

# Черный ящик генетического кода — 2

А.М.Дейчман

Статья А.М.Дейчмана под названием «Черный ящик генетического кода» уже выходила в «Химии и жизни» (1994, № 11). В статье обсуждалась возможная природа возникновения генетического кода. Со времени публикации прошло более 10 лет, но «черный ящик» по-прежнему не раскрыт.

Всем известна центральная догма молекулярной биологии: информация в живой клетке передается от ДНК к РНК, а от РНК — к белку. У специалиста по теории информации естественно возникает вопрос: всегда ли эта передача является односторонней?

Вокруг этого вопроса страсти кипели десятилетиями, в том числе и на страницах «Химии и жизни». Обратная транскрипция (синтез ДНК на матрице РНК) была найдена в природе и заняла свое законное место в картине мира. А вот может ли белок становиться матрицей? Практическая польза от подобного процесса неочевидна. Как нечто подобное могло возникнуть в ходе эволюции — неясно. В природе ничего такого вроде бы не наблюдалось.

Неудивительно, что передача информации от белка к нуклеиновым кислотам постепенно стала темой скомпроментированной, почти неприличной. Почему же все-таки некоторые специалисты не устают заниматься этой «ерундой»?

Идея «белок → ДНК или РНК» сама по себе нетривиальна. ДНК и РНК — полимеры сравнительно с белком «неинтересные». Четыре мономера в линейной цепочке. Только и радости, что способны к комплементарному взаимодействию по типу А-Т (У) и Г-С, при котором образуются двунитевые структуры. (Цепочка у РНК, правда, более гибкая, так что при наличии комплементарных участков одна молекула может взаимодействовать не только с другой, но и сама с собой, образуя петли. Эту ее способность природа использовала весьма умело — создавая, в частности, те самые тРНК, о которых пойдет речь дальше.) По большому счету ДНК и РНК представляют собой тексты, удобные для копирования. Типичные молекулы с чисто формационной активностью.

С белками все иначе. Их свойства — это свойства всей живой материи во

всем ее многообразии, от панциря черепахи до ферментов, синтезирующих ароматические вещества цветов. Если ДНК — это печатные тексты различной длины, а РНК — выписки из них, то белки — все, что описано в книгах, журналах или газетах.

На этом месте аналогия начинает хромать: понятно, что предметы реального мира первичны, а их описание (пускай даже переосмысленные и художественно трансформированные) — вторичны. Поэтому обычно аналогию сужают: нуклеиновые кислоты — это техническая литература, белки — вещи, приборы, механизмы или детали механизмов, словом, все, что сделано руками. Тогда все правильно: проект и чертежи первичны, изделие вторично. Как правило, но не всегда.

Представьте себе, что у вас есть некий прибор, и вам нужно с нуля написать к нему техническую документацию. (Не будем уточнять, в каких ситуациях может возникнуть такая задача и как это называется с точки зрения авторского права.) Тем, кто пробовал, известно: сделать это можно. Другое дело, что получившиеся документы не будут слово в слово повторять исходные. И все-таки с помощью этой документации можно будет изготавливать новые работающие устройства.

Но бывают ли в природе ситуации, когда клетке приходится разбираться с чужим белком, не закодированным в ее собственном геноме, причем разбираться детально? Первое, что приходит на ум, — специфический иммунный ответ. В организм попадает антиген, и против него синтезируется антитело.

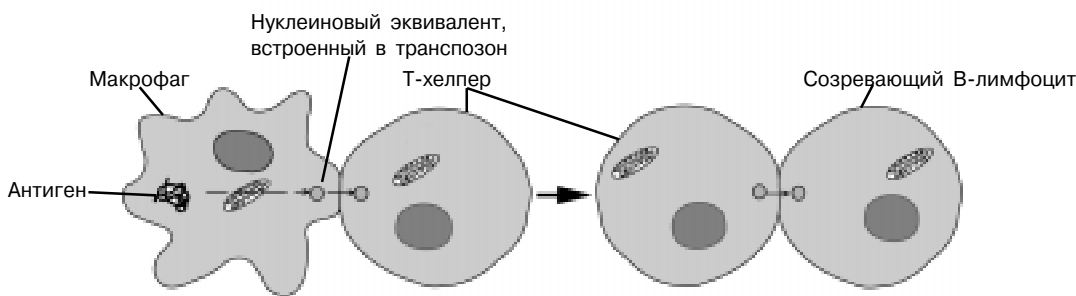
## Макрофаги и антитела

Каким образом создается громадное разнообразие антител, отвечающее громадному разнообразию антигенов, способных попасть в организм? Ме-

ханизмы, обеспечивающие высокую варибельность генов иммуноглобулинов (белков, образующих антитела), хорошо известны (см. о них, например, в статье Е.П.Харченко в февральском номере «Химии и жизни»). Достигается эта варибельность, во-первых, за счет рекомбинации генных фрагментов, во-вторых, за счет появления некодируемых нуклеотидов в результате точечных мутаций. То и другое происходит во время созревания В-лимфоцитов (в костном мозге и лимфатических органах), которые дают начало клонам плазматических клеток, продуцирующих антитела. Пока эти механизмы не были известны, исследователи терялись в догадках: гены всех антител ко всем возможным антигенам явно не помещались в геном млекопитающего, обширный, но все-таки не бесконечно большой.

И все же многие иммунологи по сей день придерживаются мнения, что известные на сегодня механизмы не могут обеспечить ни нужного уровня варибельности (около  $10^{16}$  для антител и рецепторов В-клеток и  $10^{18}$  — для рецепторов Т-клеток), ни надежного ограничения в выборе среди множества вариантов, на несколько порядков превосходящих общее число лимфоцитов в организме. (См. об этом в классических учебниках: Ярилин А.А., «Основы иммунологии», М., «Медицина», 1999; Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г., «Иммунология», М.: «Медицина», 2000, и др.) В частности, много загадок связано с тем, откуда берутся в генах иммуноглобулинов незакодированные мононуклеотиды.

Сам Ф.М.Бернетт, один из авторов клонально-селекционной теории антител, предполагал, что в механизме специфического иммунного ответа важной деталью должен быть сам антиген. В начале 60-х Бернетт даже допускал возможность обратной трансляции фрагментов антигена и межклеточной передачи его генокопии (см. его книгу «Целостность организма и иммунитет», м., «Мир», 1964) и находил маловероятным, что предсуществует абсолютно вся необходимая для иммунного ответа информация.



**1**  
*Может быть, предшественник созревающего в костном мозге В-лимфоцита, которому предстоит синтезировать антитела, получает самую что ни на есть прямую инструкцию относительно структуры антигена? Передача нуклеинового эквивалента — разумеется, только гипотеза. Но тесные взаимодействия между клетками иммунной системы, показанные на рисунке, действительно имеют место*

Попробуем ради интереса представить поподробнее, как это могло происходить. Очевидно, действие начнется в макрофаге (или дендритной клетке) — клетке, которая первой знакомится с чужеродным белком (если поедание и переваривание можно назвать «знакомством»). Макрофаг расщепляет белок на небольшие фрагменты, вычлняя эпитопы — характерные участки, которые, собственно, и будут узнаваться антителами во время иммунного ответа. Допустим, с этих фрагментов белка снимаются копии из ДНК или, скорее, РНК — назовем их нуклеиновыми эквивалентами. Логично предположить, что для «уточнения» кодирующей последовательности гена антитела (или рецепторов В- и Т-клеток) нуклеиновый эквивалент должен в конце концов попадать в В-лимфоцит либо в Т-клетку.

И вот что удивительно: для развития полноценного иммунного ответа в самом деле необходим тесный физический контакт между клетками иммунной системы: во-первых, между макрофагом и Т-хелпером (клеткой-помощником, которая способствует созреванию В- и Т-лимфоцитов, а во-вторых, между Т-хелпером и низкодифференцированным предшественником лимфоцитов (обоих видов) в костном мозге и, возможно, в тимусе. Что, если «обучение» состоит именно в передаче коротенького фрагмента ДНК — «расшифрованного», переведенного на язык нуклеотидов эпитопа (рис. 1)?

В этом предположении есть логика. Одно дело — предъявлять и передавать уникальный фрагмент белка и совсем другое — информацию об этом фрагменте. Естественно, нуклеиновый эквивалент должен бы «путешествовать» из клетки в клетку не в виде обрывка без конца и начала, а встроенным в мобильный генетический элемент — специальную молекулу ДНК или РНК (в общем случае это транспозон или ретротранспозон), обычно ковалентно или нековалентно замкнутую в кольцо и специально приспособленную для транспортировки генетической

информации. (Подобные молекулы хорошо известны, их роль в эволюции геномов не подвергается сомнению, а порой даже преувеличивается.) Главное его свойство — способность к копированию, причем некоторые такие последовательности способны средствами клеточных ферментов «переводиться» с языка на язык, превращаясь из ДНК- в РНК-форму и наоборот. Некоторые из них способны также встраиваться в другие молекулы ДНК.

Однако вряд ли перенесенный вектором нуклеиновый эквивалент внутри В-лимфоцита встраивается непосредственно в готовый ген иммуноглобулина или рецептора. Сомнительно, чтобы интенсивное изучение молекулярных механизмов специфического иммунитета не выявило такого потрясающего факта: эти гены давно прочитаны до буквы.

Хорошо известно другое уже упомянувшееся здесь явление: некодируемые изменения в генах иммуноглобулинов — вставки, делеции или модификации отдельных нуклеотидов. Они появляются в результате работы обычных ферментов репарации, а также терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы и активационно индуцируемой цитидиндезаминазы, способной редактировать РНК и модифицировать гены иммуноглобулинов. Эти изменения, хотя и точечные, однако очень важные для соответствия антител и рецепторов бесчисленному разнообразию эпитопов антигенов, могут быть и не случайными, если они прямо или косвенно направляются нуклеиновыми эквивалентами.

Осталось придумать самую малость: где и как клетка в нашей модели переводит фрагмент белка на язык нуклеиновых кислот?

### Митохондрии и хлоропласты

Трансляция — синтез белка на матрице РНК — осуществляется с помощью молекул-адапторов: транспортных РНК. В развернутом на плоскости виде

тРНК напоминает клеверный лист, но ее трехмерная структура похожа на букву L, к одному концу которой крепится аминокислотный остаток, а на другом находится петля с антикодонным — свободным участком, комплементарным тому триплету (кодону) в матричной РНК, который соответствует данной аминокислоте.

Можно предположить, что и механизм, который мы условно называем обратной трансляцией — синтез небольшого отрезка молекулы нуклеиновой кислоты (нуклеинового эквивалента) на фрагменте белка (эпитопе) — не обходится без тРНК. Кроме того, нам понадобится достаточно сложное молекулярное устройство — комплекс ферментов, осуществляющих все необходимые реакции. (Назовем это устройство «ретранслозома», по аналогии с рибосомой, сплайсосомой или эдитосомой.) Хотелось бы также прикрепить весь этот комплекс к какой-нибудь мембране, как те же рибосомы с мРНК, прикрепляющиеся к мембранам эндоплазматической сети.

Именно эти три возможности предоставляет органелла, которая есть в каждой эукариотической клетке, — митохондрия. Эта органелла — не просто двухслойный мембранный пузырь, а, можно сказать, почти живое существо. Всеобщее признание сегодня получила теория американской исследовательницы Линн Маргулис, согласно которой современные митохондрии — потомки древних микроорганизмов, вступившие с клеткой в симбиотические отношения: клетка предоставила им кров и защиту, а митохондрии обеспечивали запас энергии, синтезируя АТФ. Для нас важно, в частности, то, что симбионты все еще сохранили от древних, доэукариотических времен кое-какую автономию.

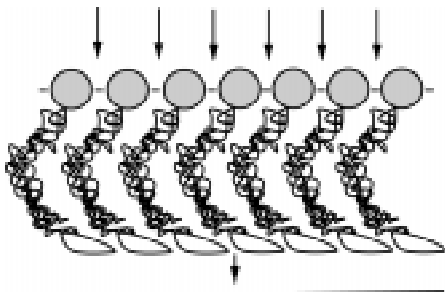
У митохондрии есть собственный геном, она способна размножаться делением. Интересно, что митохондриальный генетический код несколько отличается от универсального ядерного, общего для всех современных живых существ. Есть в митохондриях и собственный набор тРНК — и, кстати, почему-то часть их бывает очень прочно связанной с внутренней мембраной.

В мембране есть поры, через которые могут транспортироваться белки и нуклеиновые кислоты. Однако внутреннее содержимое митохондрии весьма специфично и заметно отличается от клеточной «окружающей среды». Разумеется, есть там и все ферменты и структуры, необходимые для копирования ДНК, синтеза и редактирования РНК, а также синтеза белков. Почему бы не быть и ретрансломе?

Итак, вообразим, что фрагмент белка (эпитоп в 5–10 аминокислот), назначенный к расшифровке, прикреплен к митохондриальной мембране и обнаружен ретрансломой. К тРНК присоединяются только свободные аминокислоты, следовательно, их надо будет отщеплять по одной. (Тогда с одного эпитопа можно снять только одну нуклеиновую копию. Но это не страшно: с копированием ДНК и РНК у клетки нет проблем. Сближенные антикодоны тРНК могут образовать мини-матрицу, на которой синтезируется нуклеиновый эквивалент (рис. 2).

Скорее всего, он не будет точной копией (или ее комплементарным слепком) соответствующего участка гена белкового эпитопа. Во-первых, из-за вырожденности генетического кода (одной аминокислоте, как известно, соответствует несколько кодонов), во-вторых, из-за присутствия нестандартных нуклеотидов внутри антикодонов митохондриальных тРНК (например, псевдоуридина), в-третьих, из-за неизбежных ошибок. И все-таки это будет информация, которой может найтись применение.

Прежде чем перейти к этому вопросу, отметим еще одну возможность. В



2

*Вот как могла бы происходить переменная позитивная обратная трансляция — синтез нуклеинового эквивалента — с участием небольшого фрагмента белка (эпитопа) в качестве матрицы. Этот фрагмент (вероятно, иммобилизованный на мембране или в ферментном комплексе ретрансломы) расщепляется на отдельные аминокислоты, к которым присоединяются тРНК. Они ориентированы так, что нуклеотиды антикодоновых участков выстраиваются в линию, образуя мини-матрицу. (Возможно, антикодоны выщепляются и ковалентно связываются между собой.)*

растительных клетках, кроме митохондрий, есть и другие органеллы — хлоропласты. Как и митохондрии, они имеют собственный геном, свои транспортные и рибосомные РНК. Однако если число тРНК в митохондриях минимизировано и часть их у некоторых видов, например у трипаносом, вообще «импортируется» из цитоплазмы, то хлоропласты располагают полным набором собственных тРНК. Кроме того, большинство генов, кодируемых митохондриальным геномом, имеют своих двойников в ядре, а почти треть специфических белков хлоропластов в ядерном геноме не закодированы. Принято считать, что в процессе эволюции нуклеиновая информация движется от хлоропластной к ядерной и митохондриальной ДНК — это показало сравнение гомологичных генов всех трех органелл высших растений. Подобные работы делали в разных странах мира (в частности, у нас этим вопросом владеет доктор биологических наук Н.П.Юрина и М.Г.Одинцова из Института биохимии им. А.Н.Баха). Очевидно, такое перемещение происходит с помощью неких мобильных генетических элементов. Наконец, только хлоропласты отвечают за фотосинтез.

Здесь есть простор для спекуляций об участии в информационных процессах фотонного излучения, воспринимаемого хлоропластами, о той особой роли, которую они могли сыграть, например, в эволюции генетического кода, приведшей к появлению его современного варианта, универсального для всех живых организмов. Эта эволюция, как и сама универсальность кода, — отдельная и очень интересная тема. Но сейчас вернемся к нуклеиновым эквивалентам и их возможной судьбе в жизни клетки.

Специфический иммунитет, при всей его огромной значимости, — частный случай. А что происходит, если обратной трансляции подвергаются собственные белки клетки?

## О пользе разнообразия

Анализ различных видов редактирования РНК у живых организмов из самых разных таксономических групп, выполненный автором этой статьи и его коллегами (см., например, Дейчман А.М., Цой В.Ч., Барышников А.Ю. «Редактирование РНК. Гипотетические механизмы», М.: «Практическая медицина», 2005, www.medprint.ru), показал, что редактирование часто (возможно, всегда) бывает матрично-зависимым. Для редактирования необходима другая молекула РНК (как при уридиновых вставках или делециях в РНК гигантской митохондрии трипаносомы), или комплементарная часть

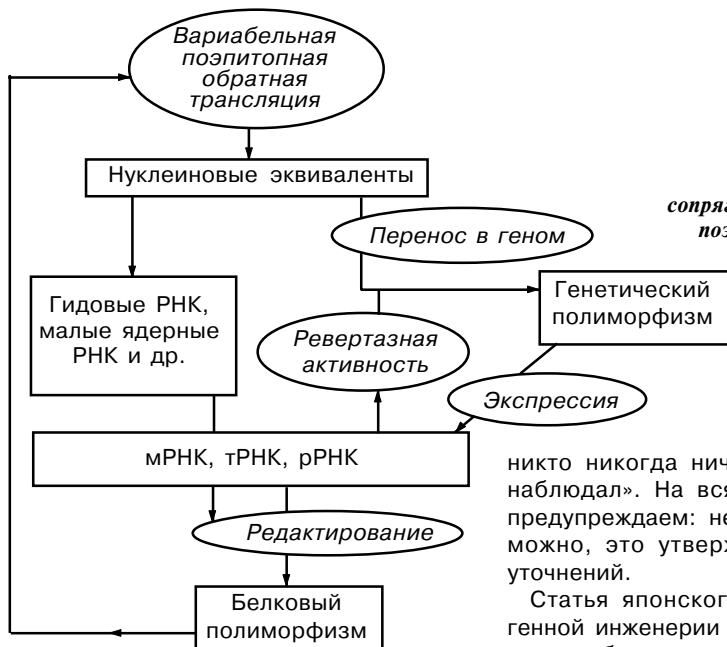
двунитевой РНК (например, у животных и человека при дезаминировании аденозина в инозин формируется интрон-экзонная шпилька). У трипаносом роль подобных матриц для редактирования выполняется так называемые гидовые РНК — молекулы загадочные, в частности, своей почти фантастической способностью к самовозобновлению востребованных видов их. Кстати, минимальный редактируемый участок у разных видов часто составляет отрезок РНК в 15–30 нуклеотидов — что сравнимо по величине с нуклеиновым эквивалентом. Такую же длину имеют срединные, т.е. информационные, участки гидовых РНК. Если в редактировании различных РНК принимают участие нуклеиновые эквиваленты, полученные в результате вариабельной обратной трансляции, то что это дает?

Известно, что редактированию подлежат все виды РНК: мРНК, тРНК, рРНК, менее известные малые ядерные и ядрышковые РНК (еще одна особая и загадочная категория молекул, которые способны играть роль направляющих, гидовых РНК, например, при ДНК-метилировании, обеспечивающем регуляцию и переключение генной активности), причем изменения в каждой из компонент могут вести и к модификации белка. Измененные белки, как и РНК, редактируемые и нередатируемые, конкурируют со стандартными, считанными с неизмененных матриц.

Но даже если отредактированный белок (или его мРНК) имеет явные преимущества, «исправленный» вариант не спешит проникнуть в геном, и клетка продолжает вносить исправления в мРНК, невзирая на все затраты и сложности. (Все равно что исправлять вручную новые и новые тиражи одной и той же книги, вместо того чтобы перенабрать заново нужное место.) Геном — структура консервативная. Однако рано или поздно при благоприятных условиях эволюция делает очередной шаг: исправленная версия, вероятно благодаря обратной транскрипции, проникает в геном, и тогда надобность в редактировании отпадает.

Таким путем в геном может попасть информация, полученная при вариабельной (не однозначной!) обратной трансляции эпитопов (не целых белков!). Учитывая широчайшую распространенность РНК-редактирования, возможно, этот путь не менее важен, чем прямой перенос нуклеинового эквивалента в геном.

Естественно, это ни в коем случае не означает посягательства на центральную догму молекулярной биологии. «Наследованием приобретенных признаков» такой перенос информа-



3  
 Вот как могла бы сопрягаться переменная поэпитопная обратная трансляция с другими клеточными механизмами переноса информации



ГИПОТЕЗЫ

ции вряд ли можно назвать — по тем же причинам, по каким мы не называем так сохраненную отбором мутацию любой другой природы. Варибельная обратная трансляция индивидуального эпитопа (с последующей передачей нуклеинового эквивалента в составе вектора в ДНК-содержащие клеточные органеллы) скорее могла бы играть роль некоего «генератора разумной изменчивости».

Изменчивость в природе не менее важна, чем наследственность. Генетическое разнообразие между отдельными особями двигает вперед эволюцию, а наличие разных вариантов генов и их продуктов у одной особи позволяет использовать метод проб и ошибок, не обязательно расплачиваясь за ошибку жизнью. В этом — одна из выгод диплоидного генома, характерного для высших организмов, у которых каждый ген представлен двумя копиями. В этом смысл амплификации, когда, к примеру, один и тот же ген повторен в геноме несколько раз (и между этими копиями постепенно начинают накапливаться различия). В этом смысл редактирования РНК. Здесь могла бы найти свое место и варибельная поэпитопная обратная трансляция, предложенная автором этой статьи (рис. 3).

## Никогда не говори «никогда»

Автор и редакция догадываются, что гипотеза, в которой одно из центральных мест занимает столь раздражающий предмет, как обратная трансляция (хотя бы и варибельная, и поэпитопная), вызовет множество критических отзывов. Мы подозреваем также, что половина этих отзывов будет содержать утверждения вроде: «Все это пустые фантазии, за полвека успешного развития молекулярной биологии

никто никогда ничего подобного не наблюдал». На всякий случай сразу предупреждаем: не торопитесь, возможно, это утверждение потребует уточнений.

Статья японского специалиста по генной инженерии Масаюки Нашимото, опубликованная в «Journal of theoretical biology» (2001, т.209, с.181–187), называется «Гипотеза РНК-белковой симметрии: экспериментальное подтверждение обратной трансляции примитивных белков». М.Нашимото предполагает, что на заре возникновения жизни, в хаосе метаболизма до или при появлении первичной клетки, белок и РНК могли быть равноправными носителями информации. Как косвенные доказательства он приводит любопытные факты, например структурное сходство между тРНК и фактором элонгации G (этот белок участвует в синтезе белковой цепочки при трансляции) у современных организмов. Может быть, этот молекулярный курьез остался нам на память о тех временах, когда самореплицирующимися были не только нуклеиновые кислоты, но и белки, а примитивная машина трансляции могла работать в обе стороны?

М.Нашимото отмечает в своей статье, что никто доподлинно не знает, как на Земле возникла генетическая информация (то есть нуклеотидные последовательности, кодирующие белки с определенными свойствами). По самым разным оценкам, естественный отбор среди молекул, способный привести к появлению подобной системы, отнял бы слишком много времени — возможно, больше, чем существуют подходящие условия на Земле. Но если на первых порах «генетическая информация» о белке могла быть заключена в самом белке, все сразу становится проще.

Модель обратной трансляции по М.Нашимото на первый взгляд кажется не лучше и не хуже других аналогичных моделей, отечественных и зарубежных. На матрице примитивного белка, от С-конца к N-концу, синтезируется фрагмент РНК - от 3' к 5'-концу РНК (трансляция действительно обрат-

ная — все наоборот по сравнению с современной ситуацией.) М.Нашимото предположил существование особых молекул-адапторов, которые назвал «отРНК» — РНК обратной трансляции (rtRNA, от reverse translation) — своего рода анти-тРНК. Они, во-первых, распознавали концевые аминокислоты в составе примитивного белка и отрывали их по одной. Таким образом, белковая матрица была «одноразовой» и уничтожалась при синтезе нуклеинового эквивалента, как и в гипотезе, предложенной в предыдущих главах. Во-вторых, отРНК присоединяли соответствующий триплет к растущей молекуле мРНК, ковалентно прикрепленной к белку. Кстати, автор упоминает о существовании подобных РНК-белковых «химер» у современных полиовирусов.

А дальше японский ученый перешел от слов к эксперименту: синтезировал отРНК и коротенькую молекулу — предшественник мРНК. Все, что происходило затем, было подтверждено строгими методами молекулярной биологии. Если вкратце — искусственная отРНК нековалентно взаимодействовала с аргинином и передавала аргининовый кодон AGG со своего 3'-конца на 5'-конец пре-мРНК, которая, соответственно, подрастала на три нуклеотида. Нравится это или нет идейным противникам М.Нашимото, но реакция пошла именно так, как была нарисована на бумаге.

Что сказать в заключение? Ни один разумный человек, предлагая гипотезу (тем более фрагмент или сильно упрощенный вариант ее), не будет выдавать ее за истину в последней инстанции. Но утверждать, что отношения между белками и нуклеиновыми кислотами нам до конца ясны, пожалуй, рано.

*Александр Маркусович Дейчман (deichman@mtu-net.ru, amdeich@rambler.ru) — сотрудник ГУ «Онкологический научный центр РАМН», НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей. Область научных интересов — физико-химические основы биологии развития.*

