризация ДНК. Процесс, при котором линейные фрагменты ДНК преобразуются в кольцевую молекулу (см. *кольцевая ДНК*). Для эффективной циркуляризации требуются фрагменты ДНК с липкими концами, способными к ковалентному связыванию при участии ДНК-лигазы.

Matthäus Janczyk



цис-Действующая последовательность. См. *сигнальная последовательность*.

цис-Действующий. Генетический элемент, расположенный рядом с *геном* и способный повышать (энхансер) или подавлять уровень его *транскрипции* у эукариот. Используется при описании внутримолекулярной реакции в *РНК-катализе*.

Mauro Santos, Sabine Müller

Цисплатин. Дихлородиаамминплатина (II). Противоопухолевый препарат, лицензирован в 1979 г. Ц. взаимодействует с ДНК по механизму обмена лиганда, в особенности связываясь с N7 гуанина или аденина. Это приводит к образованию внутри- и межцепочечных сшивок и в результате к апоптозу.

Sabine Müller

цис-Регуляторный элемент. Последовательность, которая контролирует экспрессию гена (см. *гена экспрессия*) и физически связана (на расстоянии до нескольких тысяч пар оснований) с регулируемой мишенью.

цис-Сплайсинг. Внутримолекулярная реакция сплайсинга, при которой происходит лигирование экзонов одной и той же молекулы *пре-мРНК*.

Цитидин. Природный компонент структуры молекул ДНК и РНК (см. *нуклеозиды*).

Цитидиндифосфат (ЦДФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

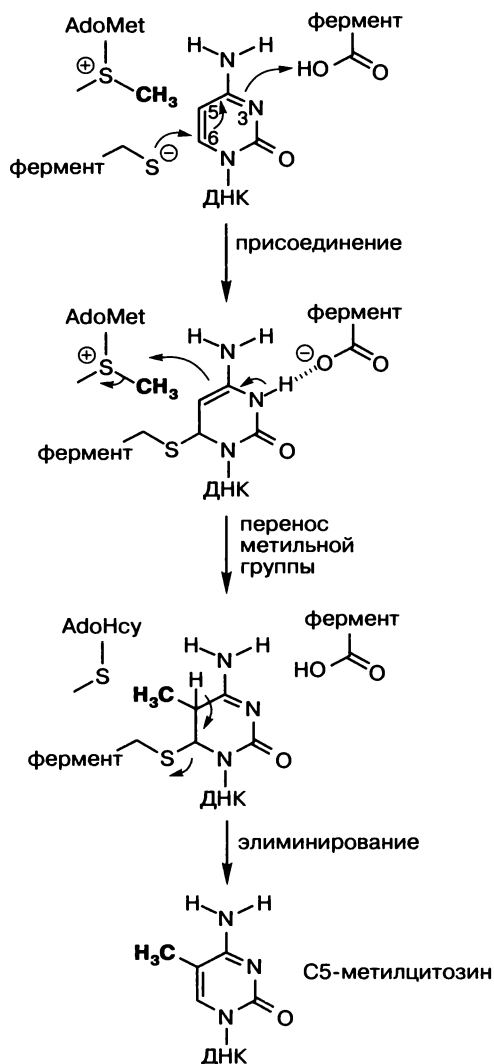
Цитидинмонофосфат (ЦМФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Цитидинтрифосфат (ЦТФ). См. *нуклеозидфосфаты*.

Цитидинфосфаты. См. *нуклеозидфосфаты*.

Цитозин(С5)-ДНК-метилтрансфераза. Катализируют перенос метильной группы с кофактора S-аденозил-L-метионина (AdoMet, см. *ДНК-метилтрансфераза*) на С5 остатка *цитозина* в составе определенной последовательности ДНК. Называются также С-ДНК-метилтрансферазами. Они образуют гомогенную группу ферментов, содержащих 10 высококонсервативных мотивов, расположенных в линейном порядке в каталитических доменах. Трехмерные структуры в комплексе с ДНК доступны для двух С-ДНК-метилтрансфераз (*M.HhaI* и *M.HaeIII*), которые используют механизм *оснований выворачивания* для обеспечения доступа к мишеням — остаткам цитозина. Каталитический механизм С-ДНК-метилтрансфераз известен достаточно детально.

Цитозин-мишень, помещенный в *активный сайт*, подвергается атаке по положению С6 консервативным остатком цистеина; образующийся в результате ковалентный ДНК-белковый интермедиат стабилизируется при протонировании N3 (реакция присоединения). Это ведет к усилению нуклеофильных свойств С5, который атакует активированную метильную группу AdoMet в S_N2 -реакции (перенос метильной группы). В результате образуется деметилированный кофактор S-аденозил-L-гомоцистеин (AdoHcy). Затем в результате депротонирования С5 и ухода остатка цистеина активного центра восстанавливается двойная связь между С5 и С6 (элиминирование). Каталитический механизм сходен с таковым у тимидилатсинтазы за исключением того, что у последней метилирование 2'-дезоксинуридинмонофосфата происходит при участии N^5,N^{10} -метилентетрагидрофолата, а не AdoMet. Помимо этого, каталитический механизм предполагает взаимодействие с N3



Цитозин(C5)-ДНК-метилтрансфераза: каталитический механизм С-ДНК-метилтрансфераз

в остатке цитозина, который образует *уотсон-криковскую пару* в молекуле ДНК; поэтому необходимо разделение пары по механизму *оснований выворачивания*.

Elmar Weinhold

Цитозин(N4)-ДНК-метилтрансфераза. См. *ДНК-метилтрансфераза, аденин(N6)-ДНК-метилтрансферазы*.

Цитозин. См. *азотистые основания*.

Цитозин-арабинонуклеозиды. См. *арабинонуклеозиды*.

Цитозин-ксилонуклеозиды. См. *ксилонуклеозиды*.

Цитозин-рибонуклеозиды. См. *нуклеозиды*.

ЦМФ. Цитидинмонофосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

ЦНК. См. *циклогексаннуклеиновая кислота*.

ЦТФ. Цитидинтрифосфат (см. *нуклеозидфосфаты*).

Ч

Чаргаффа правило. В *двойной спирали ДНК* количество *аденина* всегда равно количеству *тимина*, также равны между собой количества *гуанина* и *цитозина* (см. *GC–AT правило*). *Пиримидиновое* азотистое основание в одной цепи ДНК всегда образует пару с *пуриновым основанием* во второй цепи. Таким образом, гуанозин всегда находится в паре с цитидином, а тимидин — с аденозином. Специфичность образования пар азотистых оснований обеспечивается природой *водородных связей*. Между А и Т образуются две связи, между G и C — три. Так как все пары оснований должны соответствовать геометрии двойной спирали, небольшие основания (Т, С) связываются с большими (G, А). Пара С-Т была бы слишком маленькой, а G-А слишком большой для изостерической структуры молекулы.

Matthäus Janczyk

Частица узнавания сигнала (SRP). РНК-белковый комплекс, который узнает специфические белки и транспортирует их в эндоплазматический ретикулум (ЭПР, у эукариот) или в плазматическую мембрану (у прокариот). Эукариотический комплекс состоит из шести белковых субъединиц и РНК. В ходе *трансляции* связанный с *ГТФ* SRP-комплекс присоединяется к сигнальной последовательности белка (восемь и более аминокислот) сразу после ее синтеза на рибосоме, а также к малой субъединице *рибосомы*, что вызывает задержку трансляции. Весь комплекс мигрирует в ЭПР и подлежит узнаванию SRP-специфическим рецептором. Это дает возможность рибосоме присоединиться к мембране ЭПР. После диссоциации SRP, которая осуществляется при гидролизе ГТФ, синтез белка продолжается. При этом растущая полипептидная цепь проникает в просвет ЭПР. Связывание с SRP и последующая задержка синтеза белка чрезвычайно важны для предотвращения преждевременного выхода незрелых белков в цитозоль и для обеспечения созревания белка в ЭПР.

Irene Drude

Челночный вектор (шаттл-вектор). *Вектор*, который реплицируется как минимум в двух типах носителей (например, в клетках дрожжей и бактерий). Ч. в. конструируют путем слияния двух векторов, и они содержат *ориджины*

для *репликации* в разных клетках. Ч. в. часто используют для клонирования *генов* в легкотрансформируемых клетках *Escherichia coli* с тем, чтобы использовать полученную конструкцию в других клетках. Вместо Ч. в. также используют *плазмиды* с широким кругом хозяев (например, RP4). Плазмиды IncP1-типа реплицируются во многих грамотрицательных бактериях.

Annegret Wilde

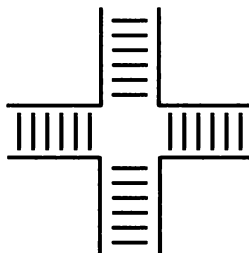
Челночный перенос. Перенос челночной ДНК между двумя носителями, обычно между прокариотической и эукариотической клетками. Переносимая ДНК, как правило, содержит генетические элементы, которые позволяют осуществлять ее поддержание или экспрессию в обеих клетках. В другом значении этот термин может относиться к эндогенным белкам, переносимым из цитоплазмы в ядро, и наоборот (см. *челночный вектор*).

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Человеческая искусственная хромосома. *Искусственная хромосома*, которая содержит последовательности генома человека и специально сконструирована таким образом, что может поддерживаться в клетках млекопитающих (человека или мыши).

Четырехстороннее соединение. Структурный элемент ДНК или РНК в составе *вторичной структуры* одиночной молекулы или группы нескольких молекул; состоит из четырех соединенных *двойных спиралей*. Хорошо известный пример Ч. с. — *структура Холлидея*.

Slawomir Gwiazda



Число оборотов. Количество молекул субстрата, которые могут быть превращены в продукт за единицу времени одной молекулой фермента при условии максимальной активности последнего. Ч. о. соответствует значению k_{cat} в уравнении Михаэлиса—Ментен (см. *Михаэлиса—Ментен уравнение*, *Михаэлиса—Ментен модель*). В соответствии с этим уравнением при насыщающих концентрациях субстрата (т. е. значительно превышающих K_M) достигается максимальная скорость реакции, равная $v_{\text{max}} = k_{\text{cat}} \cdot c_E$. Очевидно, для расчета Ч. о. требуется знать концентрацию фермента (см. K_M *определение*).

Christian Herrmann

Чужеродная ДНК. Экзогенная ДНК, т. е. ДНК, происходящая из источника, отличного от хозяйской клетки.

Ш

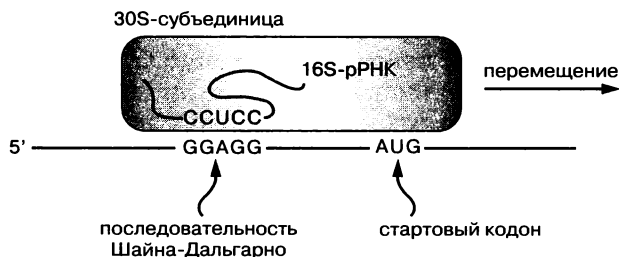
Шаг спирали ДНК. См. *шаг спирали*.

Шаг спирали. Расстояние вдоль оси спирали, соответствующее одному полному витку (повороту на 360°). Размер Ш. с. определяется числом пар оснований на один *виток* и расстоянием между соседними нуклеотидами вдоль спиральной оси.

Н. Г. Долинная

Шайна—Дальгарно последовательность. 5'-AGGAGGU-3', находится на 5'-конце молекулы *матричной РНК* прокариот. Образует сайт связывания *рибосомы* до начала *трансляции*. *Консенсусная последовательность* 3'-UCCUCCA-5' в малой субъединице рибосомы находится на 3'-конце 5S РНК. После распознавания Ш.-Д. п. рибосома начинает движение в сторону 3'-конца и на следующей стадии узнает *стартовый кодон* (AUG), обычно расположенный на расстоянии 10 нуклеотидов *ниже* Ш.-Д. п. У эукариот малая субъединица узнает *кэп* на 5'-конце перед связыванием со стартовым кодоном.

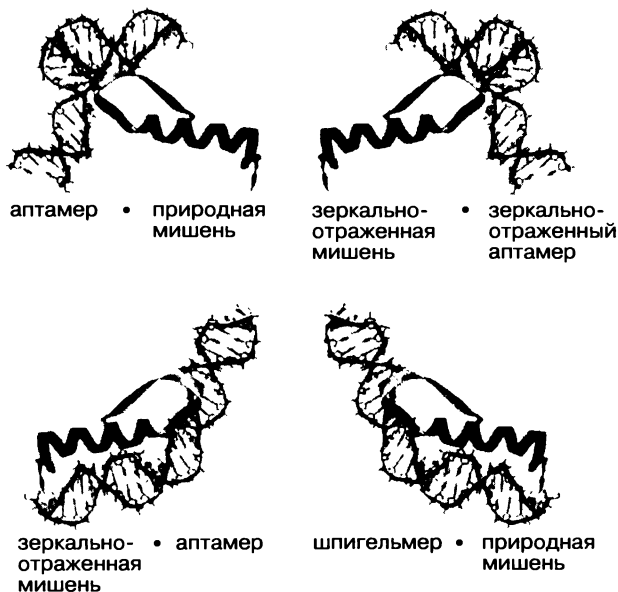
Tina Persson



Шпигельмеры. Зеркальные аналоги природных нуклеотидов, которые способны связываться с высокой аффинностью и специфичностью с целевой молекулой. По сути похожи на антитела, которые узнают свой антиген; Ш. называют также зеркальными аптамерами (см. *аптамер*). Ш. можно идентифицировать с помощью адаптированной методики *SELEX*, используя принципы хиральности. (нем. *Spiegel* — зеркало.)

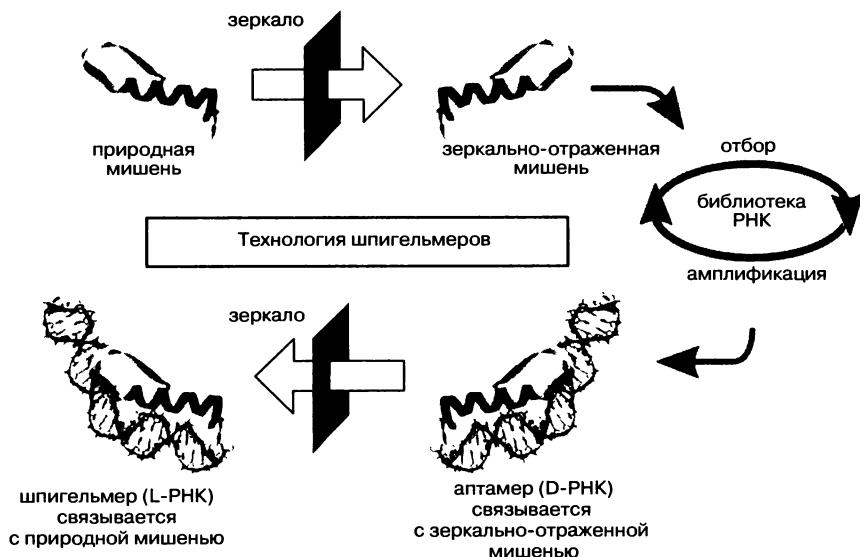
Ш. построены из L-нуклеотидов (содержащих неприродные сахара L-рибозу в L-РНК и L-дезоксирибозу в L-ДНК соответственно), в природе же нет подходящих ферментов для манипулирования зеркальными *нуклеотидами*. Поэтому Ш. проявляют чрезвычайно высокую биостабильность. Однако отсутствие ферментов для превращения Ш. мешает включить Ш. в процесс SELEX. Активные Ш. можно идентифицировать, только включив в процесс SELEX стадии хирального инвертирования. Основываясь на том, что аптамер связывает свою природную цель, зеркальное отражение должно связывать идентичную зеркальному отражению природную мишень (зеркально отраженный комплекс). Это свойство названо обратной хиральной специфичностью. Таким образом, если процесс селекции аптамеров происходит относительно зеркально отраженной мишени, будет получена неприродная зеркально отраженная мишень. Затем соответствующая зеркально

См. рис. VIII на цветной вклейке



отраженная нуклеиновая кислота (L-олигонуклеотид) выбранного аптамера (шпигельмер) связывается с природной мишенью (т. е. зеркальным отражением зеркально отраженной мишени) с такими же характеристиками связывания, что и у самого аптамера.

Кроме своей исключительной биостабильности, Ш., по всей видимости, неиммуногенны и нетоксичны. Ш. были обнаружены для нескольких типов мишеней, таких как малые молекулы, пептиды и белки. На модельных организмах животных была показана эффективность Ш. и их применимость *in*



См. рис. IX на цветной вклейке

vivo, включая их потенциальные возможности как нового типа веществ для доставки лекарств.

Sven Klussmann

Шпилечная структура. См. *стебель—петля структура, шпилечные петли.*

Шпилечные петли. Состоят из спирального стебля (две цепи в *антипараллельной ориентации*) и «одноцепочечных» *нуклеотидов*, которые образуют замыкающую петлю. Их неотъемлемым свойством является способность обращать направление цепи РНК. Среди всех *вторичных структурных элементов*, за исключением канонических спиральных мотивов, Ш. п. как структурный мотив преобладают. В принципе петлевая часть может быть образована любым числом неспаренных нуклеотидов. Наименьшая из возможных петель, таким образом, образована из двух нуклеотидов, это би-петля.

Бипетли типа cUNg, изученные методом *ядерного магнитного резонанса (ЯМР) спектроскопии*, широко распространены в *рибосомной РНК*. В бипетлях типа cUUG два остатка *урацила* остаются неспаренными, а С и G образуют пару, которая соединяет петлю и стебель.

Трипетли с последовательностью cUUUG также были изучены методом спектроскопии ЯМР. Три нуклеотида U достаточно динамичны, и остатки урацила направлены в растворитель. Предполагается, что это связано с тем фактом, что нет стабилизирующих взаимодействий за счет стэкинга (см. *оснований стэкинга*). Это подтверждается современными экспериментальными данными о том, что в одноцепочечных последовательностях поли(U) и UU стэкинг тоже отсутствует.

Описаны также пентапетли. Петлевая структура uUUGUGa, однако, может быть интерпретирована как трипетля, расширенная за счет пары оснований G-U. Аналогичным образом возможно представление гексапетель как тетрапетель, дополненных *неканонической парой оснований*. Консервативная последовательность cGUAAUAg часто обнаруживается в рРНК и по свойствам сходна с *тетрапетлей* UAAU, которая замкнута парой оснований G-A.

Среди прочих Ш. п. наиболее известна *антикодоновая петля* в молекуле *транспортной РНК*, состоящая из семи нуклеотидов. Во всех охарактеризованных молекулах тРНК она обычно включает консервативные и полуконсервативные нуклеотиды; в последних возможны замены на изостерические нуклеотиды. Такая консервативность необходима для поддержания функциональных канонических структур петли антикодона. В ее состав входит первый из охарактеризованных мотивов в молекулах РНК — мотив U-поворота.

Петли с восемью и большим числом неспаренных нуклеотидов идентифицированы только в биохимических экспериментах. Вероятно, они стабилизированы образованием неканонических пар оснований или внутрицепочечных *водородных связей*.

Наиболее распространенные Ш. п. состоят из четырех неспаренных нуклеотидов (см. *тетрапетли*).

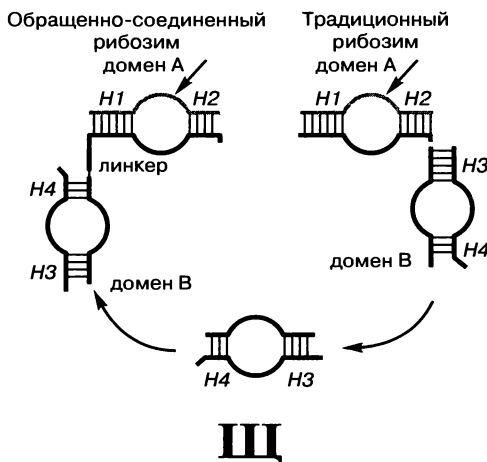
Boris Fürtig, Harald Schwalbe

руется за счет образования *уотсон-криковских пар оснований* между гуанозином петли А и цитидином петли В, а также рибозной «застежки-молнии» с участием нуклеотидов обеих петель. Минимальный вариант рибозима, в котором четырехстороннее соединение заменено простой *фосфодиэфирной связью*, активен, но для запуска фолдинга требуется в 1000 раз более высокая концентрация Mg^{2+} (см. *РНК фолдинг*). При связывании субстрата Ш. р. претерпевает обширные структурные преобразования. Это приводит к смещению РНК-субстрата и подготовке его для вырезания. Для эффективного катализа Ш. р., вероятно, задействует специальные *функциональные группы* РНК. Согласно биохимическим исследованиям и данным о кристаллической структуре РНК-предшественника, аденозин *активного центра* и гуанозин активного центра могут выполнять роль кислоты и основания соответственно. Для функционирования активного центра не требуются ионы металла или другие каталитические кофакторы.

Sabine Müller

Шпилечный рибозим с обращенным соединением. Структурный вариант *шпилечного рибозима*, в котором домены А и В соединены в обращенном порядке: спираль 4 соединена со спиралью 1 через одноцепочечный полиаденозиновый *линкер*. Как и обычные шпилечные рибозимы, обращенная форма способна расщеплять и лигировать специфические РНК-субстраты в ходе реакции *транстерификации*.

Stéphanie Vauléon



Щелочная фосфатаза. Фермент, расщепляющий моноэфиры фосфорной кислоты в щелочных условиях.

Щелочной гидролиз. Важным различием между ДНК и РНК является то обстоятельство, что ДНК, в отличие от РНК, не подвержена деградации в щелочных условиях. Это связано с тем, что РНК обладает гидроксильной группой на 2'-углероде, которая может быть активирована анионом OH^- . Активация вызывает нуклеофильную атаку на фосфор, что, в свою очередь, приводит к *транстерификации* и в результате разрушает *сахарофосфатный остов* РНК.

Uli Hahn

Э

Эволюционно консервативные структуры РНК. Большинство функциональных молекул РНК обладают характерными для них *вторичными структурами*, которые высококонсервативны в эволюции. К хорошо известным примерам относятся *рибосомные РНК* (рРНК), *транспортные РНК* (тРНК), *РНКаза Р* и МРП-РНК (*рибонуклеопротеиновая* (см. *рибонуклеопротеин*) *эндорибонуклеаза*, способная расщеплять митохондриальные *РНК-праймеры* различного происхождения), РНК-компонент *частиц распознавания сигнала*, транспортно-матричная РНК (тмРНК), *интроны группы I* и *интроны группы II*, *микроРНК*, *малые ядрышковые РНК*. Во всех перечисленных случаях вторичная структура значительно более консервативна в эволюции, чем первичная последовательность.

При наличии обширной базы данных с выравненными последовательностями РНК можно сделать вывод о консенсусной вторичной структуре. Основной идеей такого подхода является то, что замены в последовательности должны быть согласованы (коррелированы) с основными структурными ограничениями. Такая корреляция необходима при заменах в спиральных областях, поскольку только шесть (G-C, C-G, A-U, U-A, U-G и G-U) из 16 возможных парных комбинаций оснований могут быть встроены в спираль. *Мутации* путем замены одной *пары оснований* на другую (например, G-C → A-U или G-C → C-G) называются *компенсаторными*. Аналогично, одиночная мутация, которая изменяет тип пары оснований (например, G-C → G-U), носит название согласованной мутации. Компенсаторные и согласованные мутации с высокой вероятностью сохраняют вторичную структуру неизменной и потому зачастую нейтральны. Таким образом, последовательность может изменяться быстрее, чем функциональная вторичная структура.

Если последовательности, которые значительно дивергировали на уровне первичной структуры, сохраняют способность к образованию одинаковой вторичной структуры, можно предположить существование давления отбора, которое поддерживает эту структуру. Коррелированные замены могут быть использованы, чтобы выявить функциональную структуру. Этот подход часто называют филогенетической реконструкцией структуры. Он успешно применяется при наличии большого массива данных о родственных последовательностях, как в случае тРНК и рРНК.

Для реконструкции *консенсусных структур* на основе баз данных меньшего объема было разработано несколько компьютерных методов. Наиболее распространенный подход — предсказание структуры на основе термодинамических свойств (см. *РНК фолдинг*) с использованием ковариационной информации, присутствующей в множественном выравнивании. Этот подход, однако, возможен только в том случае, если последовательности РНК могут быть достоверно выравнены. В противном случае возможны другие подходы. См. *РНК, вторичной структуры предсказание*.

Peter F. Stadler, Ivo Hofacker

Эволюция *in vitro*. См. *in vitro* эволюция нуклеиновых кислот, *SELEX*.

Эгоистичная ДНК. Участки молекулы ДНК, которые реплицируются независимо от остальных частей *генома*, даже если это вредно для организма в целом за счет возникновения внутригеномного конфликта. Концептуально это понятие апеллирует к идее эгоистичного *гена* (Докинз, 1976), но соответствие не полное: в эволюционном плане все гены эгоистичны, но Э. Д. более эгоистичны, чем прочие благонаправные (в соответствии с менделевскими закономерностями) гены. Например, *транспозоны* могут менять местоположение и увеличивать число своих копий в геноме, зачастую вызывая многочисленные неблагоприятные последствия.

Eörs Szathmáry

Экзон. Фрагмент *гена*, кодирующий белок у эукариот и некоторых прокариот. Гены разделены на экзоны, перемежающиеся особыми последовательностями — *интронами*. Интроны удаляются после *транскрипции* путем *сплайсинга*.

Tina Persson



Экзонов перестановка. Гипотеза, предложенная Уолтером Гилбертом и заключающаяся в том, что *экзоны* кодируют функциональные единицы белка, а эволюция новых *генов* происходила путем *рекомбинации* или исключения экзонов с использованием интронов в качестве «горячих точек» генетической рекомбинации. См. *перестановка*.

Gemma Marfany, Roser González-Duarte

Экзонуклеаза. Нуклеаза, специфичная к одноцепочечной ($5' \rightarrow 3'$ или $3' \rightarrow 5'$) или двуцепочечной нуклеиновой кислоте, которая расщепляет молекулы этой кислоты с концов (например, нуклеаза S1, экзонуклеаза λ , нуклеаза маша, *ДНК-полимераза*, нуклеаза Bal 31).

Uli Hahn

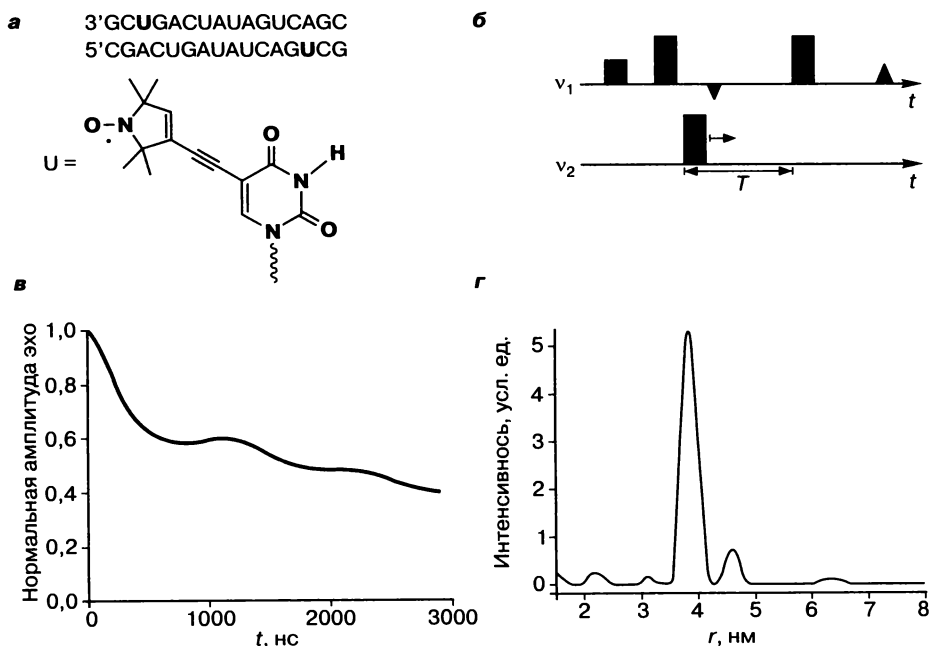
Экспрессионная платформа. Часть структуры *рибопереключателей*, которая изменяет уровень *экспрессии* гена в зависимости от связывания *лиганда* с *аптамером*. Может включать в себя внутренний *терминатор транскрипции*, сайт связывания *рибосомы* или даже совпадать с самим *аптамером*, если связывание лиганда приводит к структурным изменениям, которые достаточно сильные для влияния на экспрессию гена.

Rüdiger Welz

Эксцизионная репарация. См. *оснований эксцизионная репарация*.

Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР). Метод спектроскопии, который, как и *ядерного магнитного резонанса (ЯМР) спектроскопия*, использует спин, но не ядер, а неспаренных электронов для получения

информации о структуре и динамических характеристиках молекул, в том числе РНК. Называется также электронным спиновым резонансом. Как и в методе ЯМР, магнитное поле используется для расщепления энергетических уровней электрона по спину, а СВЧ-излучение — чтобы вызвать переходы между ними. Обычно спектрометры ЭПР работают в магнитном поле с индукцией 0,34 Тл и на частоте 9,5 ГГц (X-диапазон), но применяются и высокочастотные спектрометры (до 640 ГГц). Чувствительность таких спектрометров позволяет проводить измерения образцов объемом ~1 мкл с концентрацией до 0,1 мМ. Нет принципиальных ограничений как по типу буферных растворов, если это диамагнетики, так и по размеру РНК или комплексов РНК—белок. Чтобы применить метод спектроскопии ЭПР к обычно диамагнитной РНК (все ее электроны спарены), можно сайтспецифически прикрепить к РНК *спиновые метки* или заменить связанные диамагнитные ионы металла, такие как магний(II), на парамагнитные, такие как марганец(II). Например, после титрования раствора РНК ионами марганца(II) можно по интенсивности сигнала ЭПР от марганца(II), полученного на спектрометре непрерывного излучения, количественно определить сайты связывания ионов металла(II) и рассчитать соответствующие константы связывания. Более того, спин электрона марганца(II) взаимодей-



Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР). а — последовательность двуцепочечной РНК с двукратно введенной спиновой меткой, б — спектр PELDOR в виде последовательности импульсов, в — соответствующая временная зависимость в методе PELDOR для РНК, показанной на рис. (а), и г — превращение временной зависимости в спектр расстояний. Расстояние, полученное методом PELDOR, составляет 3,9 нм. Моделирование методом молекулярной динамики также дает расстояние 3,9 нм. Маленький пик при 4,3 нм связан с взаимодействием двух петель «конец к концу»

ствуется с магнитными ядрами, которые расположены на расстоянии до 10 Å от Мп-центра. Примерами таких ядер могут служить ^{31}P ($I = 1/2$) и ^{14}N ($I = 1$). Но для марганца соответствующее расщепление линий ЭПР слишком мало и не может быть разрешено на спектрометре непрерывного излучения. Поэтому для выявления и отнесения этих взаимодействий используются двойной электрон-ядерный резонанс (ENDOR) в непрерывном или импульсном варианте или другие импульсные эксперименты ЭПР, такие как модуляция огибающей электронного спинового эха (ESEEM) или двумерная сверхтонкая подуровневая корреляция (HSCORE). Применение селективного изотопного мечения и методов теории функционала плотности (DFT) позволяют определить центры связывания и перевести полученные параметры ЭПР в информацию о структуре образца.

Спиновые метки, ковалентно присоединенные к РНК сайтспецифическим образом, используются в основном для изучения динамики РНК и показывают динамические изменения при связывании белков, ионов металлов или малых органических *лигандов*. Это можно сделать на качественном уровне, просто сравнивая ширину спектра нитроксида в присутствии связывающего агента и без него, или количественно, используя программы компьютерного моделирования спектров или высокопольные / высокочастотные измерения релаксации. Наблюдаемые изменения в первом случае можно использовать для локализации сайтов связывания, а во втором случае — получить детальную дополнительную информацию о движении доменов или петель.

Если на РНК прикреплены две спиновые метки, расстояние между ними можно измерить, используя диполь-дипольное взаимодействие электронов; для этого применяют специальную импульсную последовательность, а сам метод называется импульсным двойным электрон-электронным резонансом (PELDOR). Этот метод дополняет FRET, он позволяет получить расстояния и распределение расстояний до 80 Å с очень большой точностью. Например, это дает возможность исследовать элементы вторичной структуры или перегруппировки доменов.

Спектроскопия ЭПР применяется также для идентификации и отслеживания динамики радикалов фосфата, сахаров и оснований, которые образуются при взаимодействии РНК–ДНК с высокоэнергетическим излучением (например, УФ, рентгеновским или γ -излучением).

Olav Schiemann

Электронный спиновый резонанс. См. *электронный парамагнитный резонанс (ЭПР)*.

Электронов транспорт в ДНК. См. *перенос заряда в ДНК, прыжок электрона*.

Электростатический катализ. Стабилизация заряженного *переходного состояния* посредством *катализатора*. Остатки аминокислот в *активном центре* фермента образуют ионные связи с интермедиатом или взаимодействуют с ним благодаря частичным зарядам. В таких взаимодействиях могут участвовать боковые цепи катализатора или ионы металла-кофактора.

Denise Strohbach

Электростатическое взаимодействие. Взаимное притяжение групп или молекул, которые несут противоположные заряды.

Электрофорез. Метод разделения заряженных частиц или *макромолекул* в электрическом поле, основанный на различиях в их электрическом заряде, размере или форме. Разработано много вариантов (методик) Э. В биохимии наиболее часто применяют *гель-электрофорез* и *капиллярный электрофорез*.

Valeska Dombos

Элементы теплового шока (ЭТШ). Регуляторные последовательности *выше генов теплового шока* у эукариот, которые связываются с *фактором теплового шока*.

Элонгаторная тРНК. Любая *транспортная РНК*, не участвующая в инициации (см. *инициаторная тРНК*) или супрессии (см. *супрессорная тРНК*) и поддерживающая элонгацию при биосинтезе белка (см. *трансляция*).

Stefan Vörtler

Элонгация. Одна из трех стадий *трансляции*, в ходе которой происходит эффективный синтез полипептида, после того как была осуществлена сборка *рибосомы* и началось ее движение по молекуле *мРНК*. Термин также относится к процессу *транскрипции*, когда транскрипционный комплекс собран и движется по *матрице* ДНК, осуществляя синтез РНК.

Stefan Vörtler, Sabine Müller

Эндонуклеаза рестрикции. Фермент, который узнает специфическую последовательность *нуклеотидов* в *двухцепочечной ДНК* и расщепляет *сахарофосфатный остов* каждой цепи *дуплекса* в определенном месте. Называют также ферментом рестрикции. Катализирует гидролиз *фосфодиэфирной связи*, не повреждая *гетероциклическое основание*. Э. р. описаны для широкого круга бактерий. Основная функция Э. р. — узнавание и расщепление *чужеродной ДНК*. Выделяют четыре типа Э. р.

Ферменты типа I состоят из трех субъединиц — HsdS, HsdR и HsdM. Они ответственны за узнавание нуклеотидной последовательности, гидролиз ДНК и ее метилирование соответственно. Четвертичная структура активной эндонуклеазы имеет вид HsdM₂HsdR₂HsdS. Для функционирования Э. р. типа I необходимы АТФ, Mg²⁺ и S-аденозил-L-метионин (AdoMet; см. *ДНК-метилтрансфераза*). Обычно эти ферменты взаимодействуют с двумя асимметричными участками, разделенными произвольной нуклеотидной последовательностью, транслоцируют ДНК и расщепляют ее в случайном месте, которое может находиться на расстоянии 1000 п. н. и более от *участка узнавания*. Типичные примеры — EcoKI, EcoAI, EcoRI24I и StySBLI.

К Э. р. типа II относят сравнительно просто организованные ди- и тетрамерные Э. р., которые функционируют независимо от сопутствующих им *метилтрансфераз*. Эти ферменты обычно узнают достаточно короткие (4–8 п. н.) специфические (очень часто палиндромные) последовательности ДНК. Они расщепляют фосфодиэфирные связи в определенных положениях внутри участка узнавания или за его пределами с образованием 5'-фос-

фатов и 3'-гидроксильных групп. Кофактором реакции гидролиза являются ионы Mg^{2+} . Э. р. типа II широко используются при создании рекомбинантных ДНК. Описано около 4000 таких ферментов. Э. р. типа II разделены на подтипы в зависимости от узнаваемой нуклеотидной последовательности и индивидуальных особенностей белков (см. *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*: 1805–1812).

Э. р. типа III состоят из двух субъединиц — Mod (ответственна за узнавание и модификацию ДНК) и Res (отвечает за расщепление ДНК). В активном состоянии ферменты имеют стехиометрию Mod_2Res_2 . Для функционирования им требуется АТФ и Mg^{2+} . AdoMet также стимулирует их действие. Э. р. типа III взаимодействуют с двумя асимметричными участками узнавания, транслоцируют ДНК и расщепляют ее на расстоянии примерно 25 п. н. от одного из участков узнавания. Типичными примерами являются EcoP1I и EcoP15I.

Э. р. типа IV узнают и расщепляют метилированную ДНК. Наиболее изучен фермент MscBC, который состоит из двух субъединиц (B и C), ответственных за узнавание и гидролиз ДНК. В молекуле ДНК MscBC узнает как минимум два динуклеотида — dA или dG, за которыми следует метилированный остаток dC; при этом расстояние между ними может составлять от 40 до 3000 п. н. Для расщепления ферменту требуются ГТФ и Mg^{2+} . Непосредственно расщепление происходит на расстоянии около 30 п. н. от одного из участков узнавания.

В природе: около 29% приходится на Э. р. типа I, 45% — на тип II, 8% — на тип III и 18% — на тип IV.

Е. А. Кубарева

Эндонуклеаза. Нуклеаза, которая расщепляет внутренние связи в одно- или двунитевых тяжах нуклеиновых кислот. Представители этого класса ферментов — RNКаза A и RNКаза T1, а также эндонуклеазы рестрикции.

Uli Hahn

Энергия связывания. В общем случае, энергия, необходимая для разделения целого на составные части. Например, отражает относительную стабильность нековалентно связанного комплекса макромолекул. Связанная система имеет более низкую потенциальную энергию, чем ее компоненты; это обстоятельство удерживает систему в объединенном состоянии. Обычно в этом случае говорят о положительной Э. с. Движущая сила в системе зависит от соотношения силы водородных связей между *макромолекулами* и суммы сил водородных связей между каждым компонентом в отдельности и молекулами растворителя (воды). Важна также стабильность солевых мостиков между компонентами по сравнению с суммарной способностью каждого компонента к образованию сольватного комплекса с растворителем. Кроме того, вклад в Э. с. вносит дисперсионное взаимодействие по сравнению с таковым в воде, а также гидрофобные взаимодействия. Это относится ко всем явлениям межмолекулярного узнавания в растворе — взаимодействиям между белками, белком и *лигандом*, белком и нуклеиновой кислотой, между нуклеиновыми кислотами.

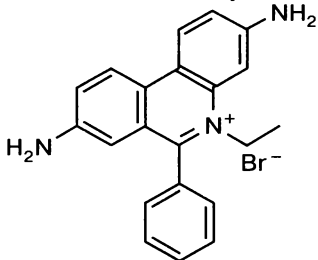
Tobias Restle

Эписома. Молекула *кольцевой ДНК*, обычно присутствующая в бактериальной клетке, которая способна к автономной *репликации* или может интегрироваться в хозяйскую *хромосому*. На практике термин применяют и для эукариотических элементов.

Mauro Santos

ЭПР. См. *электронный парамагнитный резонанс*.

Этидия бромид (бромистый этидий). *Интеркалирующий агент*, наиболее часто используемый при *гель-электрофорезе* для визуализации небольших (не детектируемых другими способами) количеств нуклеиновых кислот в УФ-излучении (260 нм). Чистый Э. б. — твердое кристаллическое вещество, нелетучее, с окраской от оранжевой до темно-красной и температурой плавления 260–262 °С. Из-за выраженной интеркалирующей способности Э. б. — сильный *мутаген* и потому возможно, что также канцероген и тератоген.



При возбуждении в ультрафиолетовом диапазоне (254 и 366 нм), наблюдается флуоресценция с длиной волны 590 нм. Комплекс нуклеиновой кислоты и бромистого этидия может обладать флуоресценцией с интенсивностью во много (до 50) раз выше, чем у свободного Э. б.

Valeska Dombos

Эухроматин. Материал *хромосомы* со сравнительно высоким содержанием *генов*, который подвергается *транскрипции*.

Я

Ядерная ДНК. ДНК в ядре эукариотической клетки.

Ядерная РНК. Молекулы РНК, находящиеся в ядре эукариотической клетки. Например, *малые ядерные РНК* образуют класс малых молекул РНК, которые участвуют в некоторых важных процессах, например *сплайсинге* или удалении *интронов* из молекулы предшественника *матричной РНК*, транскрибируемой с *матрицы* ДНК в ядре. См. *гетерогенная ядерная РНК*.

Mauro Santos

Ядерного магнитного резонанса спектроскопия (ЯМР-спектроскопия). Мощный метод, применяемый в исследовании структуры и динамики нуклеиновых кислот в растворе и их взаимодействий с *лигандами*, такими как белки, другие нуклеиновые кислоты, низкомолекулярные соединения, ионы и молекулы растворителя. Для спектроскопии ЯМР используют примерно 0,1–1 мМ растворы нуклеиновой кислоты. Образец растворяют в 0,3–0,5 мл буферного раствора. Метод основан на изучении поведения ядерных спи-

нов атомов молекул во внешнем магнитном поле. Это поведение зависит от химического окружения ядер, а также от количества связанных атомов, их природы, расположения и расстояний между ними. На практике в исследованиях нуклеиновых кислот используют спектроскопию ЯМР на ядрах ^1H , ^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P и ^{19}F .

Изотопное мечение. В то время как природное содержание активных в ЯМР, но не радиоактивных ядер ^1H , ^{31}P и ^{19}F составляет 100% или около того, другие активные в ЯМР ядра должны быть специально внедрены. Для исследования методом ЯМР необходимы миллиграммовые количества РНК, меченной изотопами (^{13}C , ^{15}N).

Информация, получаемая с помощью спектроскопии ЯМР. Предельный размер РНК, которую можно исследовать методом ЯМР, составляет около 100 нуклеотидов. Исследования методом спектроскопии ЯМР позволяют получить следующую информацию:

- тип спаривания оснований (см. *оснований пара*), в том числе стандартные и нестандартные *уотсон-криковские пары оснований*, позволяет обнаружить элементы *вторичной структуры* РНК, а также определить динамику образования пар оснований;
- информацию о равновесных конформациях, таких как *шпильки* и *дуплексы*;
- информацию о сайтспецифическом связывании ионов с РНК;
- информацию о локальных структуре и динамике, а также об общей структуре молекулы РНК;
- картирование взаимодействия РНК с малыми *лигандами*, другими РНК и белками;
- представление о динамике *фолдинга* РНК во времени.

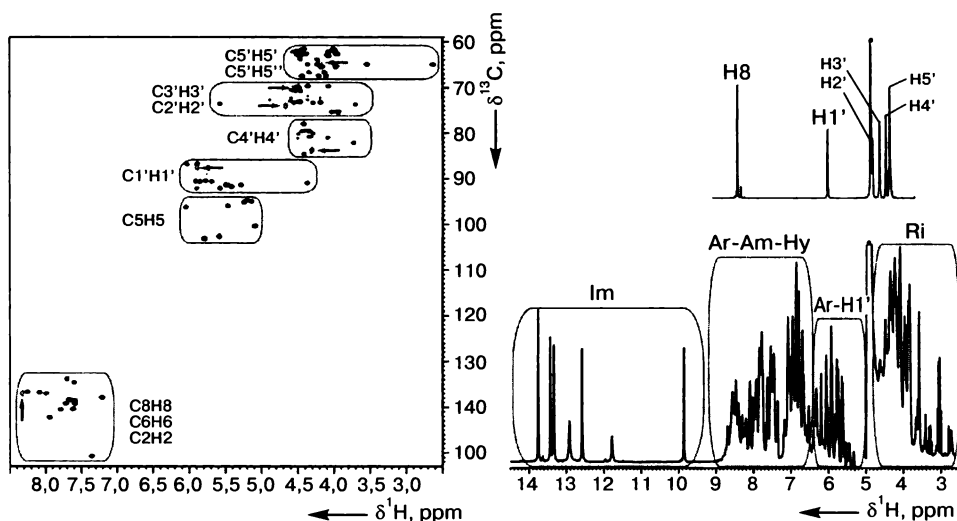


Рис. 1. 1D ^1H - и 2D ^{13}C -HCQC спектры гуанозинтрифосфата и 14-нуклеотидной РНК-шпильки cUUCGg. Типичные участки спектра выделены серыми рамками (Im: иминовый ^1H , Ar: ароматический ^1H , Am: аминный ^1H , Ri: рибозный ^1H) в 1D ^1H -спектре ГТФ, показано отнесение сигналов

Отнесение сигналов. Первым шагом в спектроскопии ЯМР является соотнесение каждого ЯМР-активного атома (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P) в молекуле с его резонансным сигналом в спектре ЯМР. В одномерных (1D) ЯМР ^1H и двумерных (2D) ^1H , ^{13}C -HSQC спектрах сигналы от разных атомов занимают разные положения в спектре; другими словами, резонансные сигналы характеризуются разными химическими сдвигами.

Параметры ЯМР и структурные расчеты. Можно измерить целый ряд параметров ЯМР, несущих информацию о строении молекулы. Далее кратко описано происхождение параметров ЯМР и их использование для уточнения структуры молекул РНК.

Расчет расстояний из ядерных эффектов Оверхаузера (NOE, ЯЭО). Из ЯЭО можно получить информацию о расстояниях между двумя ЯМР-активными ядрами, если они находятся на расстоянии меньше 5 Å. На рис. 2 показан типичный 2D-эксперимент ЯЭО (NOESY). Каждый внедиагональный сигнал (кросс-пик) в нем указывает на небольшое расстояние между двумя атомами в 17-нуклеотидной РНК.

Ограничение на расстояния между протонами (r_{ij}), определяемое из данных ЯМР, получают из интенсивности кросс-пиков (I^{NOE}) для двух протонов (i, j) по следующей формуле:

$$r_{ij} \approx (c_{\text{cal}} I_{ij}^{\text{NOE}})^{-1/6}$$

Константу c_{cal} определяют по стандарту с известным расстоянием между ядрами, например $r_{\text{H5,H6}}$ в *пиримидиновых основаниях*:

$$c_{\text{cal}} = (r_{\text{ref}}^{-6}) / (I_{\text{ref}}^{\text{NOE}})$$

Расчет торсионных углов из скалярных констант спин-спинового взаимодействия. Гомо- и гетероядерные константы спин-спинового взаимодействия позволяют судить о *конформациях*, которые связаны с изменением торсионных углов. Измерение скалярных взаимодействий для РНК особенно важно из-за низкой плотности протонов у этой молекулы по сравнению с белками и большого числа свободных торсионных углов. К тому же в неканонических участках РНК, таких как *однонуклеотидные выпетливания* и *петли*, часто наблюдается конформационная неоднородность, и для определения конформационной динамики часто недостаточно использования набора ограничений на расстояния, полученного из ЯЭО.

В частности, вицинальные константы спин-спинового взаимодействия $^3J_{\text{XY}}$ между ядрами X и Y, разделенными тремя связями, используют для определения торсионных углов, так как они непосредственно свидетельствуют о вращении вокруг данных связей. Зависимость конкретной константы взаимодействия от конкретного торсионного угла в основном получают из уравнения Карплуса для соответствующего взаимодействия в фиксированных нуклеотидах известной конформации.

Анализ водородных связей из скалярных пространственных констант спин-спинового взаимодействия. Электронная плотность между атомами азота, связанными водородными связями в парах оснований, порождает пространственные скалярные взаимодействия с константами $^2hJ_{\text{NN}} \leq 7$ Гц. Подобная информация может быть использована для определения геометрии водородных связей в уотсон-криковских, а также не-уотсон-криковских парах оснований.

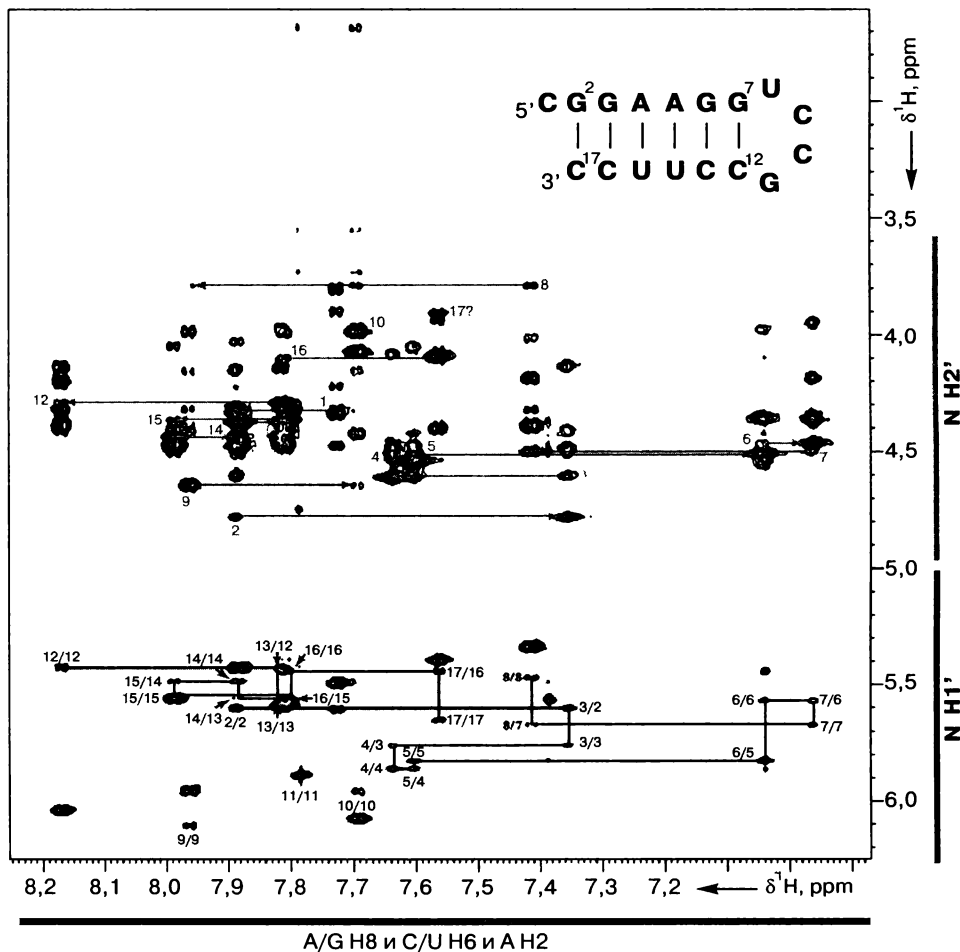


Рис. 2. 2D ^1H - ^1H спектр (NOESY) РНК-шпильки, измеренный в растворе в D_2O при 298 К и 600 МГц. Показаны взаимосвязи между пиками, дающие первичную информацию о структуре: $\text{H}_i^{\text{ar}}/\text{H}_{i-1}^{\text{ar}} \rightarrow \text{H}_i^{\text{ar}}/\text{H}_i^{\text{ar}} \rightarrow \text{H}_{i+1}^{\text{ar}}/\text{H}_i^{\text{ar}}$, $\text{H}_i^{\text{ar}}/\text{H}_i^{\text{ar}} \rightarrow \text{H}_i^{\text{ar}}/\text{H}_{i-1}^{\text{ar}} \rightarrow \text{H}_{i+1}^{\text{ar}}/\text{H}_i^{\text{ar}}$

Информация о дальних структурных взаимодействиях из остаточных дипольных взаимодействий (ОДВ). ОДВ зависят от ориентации молекул относительно направления внешнего магнитного поля из-за анизотропии молекулы РНК. Эффекта можно добиться с помощью добавления другого растворителя, т. е. создания так называемой выравнивающей среды, что стерически мешает молекулам вновь принять изотропную ориентацию. При ЯМР растворов нуклеиновых кислот используются такие выравнивающие среды, как растворы филаментов бактериофага Pf1, обладающие устойчивостью к высокой ионной силе раствора и выдерживающие температурные изменения в большом интервале. Pf1 представляет собой стержнеобразный объект, ориентированный параллельно внешнему магнитному полю, в основном отрицательно заряженный и поэтому индуцирующий вы-

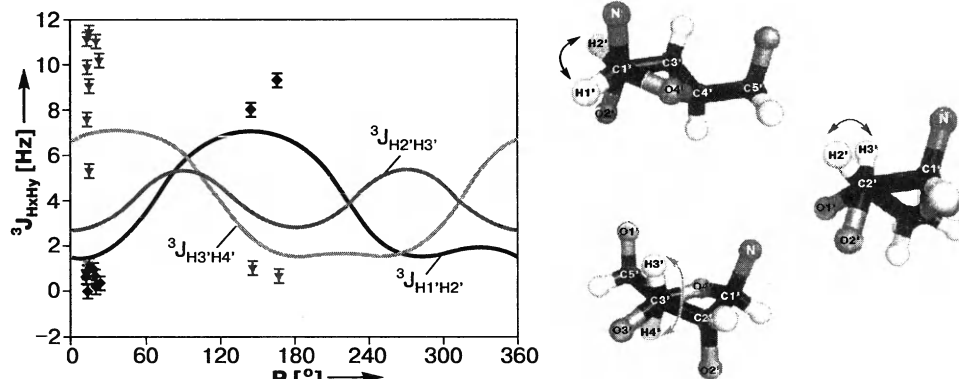


Рис. 3. См. рис. X на цветной вклейке

равнивание также отрицательно заряженных нуклеиновых кислот посредством стерического и электростатического отталкивания.

Расчет структуры РНК по данным ЯМР. Расчет структуры представляет собой задачу по минимизации целевой функции, которая отражает соответствие конформации макромолекулы и набора ограничений, полученного из данных по ЯЭО, констант спин-спинового взаимодействия, ОДВ и т. д. Существуют два основных метода решения задачи минимизации: (а) матрица расстояний в метрической геометрии (DG, *distance geometry*) и (б) моделирование молекулярной динамики, ограниченной картезианскими или торсионными углами (rMD, *restrained molecular dynamics simulation*). Первый метод используется в таких программах, как DIG-II и DIANA, второй — в таких, как AMBER CHARMM, XPLOR и CNX/CNS. В обоих случаях целью является создание ансамбля молекулярных структур, которой соответствуют экспериментально полученные ограничения. В случае rMD структуры рассчитываются с учетом полученных из ЯМР ограничений путем минимизации энергии; при этом функция потенциальной энергии (целевая функция) включает классические компоненты $V_{\text{клас}}$ (описывают собственную энергию молекулы) и компоненты, отражающие данные ЯМР ($V_{\text{ЯМР}}$):

$$V_{\text{общ}} = V_{\text{клас}} + V_{\text{ЯМР}}$$

$$\text{где } V_{\text{клас}} = \omega_{\text{св}} V_{\text{св}} + \omega_{\text{угл}} V_{\text{угл}} + \omega_{\text{двугран}} V_{\text{двугран}} + \omega_{\text{несобств}} V_{\text{несобств}} + \\ + \omega_{\text{ван-дер-ваальс}} V_{\text{ван-дер-ваальс}} + \omega_{\text{электростатич}} V_{\text{электростатич}}$$

и

$$V_{\text{ЯМР}} = \omega_{\text{ЯЭО}} V_{\text{ЯЭО}} + \omega_{\text{J-взаимод}} V_{\text{J-взаимод}} + \omega_{\text{H-св}} V_{\text{H-св}} + \omega_{\text{ОДВ}} V_{\text{ОДВ}}$$

Параметр ω описывает силовые константы, определяющие независимые вклады в энергию. Классические компоненты фиксированы в силовом поле, ЯМР-компоненты подбираются эвристически.

На рис. 5 (см. рис. XI на цветной вклейке) продемонстрирован расчет структуры 14-нуклеотидной cUUCGg *тетрапетли* РНК. Начиная протокол

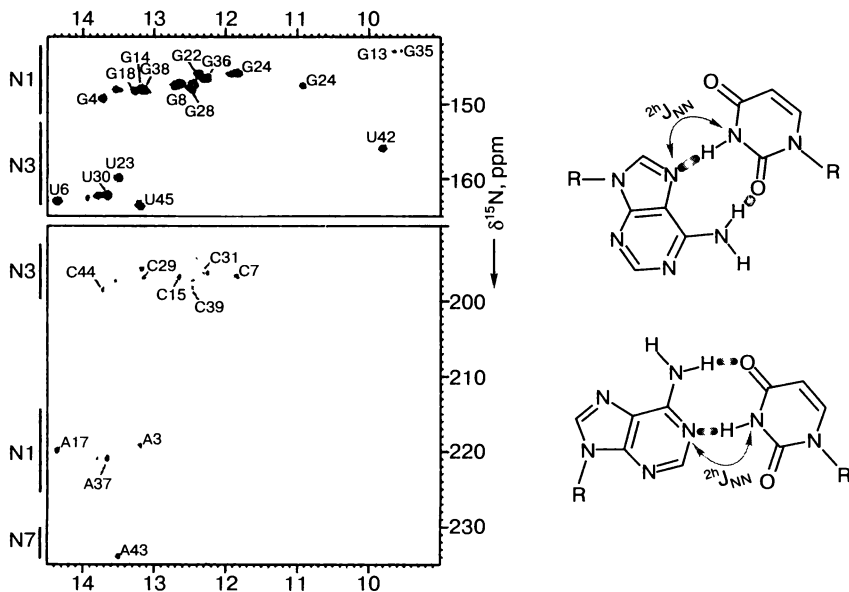


Рис. 4. Использование констант скалярных взаимодействий ${}^{2h}J_{NN}$ для установления картины спаривания оснований в молекуле РНК (рибозим Дильса–Альдера в 4 мМ Ca^{2+} в присутствии ингибитора). Слева представлены диагональные и внедиагональные пики, полученные в эксперименте HNN-COSY на частоте 800 МГц при 298 К. Верхняя часть показывает пики иминогрупп; пики гуанина и урацила хорошо разделены из-за разницы химических сдвигов N1 и N3 соответственно. Кросс-пики (внедиагональные) также хорошо разделены из-за разницы химических сдвигов атомов азота в разных основаниях. Могут быть определены не только канонические уотсон-криковские пары (уотсон-криковская пара A-U показана *внизу справа*), но также обращенные хугстиновские пары (как, например, пара A43 и U23; геометрия этой пары оснований показана *вверху справа*; эллипсоидами изображена электронная плотность, обуславливающая скалярные взаимодействия

модельного отжига произвольной цепи РНК при случайном наборе начальных условий (скоростей), рассчитаны 100 структур; затем они сортируются по полной энергии каждой структуры. После этого отбирают 10 структур с минимальными энергиями, и они формируют набор, отражающий структуру, наилучшим образом соответствующую заданным структурным параметрам ЯМР.

Для критической оценки качества ЯМР-структуры используются три различных показателя: конвергенция, точность и соответствие.

Конвергенция (сходимость). Сколько структур из 100 рассчитанных имеют полную энергию того же порядка, что и лучшие структуры? Это не означает, что при вычислении для энергетически конвергентных структур должно быть получено меньшее по величине среднеквадратичное отклонение (СКО) по сравнению с расчетом, в котором наблюдалось резкое увеличение энергии в ряду рассчитанных структур.

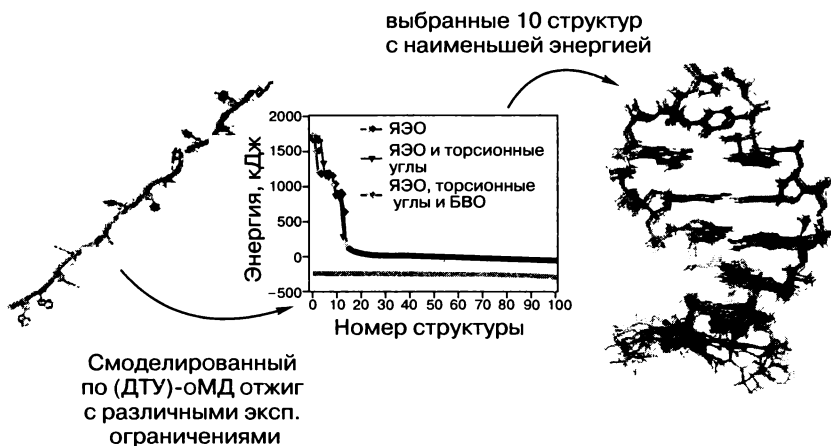


Рис. 5. См. рис. XI на цветной вклейке

Точность. Насколько велико СКО для набора структур? Насколько велико СКО между экспериментально измеренными вводными параметрами и теми же параметрами, рассчитанными заново из набора структур?

Соответствие. Насколько велики различия между рассчитанной и реальной структурами?

Boris Fürtig, Harald Schwalbe

Ядерные гены. Гены, локализованные в ядре эукариотической клетки.

Ядро. См. *каталитическое ядро*

ЯМР-исследования нуклеиновых кислот. См. *ядерного магнитного резонанса спектроскопия*.

яРНК. См. *ядерная РНК*.

Литература

- R. Besch, C. Giovannangeli, K. Degitz, Triplex-forming oligonucleotides – sequence specific DNA ligands as tools for gene inhibition and for modulation of DNA-associated functions. *Curr. Drug. Targets* **2004**, 5, 691–703.
- G. M. Blackburn, M. J. Gait, D. Loakes, D. M. Williams (Eds.), *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*. RSC Publishing, Cambridge, **2006**.
- X. Cheng, R. M. Blumenthal (Eds.), *S-Adenosyl-methionine-dependent Methyltransferases: Structures and Functions*. World Scientific Publishing, Singapore, **1999**.
- D. R. Corey, RNA learns from antisense. *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 8–11.
- S. T. Crooke, Progress in antisense technology. *Annu. Rev. Med.* **2004**, 55, 61–95.
- V. V. Didenko (Ed.), *Fluorescent Energy Transfer Nucleic Acid Probes, Design and Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, **2006**.
- A. Ducruix, R. Giege (Eds.), *Crystallization of Nucleic Acids and Proteins: A Practical Approach*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford, **1999**.
- A. Fallert-Müller (Ed.), *Lexikon der Biochemie*. Spektrum Akademischer Verlag, München, **1999/2000**.
- A. R. Ferre-D'Amare, J. A. Doudna, Crystallization and structure determination of a hepatitis delta virus ribozyme: use of the RNA-binding protein U1A as a crystallization module. *J. Mol. Biol.* **2000**, 295, 541–556.
- E. Freisinger, R. K. O. Sigel, From nucleotides to ribozymes – a comparison of their metal ion-binding properties. *Coord. Chem. Rev.* **2007**, 251, 1834–1851.
- R. Garret, S. R. Douthwaite, A. Liljas, A. T. Matheson, P. B. Moore, H. F. Noller (Eds.), *The Ribosome: Structure, Function, Antibiotics and Cellular Interaction*. ASM Press, Washington, DC, **2000**.
- S. F. Gilbert, *Developmental Biology*, 8th edn. Sinauer Associates, Sunderland, MA, **2006**.
- H. Grosjean, R. Benne (Eds.), *Modification and Editing of RNA*. ASM Press, Washington, DC, **1998**.
- R. K. Hartmann, A. Schön, E. Westhof (Eds.), *Handbook of RNA Biochemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- A. Herbert, A. Rich, The biology of left-handed Z-DNA. *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 11595–11598.
- I. Hofacker, P. F. Stadler, RNA secondary structures, in: *Bioinformatics – From Genomes to Therapies*, Vol. 1, T. Lengauer (Ed.): Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- G. Kahl, *The Dictionary of Gene Technology*, 2nd edn. Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.

- J. M. Kalish, P. M. Glazer, Targeted genome modification via triple helix formation. *Ann. NY Acad. Sci.* **2005**, 1058, 151–161.
- E. Katz, I. Willner, Integrated nanoparticle – biomolecule hybrid systems: synthesis, properties and applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6042–6108.
- E. Katz, I. Willner, Biomolecule-functionalized carbon nanotubes: applications in nanobioelectronics. *Chem. Phys. Chem.* **2004**, 5, 1194–1104.
- E. Katz, B. Willner, I. Willner, Amplified electrochemical and photoelectrochemical analysis of DNA, in: *Perspectives in Bioanalysis*, Vol. 1, *Electrochemistry of Nucleic Acids and Proteins – Towards Electrochemical Sensors for Genomics and Proteomics*, E. Palecek, F. Scheller, J. Wang (Eds.). Elsevier, Amsterdam, **2005**.
- J. S. Kieft, R. T. Batey, A general method for rapid and nondenaturing purification of RNAs. *RNA* **2004**, 10, 988–995.
- R. Knippers (Ed.), *Molekulare Genetik*. Thieme, Stuttgart, **2001**.
- E. T. Kool, Modified DNA bases: probing base pair recognition by polymerases, in: *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology, and Medicine*, P. Herdewijn (Ed.): Wiley-VCH, Weinheim, 2007.
- A. Krueger, H. Lu, A. H.-F. Lee, E. T. Kool, Synthesis and properties of size-expanded DNAs: toward designed, functional genetic systems. *Accts. Chem. Rev.* **2007**, 40, 141–150.
- A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. M. Cox, *Principles of Biochemistry*. Worth, New York, 1993.
- B. Lewin, *Genes VII*. Oxford University Press, New York, 2000.
- B. Lewin, *Genes IX*. Jones & Bartlett, Boston, MA, 2007.
- X. Li, D. R. Liu, DNA-templated organic synthesis: nature's strategy for controlling chemical reactivity applied to synthetic molecules. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4848–4870.
- D. Loakes, The applications of universal DNA base analogues. *Nucleic Acids Res.* **2001**, 29, 2437–2447.
- K. H. Nierhaus, D. E. Wilson (Eds.), *Protein Synthesis and Ribosome Structure: Translating the Genome*. Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- W. H. Pan, G. A. Clawson, Antisense applications for biological control. *J. Cell Biochem.* **2006**, 98, 14–35.
- A. M. Pingoud (Ed.), *Restriction Endonucleases*. Springer, Berlin, **2004**.
- A. Pingoud, M. Fuxreiter, V. Pingoud, W. Wende, Type II restriction endonucleases: structure and mechanism. *Cell Mol. Life Sci.* **2005**, 62, 685–707.
- W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*. Springer, New York, 1984.
- U. Schepers, *RNA Interference in Practice: Principles, Basics, and Methods for Gene Silencing in C. elegans, Drosophila, and Mammals*. Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.

- L. J. Scherer, J. J. Rossi, Approaches for the sequence-specific knockdown of mRNA. *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1457–1465.
- C. Schmuck, H. Wennemers (Eds.), *Highlights in Bioorganic Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- N. C. Seeman, DNA in a material world. *Nature* **2003**, *421*, 427–431.
- N. C. Seeman, P. S. Lukeman, Nucleic acid nanostructures. *Rep. Prog. Phys.* **2005**, *68*, 237–270.
- N. C. Seeman, From genes to machines: DNA nanomechanical devices. *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 119–125.
- N. C. Seeman, Nanotechnology and the double helix. *Sci. Am.* **2006**, *290*, 64–75.
- R. K. O. Sigel, A. M. Pyle, Alternative roles for metal ions in enzyme catalysis and the implications for ribozyme chemistry. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 97–113.
- L. Snyder, W. Champness (Ed.), *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, Washington, DC, 2003.
- D. Söll, U. L. RajBhandary, *tRNA: Structure, Biosynthesis and Function*. ASM Press, Washington, DC, 1994.
- C. E. Thomas, A. Ehrhardt, M. A. Kay, Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat. Rev. Genet.* **2003**, *4*, 346–358.
- H. A. Wagenknecht (Ed.) *Charge Transfer in DNA: From Mechanism to Application*. Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- B. Vester, J. Wengel, LNA (locked nucleic acid): high affinity targeting of complementary RNA and DNA. *Biochemistry* **2004**, *43*, 13233–13241.

Дополнительная литература на русском языке¹

- Биссвангер Х. *Практическая энзимология* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2010**.
- Богданов А. А., Медников Б. М. *Власть над геном*. М.: Просвещение, **1989**.
- Браун Т. А. *Геномы*. М.: Институт компьютерных исследований, **2011**.
- Джаксон М. Б. *Молекулярная и клеточная биофизика* / пер. с англ. М.: Мир; БИНОМ. Лаборатория знаний, **2009**.
- Докинз Р. *Эгоистичный ген* / пер. с англ. М.: Мир, **1993**.
- Жимулев И.Ф. *Общая и молекулярная генетика*. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во. **2007**.
- Зергер В. *Принципы структурной организации нуклеиновых кислот* / пер. с англ. М.: Мир, **1987**.

¹ Составитель редактор перевода А. А. Быстрицкий.

Кольман Я., Рем К.-Г. *Наглядная биохимия* / пер. с нем. 3-е изд. М.: Мир; БИНОМ. Лаборатория знаний, **2009**.

Леск А. *Введение в биоинформатику* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2009**.

Лима-де-Фариа А. *Похвала «глупости» хромосомы* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2010**.

Льюин Б. *Гены* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2011**.

Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. *Биохимия человека: в 2-х т.* / пер. с англ. М.: Мир; Бином. Лаборатория знаний, **2009**.

Нельсон Д., Кокс М. *Основы биохимии Ленинджера*, т. 1. / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2012**.

Примроуз С., Тваймен Р. *Геномика. Роль в медицине* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2008**.

ПЦР в реальном времени / под. ред. Д. В. Ребрикова. 2-е изд., исправл. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2009**.

Разин С. В., Быстрицкий А. А. *Хроматин: упакованный геном*. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2009**.

Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. *Спектрометрическая идентификация органических соединений* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2011**.

Спирин А.С. *Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка* / пер. с англ. М.: Высшая школа, **1986**.

Уилсон К., Уолкер Дж. *Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии* / пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2013**.

Шмид Р. *Наглядная биотехнология* / пер. с нем. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, **2013**.

Щелкунов С.Н. *Генетическая инженерия*. 2-е изд., испр. и доп. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, **2004**.

Эллиот В., Эллиот Д. *Биохимия и молекулярная биология* / пер. с англ. М.: МАИК «Наука / Интерпериодика», **2002**.

Содержание

Предисловие	5
Авторы	7
A–Z	11
A–Я	47
Литература	409
Дополнительная литература на русском языке	411

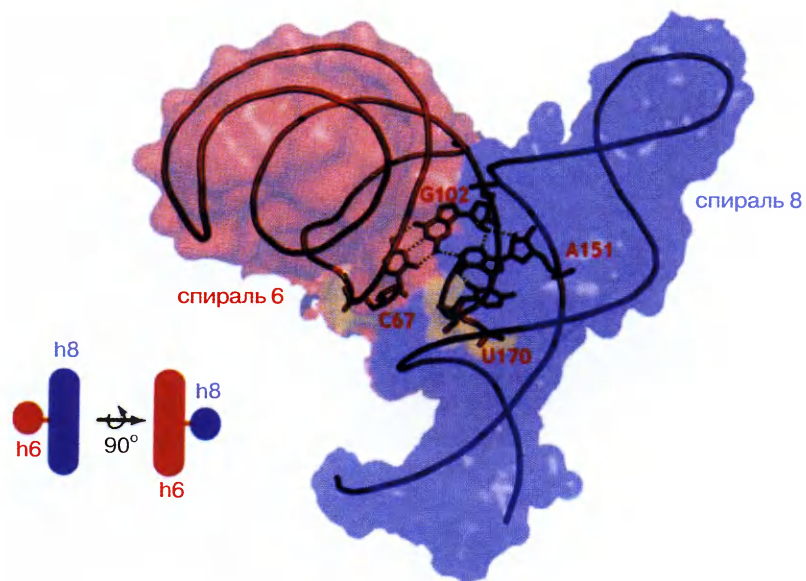


Рис. 1. А-минорный мотив в молекуле 16S рРНК. Показано, каким образом А-минорный мотив II типа способствует упаковке спиралей h8 (показана синим) и h6 (показана красным); нуклеотиды, участвующие в третичном взаимодействии, выделены оранжевым. Нуклеотид A151 образует А-минорный мотив II типа путем взаимодействия с парой G102-C67; дополнительно показано хугстиновское взаимодействие A151 с U170

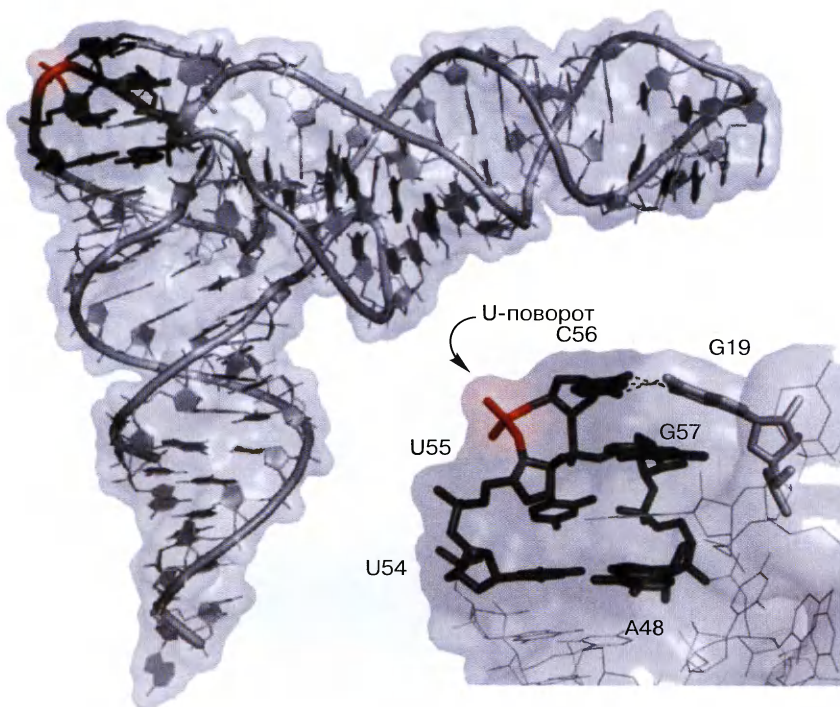


Рис. II. U-поворот в молекуле тРНК^{Phe} (4TRA). Нуклеотиды, образующие мотив U-поворота, выделены черным. В каркасной модели поворот в направлении цепи вокруг фосфатной группы остова выделен красным. *Слева* — вся молекула; анти-кодовая петля обращена вправо, ССА-«хвост» — вниз. *Справа* — увеличенное изображение U-поворота, который в молекуле тРНК^{Phe} определяет дальнейшее взаимодействие между нуклеотидами C56 и G19

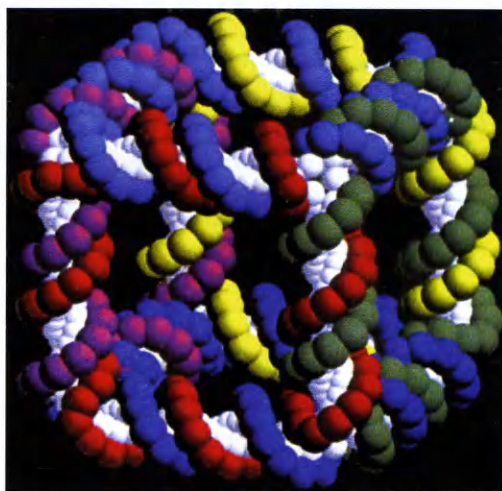


Рис. III. Наноконструкция на основе ДНК: ДНК, образующая куб

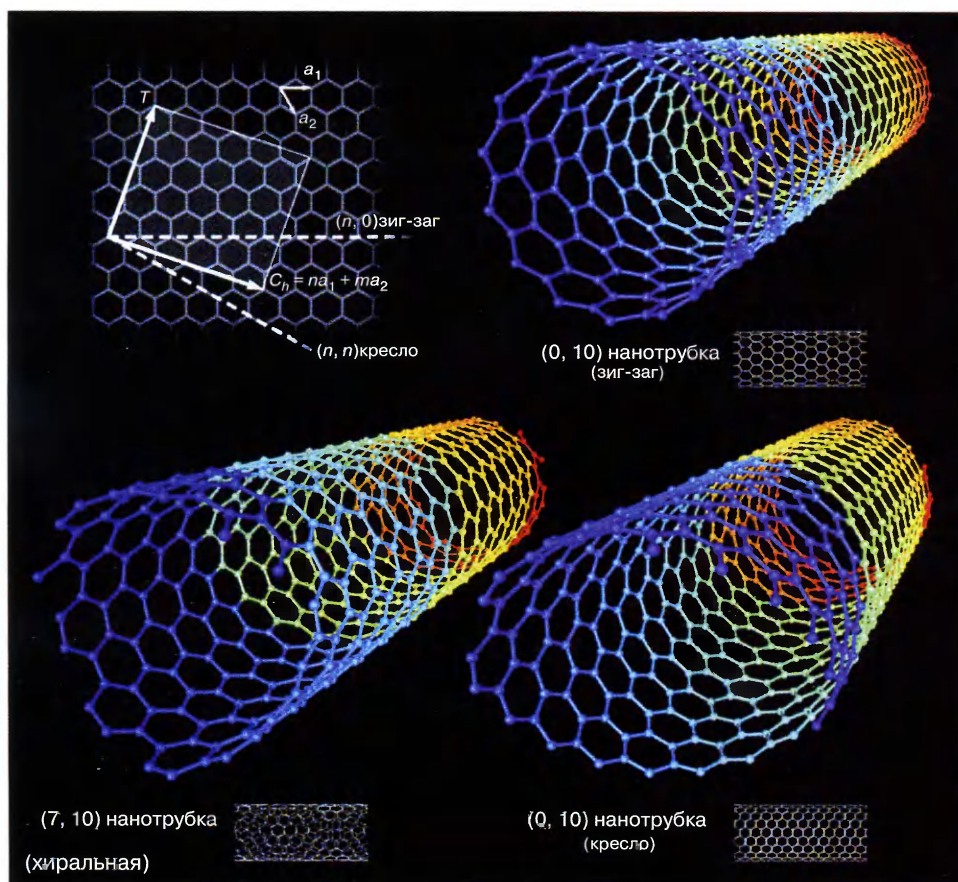


Рис. IV. ДНК-функционализированные углеродные нанотрубки (УНТ): строение УНТ с различными типами сворачивания графеновых листов. Параметры (n, m) , указанные под схемами, определяют в листе графена вектор (C_n) , который описывает, каким образом лист сворачивается, образуя нанотрубку. T — ось трубки, a_1 и a_2 — единичные векторы графенового слоя. (Из Википедии с разрешения; иллюстрация M. Strock: http://en.wikipedia.org/wiki/image:Types_of_Carbon_Nanotubes.png.)

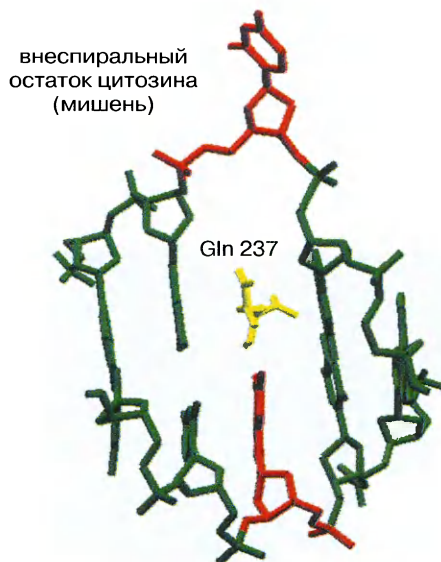


Рис. V. Выворачивание оснований в комплексе цитозин(С5)-метилтрансферазы из *Haemophilus haemolyticus* (*M.HhaI*) с коротким дуплексным олигодезоксирибонуклеотидом и кофактором S-аденозил-L-гомоцистеином. Остаток цитозина, включая 2'-дезоксирибозу и два соседних фосфата, выворачивается из молекулы ДНК на 180° и оказывается в активном центре в непосредственной близости от кофактора. Полость в двойной спирали ДНК заполняется остатком глутамина (Q237) молекулы *M.HhaI*, который образует водородные связи с неспаренным остатком гуанина

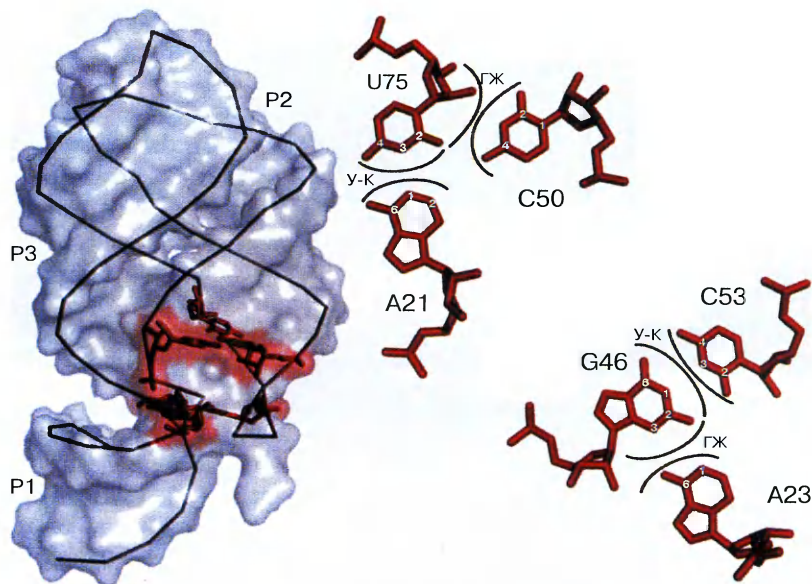


Рис. VI. Тройка оснований. Схематически показаны тройки оснований, обнаруженные в структуре РНК рибопереключател (слева — PDB-код: 1U8D), где они облегчают третичные взаимодействия. Две тройки оснований изображены в виде стержневых моделей, на которых видно, что эти взаимодействия наблюдаются и на уотсон-криковских сторонах (У-К), и на сторонах желобка (СЖ)

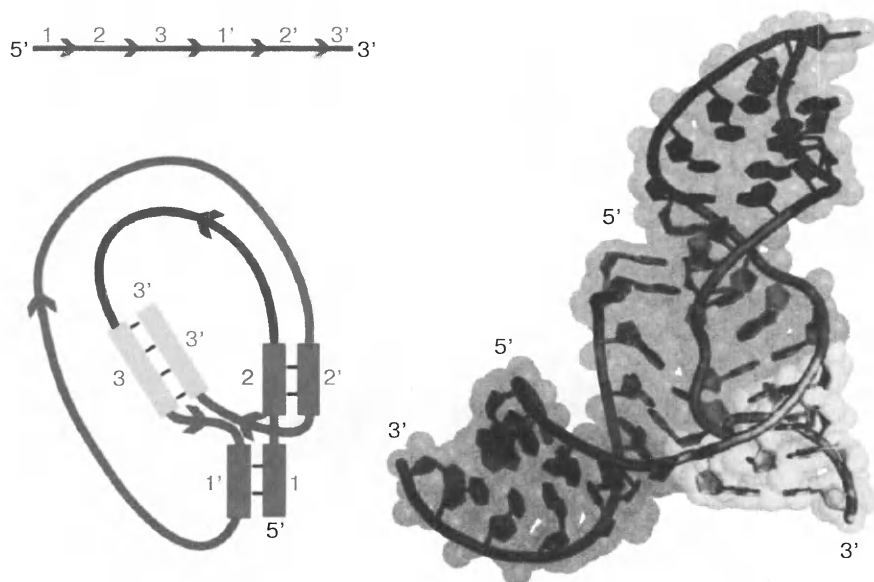


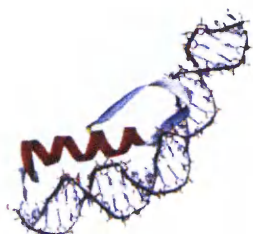
Рис. VII. Псевдоузел. *Слева* — схема псевдоузла в составе рибозима Дильса-Альдера, имеющего строение 1-2-3-1'-2'-3'. *Справа* — трехмерная структура рибозима Дильса-Альдера, определенная методом рентгеноструктурного анализа. Одинаковыми цветами обозначены одни и те же элементы (PDB-код: 1YLS)



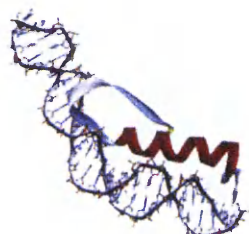
аптамер • природная мишень



зеркально-отраженная мишень • зеркально-отраженный аптамер



зеркально-отраженная мишень • аптамер



шпигельмер • природная мишень

Рис. VIII. Шпигельмеры

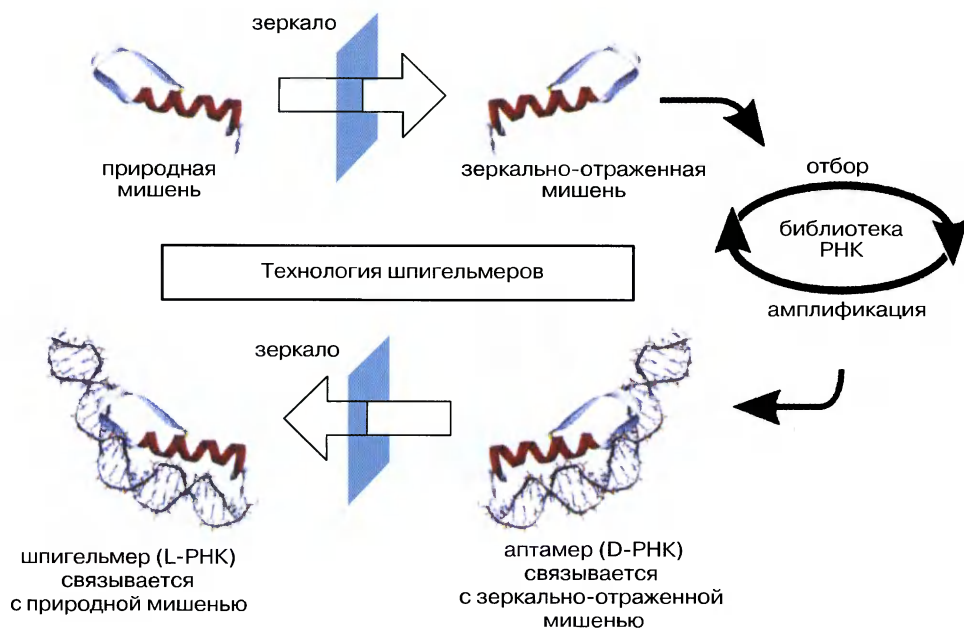


Рис. IX. Технология шпигельмеров

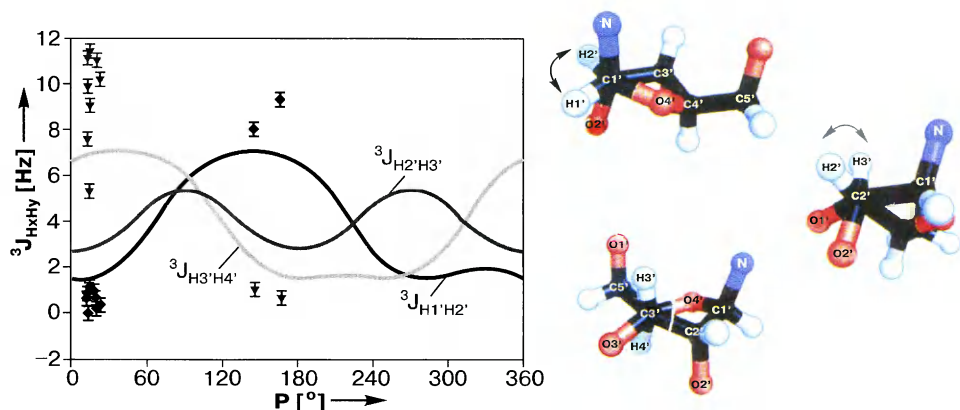


Рис. X. Кривые Карплуса для трех констант взаимодействия $^3J_{HxHy}$, демонстрирующие зависимость от конформации рибозного кольца в РНК (конформация описана как угол псевдоповорота P , град.; см. *псевдовращение*). Углы, описываемые константами скалярного взаимодействия, приведены справа от шаро-стержневой модели молекулы рибозы в $C3'$ -эндо-конформации

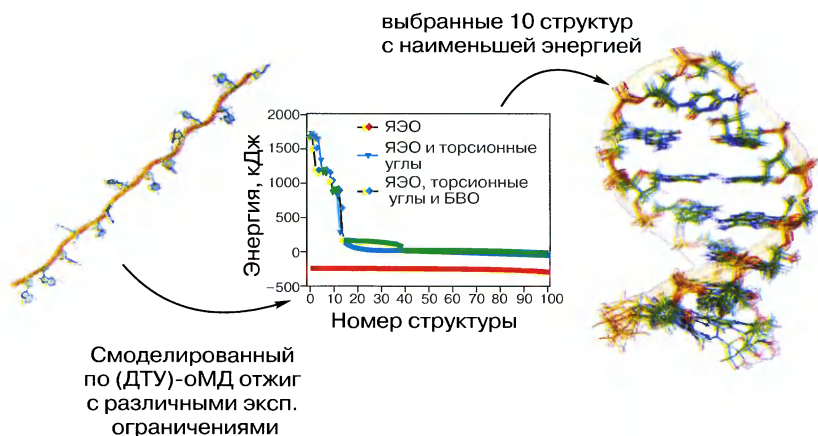


Рис. XI. Расчеты начинают с произвольной вытянутой структуры РНК, затем с учетом динамики торсионных углов рассчитывают 100 различных структур, которые сортируют по энергии после минимизации, и в качестве структурных моделей выбирают из них 10 структур, наилучшим образом соответствующих заданным параметрам



Мюллер Сабина, профессор, с 2006 г. заведующий кафедрой биоорганической химии Грайфсвальдского университета (Германия). Окончила Университет Гумбольдта в Берлине, получила степень доктора в 1994 г. Затем стажировалась в Кембридже (Великобритания) вместе с Майклом Дж. Гейтом, по окончании стажировки – руководитель научной группы в Университете Гумбольдта, затем – профессор биоорганической химии в Рурском университете Бохума.

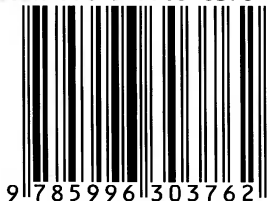
Эта книга может служить хорошим проводником в труднопреодолимых джунглях информации о нуклеиновых кислотах. Здесь собраны знания о нуклеиновых кислотах из аналитической химии, биохимии, генетики, молекулярной медицины, нанотехнологии, супрамолекулярной химии, химического синтеза, теоретической и структурной биологии. Описаны новейшие сведения о рибозимах, РНК-интерференции, малых некодирующих РНК, олигонуклеотидах как лекарственных средствах нового поколения и многое другое.

Более 1500 статей охватывают практически все тематически важные соединения, концепции, термины и определения, связанные с нуклеиновыми кислотами, методы исследования и приемы работы в биохимической лаборатории. Очень поможет читателю множество перекрестных ссылок.

Нуклеиновым кислотам уделяется особое внимание в самых разных областях науки; они являются важным инструментом при исследованиях в биологии, биохимии и медицине (например, с целью разработки лекарств, методов медицинской диагностики с применением нерадиоактивных меток).

Для научных сотрудников (в том числе в смежных областях), а также студентов вузов, аспирантов и преподавателей.

ISBN 978-5-9963-0376-2



9 785996 303762