

УДК 577.2+573..55

UDC 577.2+573..55

03.00.00 Биологические науки

Biology

**КОНЦЕПЦИЯ «МИР РНК»: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА****THE CONCEPT OF THE «RNA WORLD»: THEORY AND PRACTICE**

Плотников Владимир Константинович  
д.б.н., доцент  
[vkpbio21@mail.ru](mailto:vkpbio21@mail.ru)  
ID: 3971-2200

Plotnikov Vladimir Konstantinovich  
Dr.Sci.Biol., Associate Professor  
[vkpbio21@mail.ru](mailto:vkpbio21@mail.ru)  
ID: 3971-2200

Салфетников Анатолий Алексеевич  
д.с.-х.н., профессор  
[Salfetnikov39@mail.ru](mailto:Salfetnikov39@mail.ru)  
ID: 428377  
*Кубанский государственный аграрный университет,  
Краснодар, Россия*

Salfetnikov Anatoliy Alexeevich  
Dr.Sci.Agr., Professor  
[Salfetnikov39@mail.ru](mailto:Salfetnikov39@mail.ru)  
ID: 428377  
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia*

В обзоре рассматривается развитие исследований необычных свойств РНК, интенсивно начавшиеся в самом начале 80-ых годов XX века, что привело к формированию концепции «Мир РНК». В теоретическом отношении в контексте мировой научной концепции о рибозимах это способствует возможности в корне пересмотреть теорию происхождения жизни на Земле. Основой современной жизни является наследуемый биосинтез белков, который определяет все признаки ныне существующих организмов. В качестве центрального звена процесса биосинтеза белков выступает совокупность взаимодействующих друг с другом молекул РНК различных типов. Можно сказать, что совокупность молекул РНК - мир РНК - по-прежнему составляет ядро жизни. Современная жизнь - это РНК, передавшая часть своих генетических функций рождённому ей же полимеру - ДНК и синтезирующая белки для всеобъемлющего эффективного функционирования содержащих её компонентов - клеток и многоклеточных организмов. В практическом плане необычные древние особенности РНК нашли в последнее время эффективные практические приложения. В частности, исследования магний-зависимого самораспада РНК в водных растворах позволяют создавать молекулярно-кинетические маркёры, позволяющих количественно оценивать эффект взаимодействия «генотип-среда» у растений и животных. Изучение системы РНК-интерференции и её применения находится на самой ранней стадии, но этому открытию суждено сыграть в постгеномную эру ключевую роль

The review examines research unusual properties of RNA. RNA has the ability to act as both genes and enzymes (ribozymes). This property could offer a way around the «chicken-and-egg» problem: genes require enzymes; enzymes require genes. Furthermore, RNA can be transcribed into DNA, in reverse of the normal process of transcription. These facts are reasons to consider that the RNA world could be the original pathway to cells. The general notion of an «RNA World» is that, in the early development of life on the Earth, genetic continuity was assured by the replication of RNA and genetically encoded proteins were not involved as catalysts. There is now strong evidence indicating that an RNA World did indeed exist before DNA- and protein-based life. RNA has multiple functions. Among these, "messenger RNA" carries genetic information from DNA to protein formation. RNA is often a single-stranded spiral, but also exists in double-stranded form. In 1998, Craig Mello and Andrew Fire discovered through their studies of the roundworm *C. elegans* a phenomenon dubbed "RNA interference". In this phenomenon, double-stranded RNA blocks messenger RNA so that certain genetic information is not converted during protein formation. This "silences" these genes, i.e. renders them inactive. The phenomenon plays an important regulatory role within a genome. Recent years have been perhaps the most fruitful period yet in terms of research in the area of mRNA stability (Phenomena: Gene Silencing; RNA interference; Identity of mRNA decay *in vivo and in vitro*). The elaboration of new methods in biotechnology have been presented

Ключевые слова: РНК, РИБОЗИМЫ, РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ, РНК-МАРКЁРЫ

Keywords: RNA, RIBOZYMES, REGULATION OF GENE EXPRESSION, RNA-INTERFERENCE, RNA MARKERS

Doi: 10.21515/1990-4665-128-053

*«Бог создал мир так, что всё, что нужно, не очень сложно,  
а всё, что сложно, не очень нужно»  
Григорий Сковорода, украинский философ  
[26]*

*«Простота — это то, что труднее всего на свете;  
это крайний предел опытности и последнее усилие гения»  
Леонардо да Винчи*

## **Введение**

Молекулы нуклеиновых кислот ДНК и РНК хранят в себе генетическую информацию, необходимую для существования и размножения живой клетки. Белки же выступают в роли действующего начала: молекулы белков-ферментов катализируют тысячи химических реакций, протекающих в клетке. Ещё недавно такое «разделение труда» между информационными и действующими молекулами считалось одним из основополагающих принципов биохимии. Однако в последние десятилетия эта схема была пересмотрена в связи с открытием того, что РНК может выступать в качестве фермента.

Вся активная жизнь построена на обмене веществ - метаболизме, и все биохимические реакции метаболизма происходят с надлежащими для обеспечения жизни скоростями только благодаря высокоэффективным катализаторам, созданным эволюцией. На протяжении многих десятилетий биохимики были уверены, что биологический катализ всегда и всюду осуществляется белками (ферменты или энзимы). Но в 1982-1983 гг. было показано, что в природе имеются виды РНК, которые, подобно белкам, обладают высокоспецифической каталитической активностью. Такие РНК-катализаторы были названы *рибозимами*. Представлению об исключительности белков в катализе биохимических реакций пришёл конец. В настоящее время рибосому тоже принято рассматривать как рибозим. Все имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что синтез полипептидной цепи белка в рибосоме катализируется

рибосомной РНК, а не рибосомными белками. Идентифицирован каталитический участок большой рибосомной РНК, ответственный за катализ реакции транспептизации, посредством которой осуществляется наращивание полипептидной цепи белка в процессе трансляции [27]. Для проявления рибозимных свойств РНК необходимы катионы магния.

Один из основоположников молекулярной биологии Джеймс Уотсон в 1985 году побывал в Москве. В весьма обширном интервью Уотсона представителю журнала «Химия и жизнь» на вопрос о возможности больших обобщений и упрощений в молекулярно-биологических знаниях, подобно тому, как это периодически происходит в физике, когда в процессе накопления фактов и деталей вдруг наступает момент, когда они все охватываются единым и очень экономичным объяснением, он ответил: «Нет, у нас, я думаю, время простоты никогда не настанет. Мы всегда, рассуждая о гене, будем вынуждены говорить о считывании с него информации и о регуляции этого считывания, о воплощении этой информации в белки и о регуляции этого воплощения, и о многом-многом другом. Ведь даже простейшая форма жизни нуждается примерно в тысяче разных белков».

Но в дальнейшем течении интервью Дж. Уотсон озадаченно отмечает: «Я думаю, что самым важным из неожиданных событий последних лет было открытие «сплайсинга» РНК (сшивания РНК) без всяких ферментов. Это очень важно для проблемы происхождения жизни» [17].

Это было в самом начале экспериментального процесса в науке, который привёл к созданию концепции «мир РНК». Дж. Уотсон ещё не мог в полной мере представить те изменения, которые стремительно последуют в ближайшие годы в мировоззрении учёных и которые приведут к принципиально важному выводу о том, что большие обобщения и упрощения знаний в молекулярной биологии вполне

вероятны на основе исследования центрального звена живой материи – молекул РНК, представляющих собой удивительное вещество, поражающее разнообразием своих типов и функций, красотой и согласованностью процессов, в которых оно принимает участие.

### **Открытие рибозимов**

Молекулы РНК входят в состав некоторых ферментов (таких, как теломераза, позволяющая клеткам быстро размножаться без старения), но отдельные виды обладают собственной активностью. Так, они могут вносить разрывы в другие молекулы РНК или, напротив, «склеивать» между собой два РНК-фермента.

В связи с рибозимами особенно следует вспомнить о РНКазе *P. E. coli*, состоящей из небольшого полипептида и РНК длиной в 375 нуклеотидов. Именно РНК обеспечивает этому ферменту эндонуклеазную активность, необходимую для процессинга предшественников тРНК. Одной из задач было выяснение роли РНК, входящей в их состав.

Началась история исследований этого феномена в 70-х годах XX века, когда в клетках некоторых организмов были обнаружены эти необычные ферменты.

В конце 70-х годов американские биохимики Томас Чек и Сидни Альтман независимо друг от друга изучали структуру и функции таких ферментов.

Вначале, следуя общепринятому мнению, ученые полагали, что молекула РНК является в таких комплексах лишь вспомогательным элементом, отвечающим, может быть, за построение правильной структуры фермента или за правильную ориентацию при взаимодействии фермента и субстрата (то есть той молекулы, которая и подвергается изменению), а саму катализируемую реакцию выполняет белок.

Для того чтобы прояснить ситуацию, исследователи отделили белковую и РНК составляющие друг от друга и исследовали их

способности к катализу. К своему огромному удивлению, они заметили, что даже после удаления из фермента белка, оставшаяся РНК была способна катализировать свою специфическую реакцию. Такое открытие означало бы переворот в молекулярной биологии: ведь раньше считалось, что к катализу способны лишь белки, но никак не нуклеиновые кислоты.

Самым убедительным доказательством способности РНК к катализу стала демонстрация того, что даже искусственно синтезированная РНК, входящая в состав изучаемых ферментов, может самостоятельно катализировать реакцию.

Эндорибонуклеазная активность самой РНК (вне связи с белком) была впервые обнаружена Т. Чеком в 1980 г. у интрона групп I предшественника рибосомной РНК *Tetrahymena thermophila*, осуществляющего аутокаталитическую реакцию сплайсинга (аутосплайсинга), в результате которой происходит вырезание из молекулы предшественника рРНК последовательности этого интрона и образование зрелой молекулы рРНК [31, 35]. С тех пор аутокаталитические реакции расщепления были выявлены у многих молекул РНК.

Молекулы РНК, способные к катализу, были названы рибозимами (по аналогии с ферментами, то есть белковыми ферментами). За их открытие в 1989 году Чек и Альтман были удостоены Нобелевской премии по химии [34, 35].

Вместе с тем показано, однако, что рибозимы современных организмов обладают весьма ограниченным диапазоном каталитических активностей, осуществляющих преимущественно реакции гидролиза и переноса фосфодиэфирных связей в самой РНК, а также в ДНК. Представления о возможностях РНК катализа значительно расширились с развитием методов искусственного отбора и амплификации молекул из

синтезированных хаотических последовательностей РНК. Оказалось, что рибозимы, полученные в результате молекулярной селекции, катализируют образование полимерных цепей, комплементарных материнским молекулам РНК.

Они также способны катализировать реакции, имеющие прямое отношение к биосинтезу белка, например, перенос аминокислотных и пептидных радикалов и образование пептидной связи. С этим хорошо согласуется тот факт, что рибосомная 23S РНК выполняет каталитическую функцию в биосинтезе белка и нельзя исключить, что именно полинуклеотидный катализатор обеспечивает пептидилтрансферазную активность современной рибосомы. Эти результаты дают основание полагать, что каталитические активности, присущие полирибонуклеотидным молекулам, могли обеспечить развитие процессов репликации и трансляции в мире РНК [4, 7].

После открытия Т. Чеком с соавторами в 1981–1982 гг. аутосплайсинга (самосшивание) рибосомной РНК у *Tetrahymena thermophila* [31, 35] стало ясно, что сами молекулы РНК могут обладать каталитическими свойствами, вполне сопоставимыми со свойствами ферментов-протеинов. Именно открытие рибозимов (РНК-ферментов) привело к созданию концепции «мира РНК» - мира, который, вероятно, возник и существовал задолго до оформления ныне существующего «ДНК-белкового мира». Вскоре после открытия рибозимов в одной из работ родоначальник и классик молекулярной биологии Ф. Крик писал: «Эти эксперименты (по каталитической РНК) поддерживают гипотезу, что биохимия РНК предшествовала традиционной биохимии, основанной на нуклеиновых кислотах и белках».

"РНКовый мир" - книга под таким названием впервые вышла в 1993 году в издательстве Колд-Спринг-Харбора (США). Эта книга в последствие неоднократно переиздавалась.

Авторы, среди которых был и Чек, обсуждали на страницах объёмистого тома эволюционные аспекты зарождения катализа, специфичность и функции макромолекул. В начале 1990-ых годов ещё никто не мог предполагать взрыва интереса к РНК, и книга пользовалась интересом главным образом среди теоретиков. Теперь же совсем другое дело. Можно только поразиться провидческой способности редакторов первого издания, которые предпослали книге подзаголовок: "Природа современной РНК предполагает её пребиотичность" [16].

### **Новый взгляд на происхождение жизни на планете Земля**

Проблема происхождения жизни приобрела неодолимое очарование для всего человечества. Она не только привлекает к себе пристальное внимание учёных разных стран и специальностей, но интересуется вообще всех людей мира.

В конце 60-ых годов XX века известный английский учёный Джон Бернал в своей монографии «Возникновение жизни» (1967) писал: «Гипотеза Уотсона и Крика, предложенная ими в 1953 году, произвела полный переворот в биологии, да и, можно сказать, в науке вообще. Возможность приложения этой гипотезы к проблеме возникновения жизни очевидна, хотя и не осознаётся ещё должным образом даже её авторами....

Успехи, достигнутые молекулярной биологией, заставили нас пересмотреть многое из того, что прежде считалось очевидным...

Лишь после работ Уотсона, Крика и Ниренберга, раскрывших всю сложность процесса белкового синтеза, нам стало ясно, что здесь мы имеем дело с тончайшим механизмом воспроизведения – воспроизведения не столько самих организмов, сколько составляющих его молекул» [3].

Однако до 80-ых годов XX века, ввиду отсутствия экспериментально мотивированного ответа на вопрос о том, как сформировались в эволюции

системы декодирования генетической информации нуклеиновых кислот в структурные параметры белков, проблема возникновения организмов, одновременно обладавших каталитическим и генетическим аппаратом, казалось неразрешимой. Возможность решения этой проблемы открывалась, если предположить, что на начальных этапах эволюции обе функции могли быть объединены, в каком-либо одном классе биополимеров. Следует сказать, что, несмотря на экспериментальные свидетельства абиотической конденсации аминокислот в каталитически активные полимеры, неспособность полипептидов (в отличие от полинуклеотидов) реплицироваться с образованием комплементарных последовательностей не позволяла рассматривать белки в качестве хранителя и переносчика генетической информации.

Сценарий развития жизни преобразовался. Вначале, по новой гипотезе, в условиях молодой Земли спонтанно появились короткие цепочки молекул РНК. Некоторые из них, опять же спонтанно, приобретали способность к катализу реакции собственного воспроизведения (репликации). Из-за ошибок при репликации некоторые из дочерних молекул отличались от материнских и обладали новыми свойствами, например, могли катализировать другие реакции.

Еще одно важнейшее свидетельство того, что "вначале была РНК", принесли исследования рибосом. Рибосомы - структуры в цитоплазме клетки, состоящие из РНК и белков и отвечающие за синтез клеточных протеинов. В результате их изучения было выявлено, что у всех организмов именно РНК, находящаяся в каталитическом центре рибосом, отвечает за главный этап в сборке белков - соединение аминокислот между собой. Открытие этого факта еще более упрочило позиции сторонников РНК-мира. Действительно, если спроецировать современную картину жизни на ее возможное начало, разумно предположить, что рибосомы - структуры, специально существующие в клетке, чтобы "расшифровывать"

код нуклеиновых кислот и производить белок, - появились когда-то как комплексы РНК, способные к соединению аминокислот в одну цепочку. Так на основе мира РНК мог появиться мир белков.

Таким образом, имеется много достаточно веских теоретических доводов, чтобы считать молекулу РНК основоположницей жизни на Земле. В 1989 году нобелевский лауреат по химии Уолтер Гилберт, придумавший на основании идеи российских академиков Е.Д. Свердлова и А.Д. Мирзабекова, один из первых методов секвенирования ДНК, ввел в оборот выражение "мир РНК", имея в виду полноценный, самостоятельный и способный к эволюции мир доклеточной жизни.

Эти результаты не замедлили сказаться на теории происхождения жизни: "фаворитом" стала молекула РНК. В самом деле, была обнаружена молекула, способная нести генетическую информацию и вдобавок к этому катализировать химические реакции! Более подходящего кандидата для зарождения доклеточной жизни трудно было представить [4].

Плодотворной оказалась идея, высказанная К.Р. Вузом и несколько позже Л. Оргелем и окончательно сформулированная В. Гилбертом уже в 80-е годы. Согласно этой идее наличие каталитической функции у полинуклеотидов могло привести к формированию своеобразного «мира РНК» как основы эволюции первичной биосферы. Представления о существовании мира РНК исходят из предположения, что именно полинуклеотиды составляют химическую основу древнейших организмов, т.е. молекулы РНК функционировали как генетический материал и одновременно выполняли каталитические функции в присутствии генетически упорядоченных белков [30].

При наличии активированных аминокислот синтез пептидов не представляется трудной задачей. Активированные аминокислоты конденсируются даже в водных растворах с образованием коротких

пептидов, а цепи длиной до 50 аминокислот образуются на минеральных поверхностях. Абстрактная схема биосинтеза белка в примитивных системах с участием каталитических РНК представлялась следующим образом. Примитивные РНК, аминоацилирующие сами себя активированными аминокислотами по аутокаталитическому механизму, могут выступать донорами и акцепторами аминокислот в реакциях переноса ацильных групп, катализируемых рибозимами [16].

Для признания РНК в качестве молекул, осуществляющих в примитивных системах синтез белков, показана возможность выполнения ими следующих функций: узнавание аминокислот, аминоацилирование тРНК, перенос ацильных групп, активация аминокислот и синтез пептидов.

Рибозимы способны катализировать и некоторые другие химические реакции, характерные для обмена веществ. Сегодня развиваются представления о том, что каталитический потенциал примитивных РНК мог быть существенно расширен за счет присоединения к их молекулам коферментных групп [7].

В Институте белка РАН А.Б. Четвериним с сотрудниками экспериментально в 90-е годы XX века была показана способность молекул РНК формировать *молекулярные колонии* на гелях или других твёрдых средах, если на этих средах им были предоставлены условия для репликации (все четыре рибонуклеотидтрифосфата, катионы магния ( $Mg^{++}$ ) и фермент РНК-зависимая РНК-полимераза). Дальнейшие исследования этой же группы исследователей показали, что молекулы РНК при столкновении в водной среде могут спонтанно обмениваться частями, то есть, обладают способностью к неэнзиматической рекомбинации. Возможность легкого распространения молекул РНК через среду, в том числе атмосферную, также было продемонстрировано в прямых экспериментах [32, 36, 37].

*В теоретическом отношении* это открытие в контексте мировой научной концепции о рибозимах ("РНК-мир") способствует возможности в корне пересмотреть теорию происхождения жизни на Земле. Смешанные колонии РНК на твёрдых или полутвёрдых носителях могли быть первыми эволюционирующими бесклеточными ансамблями, где одни молекулы выполняли генетические функции (репликацию молекул РНК всего ансамбля), а другие формировали необходимые для успешного существования структуры (например, такие, которые адсорбировали нужные вещества из окружающей среды) или были рибозимами, ответственными за синтез и подготовку субстратов для синтеза РНК. Эта коммунальная форма существования мира РНК должна была очень быстро эволюционировать. В ходе этой молекулярной эволюции первую функцию РНК передала ДНК, а вторую - белкам. Что же стало с РНК после распада коммуны?

Хотя коммуна распалась, мир РНК сохранился в каждой клетке каждого живого организма. Основой современной жизни является наследуемый биосинтез белков, который определяет все признаки ныне существующих организмов. В качестве центрального звена этого процесса биосинтеза белков выступает совокупность взаимодействующих друг с другом молекул РНК различных типов, прежде всего рибосомной РНК, формирующей аппарат белкового синтеза, тРНК, доставляющей в рибосому активированные аминокислоты для построения полипептидных цепей белков, и мРНК, несущей в своей нуклеотидной последовательности программу для синтеза белка. Кроме этих трёх основных представителей внутриклеточного мира РНК, обнаружен целый ряд некодирующих РНК (нкРНК).

Оказалось, что нкРНК выполняют множество функций с использованием не известных ранее механизмов: нкРНК участвуют в регуляции транскрипции генов, сплайсинге и регуляции деградации РНК.

Они вовлечены в трансляцию и её регуляцию, в процессинг и модификацию рибосомной РНК, в защиту от вирусных инфекций и мутагенной активности мобильных генетических элементов, а также в ряд других процессов. РНК явно потеснили белки на пьедестале главных молекул, обеспечивающих жизнедеятельность клеток [16, 25].

Все рассмотренные аргументы подчёркивают важную, если не исключительную, роль РНК в происхождении жизни на земле.

Однако, несмотря на высокую популярность идеи РНК-мира, сторонники ДНК-овой и белковой теории не сдают свои позиции. Как оказалось ДНК может служить даже лучшим ферментом, чем РНК. При этом молекулы ДНК гораздо более устойчивы, чем молекулы РНК, что дает ДНК немалое преимущество. Исследования продолжаются.

### **Мир РНК – новые практические перспективы**

Можно сказать, что совокупность молекул РНК - мир РНК - по-прежнему составляет ядро жизни. Современная жизнь - это РНК, передавшая часть своих генетических функций рождённому ею же полимеру - ДНК и синтезирующая белки для всеобъемлющего эффективного функционирования содержащих её компонентов - клеток и многоклеточных организмов [27-29]. Необычные древние особенности РНК нашли в последнее время эффективные практические приложения.

### ***РНК-маркёры на основе нанокolonий***

*С практической стороны*, описанные выше нанокolonии РНК в настоящее время составляют один из классов РНК-маркёров. Так как практически каждая нанокolonия происходит из одной матричной молекулы, с помощью нанокolonий можно обнаружить и идентифицировать одиночные молекулы ДНК и РНК, в том числе - с диагностическими целями. В настоящее время нанокolonии применяются в нашей стране и за рубежом для различных научных и прикладных задач. Важнейшим

направлением исследований является разработка ранней диагностики онкологических заболеваний.

В России от разных видов рака умирает около 300 000 человек в год, что представляет большую демографическую, экономическую социальную проблему. Лечение осложняется тем, что у большинства больных болезнь диагностируется уже на поздних стадиях. С развитием экономики проблема может только усугубляться, так как частота онкологических заболеваний растёт по мере ухудшения экологической обстановки и увеличения продолжительности жизни населения. Эффективность лечения рака зависит от своевременности диагностики. Однако до сих пор проблема ранней диагностики рака не решена.

Нанокolonии РНК позволяют создать технологию молекулярной диагностики рака на стадии, когда его ещё невозможно обнаружить существующими методами. Диагностировать болезнь предполагается путём обнаружения в клинических образцах (например, в крови, в моче или в мокроте) молекул определённых индикаторных ("маркерных") РНК, которые присутствуют во всех раковых клетках независимо от вида рака. Примером такого универсального маркера является мРНК белковой субъединицы теломеразы - фермента, отвечающего за синтез концевых участков хромосом (теломер). Эта мРНК присутствует и в нормальных стволовых клетках, которые, подобно раковым клеткам, способны к неограниченному делению. Однако, в отличие от раковых клеток, стволовые клетки находятся в своих нишах и не распространяются по организму. Поэтому присутствие теломеразной мРНК там, где стволовых клеток быть не должно (например, в плазме или в клетках крови), может служить указанием на наличие злокачественного процесса. Существуют также РНК, которые могут служить групповыми маркерами всех видов рака кишечника, или всех видов рака молочной железы, или всех видов рака печени. Попытки использовать РНК-маркеры для молекулярной

диагностики рака были и раньше, но из-за ограниченной чувствительности и недостаточной специфичности стандартной ПЦР (полимеразной цепной реакции) они закончились неудачей.

Следует отметить исключительно высокий потенциал нанокolonий для диагностики любых заболеваний, для которых существуют РНК- или ДНК-маркёры, в т.ч. инфекционных и генетических, а также мониторинга окружающей среды, решения задач судебной медицины, обнаружения следовых количеств генетически модифицированных организмов. Более того, нанокolonии могут быть использованы для детекции молекул, отличных от РНК или ДНК. Например, молекула белка (в том числе белка-маркёра рака) может быть обнаружена путём размножения суррогатной ДНК-мишени, образованной лигированием фрагментов ДНК, способных одновременно связываться с данной молекулой белка посредством специфических лигандов (например, антител). Подобным же образом с помощью нанокolonий можно обнаружить одиночные молекулы любого вещества (например, наркотика или допинга), достаточно сложные для формирования на своей поверхности, по крайней мере, двух участков специфического связывания лигандов [16].

### ***В помощь антибиотикам***

Важнейшей проблемой современности является быстрая эволюция бактерий в направлении приобретения устойчивости к антибиотикам, приводящая к возрождению многих заболеваний человека.

Профессор Йельского университета (США) Сидни Альтман, продолжая исследования в области каталитической способности РНК, стал разрабатывать способы борьбы с инфекционными заболеваниями (антибактериальная и антималярийная терапия), используя каталитические способности конкретного РНК-фермента – рибонуклеазы *P*. Конечная цель – создать препарат, который мог бы быть альтернативой в случае

устойчивости инфекции к антибиотикам. На конкретных объектах исследований разрабатываются фундаментальные основы подходов, которые могли бы быть общими для лечения многих инфекционных заболеваний. В перспективе синтезировать определённые соединения, которые могут быть легко модифицированы для борьбы, как с бактериями, так и с малярией. Это направление исследований представляет перспективную альтернативу применению в медицине антибиотиков, возможности которых стремительно тают. Сидни Альтман разрабатывает это важнейшее направление, в частности, совместно с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск) [6].

***Как зародились знания, составляющие основу практического применения теорий и методов молекулярной биологии РНК***

Лауреат Нобелевской премии за открытие рибозимных свойств РНК Сидни Альтман (Олтмен, 1939 г. р.) всегда был связан с Россией: его отец Виктор Альтман эмигрировал из СССР в 1934 году. Заняться молекулярной биологией начинающему учёному Альтману посоветовал русский физик Георгий Гамов.

В 1954 году, через год после открытия Джеймсом Уотсоном и Френсисом Криком двуспиральной структуры ДНК, в США Георгий Гамов (самый молодой член-корреспондент АН СССР, советский учёный-физик, покинувший СССР в 1933 году) неожиданно внёс существенный вклад в становление молекулярной биологии, впервые поставив задачу генетического кода. Он понял, что структуры белков, состоящих из 20 основных (природных) аминокислот – должна быть зашифрована в последовательности из четырёх возможных нуклеотидов, входящих в состав молекулы ДНК.

Исходя из простых арифметических соображений, Гамов показал, что при сочетании 4-ёх нуклеотидов тройками получается 64 различные

комбинации, чего вполне достаточно для записи наследственной информации. Таким образом, он был первым, кто предложил кодирование аминокислотных остатков триплетами нуклеотидов [17].

Практически генетический код позволил расшифровать метод бесклеточной системы синтеза белка (*in vitro*). Первые результаты в этом направлении были получены в 1961 году, когда М. Ниренберг и Х. Матеи синтезировали упрощённую форму мРНК, состоящую из одинаковых нуклеотидов и обнаружили, что в её присутствии происходит образование длинной цепи белковоподобной молекулы, состоящей из аминокислот одного-единственного вида. Искусственная мРНК представляла собой полинуклеотид поли-У, в котором все нуклеотиды содержали только одно основание – урацил. Когда поли-У добавляли к экстракту из клеток бактерии *E. coli* (кишечная палочка) наряду с аминокислотами, а также соединения, способными служить источниками энергии, начинался синтез полипептидной цепи, построенной только из остатков аминокислоты фенилаланин. Так было обнаружено, что кодон УУУ соответствует фенилаланину.

Этот первый успех указал путь, следуя которому в скором времени удалось установить кодоны и для ряда других аминокислот; требовалось только перепробовать различные формы синтетических мРНК. В ближайшее время были открыты тРНК и установлено, что синтез белка в клетке начинается с формилметионина, открыты были иницирующие кодоны АУГ и ГУГ. Тогда возник вопрос, каким образом некоторые синтетические мРНК, например поли-У, которые, конечно, не содержат таких кодонов, ухитряются как-то заставлять рибосомы синтезировать полипептиды?

Вероятно, это происходит по ошибке – из-за того, что рибосомы ведут себя «не по инструкции». (Следовательно – ирония судьбы! – генетический код был расшифрован именно благодаря тому, что

искусственные системы способны иногда так удачно ошибаться!). Каковы же те обстоятельства, которые приводят к тому, что эти системы совершают «нужные» ошибки?

Один из факторов был вскоре найден. Им оказалась высокая концентрация магния в бесклеточных системах. При высоком содержании магния способность строить полипептиды приобретают многие синтетические мРНК; при более низких концентрациях, синтез могут вести только те РНК, в которых присутствуют кодоны АУГ и ГУГ. Каким образом магний инициирует синтез? На этот вопрос нет однозначного ответа [25].

***О различии молекулярных механизмов формирования морозоустойчивости озимой мягкой пшеницы и озимого ячменя***

Итак, концентрация магния. Установлено, чем больше содержится магния в рРНК, тем активнее синтезируют белок (полифенилаланин) рибосомы зародышей пшеницы в бесклеточной системе синтеза белка (*in vitro*) на искусственной матрице (поли-У) [42]. Вполне возможно, что концентрация катионов магния в клетке определяет интенсивность синтеза «ошибочных» полипептидов, предположительно расширяющих адаптационные свойства организмов [19, 20, 21, 25].

Морозоустойчивость озимой мягкой пшеницы прямо пропорциональна периоду полужизни мРНК, но обратно пропорциональна периоду полужизни рРНК и содержанию катионов  $Mg^{++}$  в РНК [16]. Вероятно, этим можно объяснить факт сортоспецифического усиления *in vitro* трансляционной активности полисом из проростков пшеницы и ячменя под влиянием закалывающей температуры [16, 25], тогда как в этих условиях длина поли-А-хвоста мРНК (энхансера трансляции) у пшеницы увеличивалась, а у ячменя сокращалась [2, 16]. Но ячмень содержит гораздо больше катионов магния по сравнению с пшеницей [12], что,

возможно, и определяло увеличение трансляционной активности рибосом ячменя.

Следовательно, увеличение трансляционной активности полирибосом может происходить как за счёт увеличения длины поли-А-хвоста мРНК как энхансера трансляции (пшеница), так и за счёт увеличения содержания катионов магния в рРНК (ячмень). Можно полагать, что озимый ячмень формирует морозоустойчивость на основе более древнего молекулярного механизма – адаптационного усиление трансляционной активности за счет вариации в содержании магния в рРНК [11, 13, 22].

Но озимая мягкая пшеница реагирует на закаливающие температуры сортоспецифическим усилением полиаденилирования мРНК [2, 16, 23]. Этот молекулярный механизм, вероятно, более поздний и является более прогрессивным по сравнению с вариациями содержания магния в рРНК. Отсюда, возможно, и более высокая морозоустойчивость озимой мягкой пшеницы по сравнению с озимым ячменём.

Следовательно, изменение концентрации катионов магния в клетке противоположно действует на стабильность мРНК и рРНК. Увеличение концентрации магния приводит к стабилизации рРНК и дестабилизации мРНК.

Таким образом, есть основания полагать, что повышение морозостойкости сорта озимой мягкой пшеницы сопровождается стабилизацией мРНК и дестабилизацией рРНК. Предполагается, что стабилизация рРНК определяется укреплением молекулы за счёт катионов магния, в тоже время весьма вероятно, что катионы магния стимулируют укорочение терминальной поли-А-последовательности, определяющей стабильность и трансляционную активность мРНК, через усиление прочности определённых структур мРНК, определяющих скорость её деаденилирования. Такой структурой может быть шпилька в 3'-

нетранслируемой области мРНК, с которой взаимодействуют белки, деаденилирующие мРНК [38].

Эта принципиально важная гипотеза требует детальной экспериментальной проверки.

***Об особенностях молекулярной биологии  
озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1***

**«Генотип должен превалировать над средой».  
Н.И. Вавилов**

Одним из часто встречающихся, довольно досадным моментом при работе с РНК является их деградация в процессе хранения или манипулирования, даже в случае хорошо очищенных препаратов. Обычно это связывают с наличием РНКаз, занесенных с посудой и реактивами или попавших в препараты РНК в процессе выделения. Однако было показано, что применение мощного ингибитора РНКаз – диэтилпирокарбоната во время выделения РНК с последующей усиленной депротенинизацией полученных препаратов и использование растворов, реактивов и посуды, обработанной диэтилпирокарбонатом и протеиназой К, не приводит к полному предотвращению деградации РНК. Известно, что если все работы проводить с очищенным препаратом РНК при температуре 0-4°C, то указанной деградации не наблюдается. Следовательно, существует определенный оптимум условий для проявления данной РНКазной активности: РНК из животных клеток наибольшей деградации подвергаются при рН 8,5 в присутствии двухвалентных катионов:  $\text{Ca}^{++}$ ;  $\text{Mg}^{++}$  или  $\text{Mn}^{++}$ . [15].

В 90-е годы XX века было показано тождество закономерностей Mg-зависимого распада мРНК в живой клетке (*in vivo*) и в водных растворах (*in vitro*) [15, 16, 41]. На протяжении последних сорока лет многие исследователи отмечали способность выделенной из клетки РНК разрушаться в присутствии катионов металлов [15]. Но от внимания

исследователей ускользал тот факт, что разрушение происходит по тем же законам, что и в живой клетке, отражая генетические особенности и физиологическое состояние организма. В фундаментальных науках всегда имел значение объект исследования. Удачность выбора объекта (или случай) определяет скорость и эффективность исследований, обширность и глубину полученной информации. Закономерности Mg-зависимого распада мРНК стали очевидными, когда объектами исследований оказались проростки двух сортов озимой мягкой пшеницы, контрастных по морозостойкости (высокоморозостойкий сорт Краснодарская 39 и среднеморозостойкий - Безостая 1).

Как показали исследования, норма реакции на закаливающие температуры у сорта Безостая 1 на молекулярном уровне относительно узка по всем компонентам белоксинтезирующей системы - от амплитуды изменения трансляционной активности полирибосом, длины поли-(А)-хвоста мРНК, стабильности мРНК до амплитуды колебаний электрофоретического спектра рРНК [16, 23]. Это происходит на фоне относительно высокого содержания катионов магния в зерне Безостой 1 и соответствует реальному районированию сортов: высоко морозоустойчивый сорт Краснодарская 39 (относительно низкое содержание магния в зерне) способен давать урожай вплоть до Самарской области, в то время как средне морозоустойчивый сорт Безостая 1 давал и даёт великолепные урожаи, но в относительно узкой южной полосе.

Особенности сорта Безостая 1 образно можно представить как глухонемого человека в группе пахарей. Товарищи отвлекаются на различные развлекательные и опасные аспекты жизни, а глухонемой пашет и пашет. Поэтому в конечном итоге выясняется, что он вспахал больше всех. Но это только при условии относительно благоприятных обстоятельств.

Этот вывод позволяет объективно понять природу феномена сорта Безостая 1 и, отталкиваясь от этих знаний, заложить основу понимания сакральных молекулярно-биологических процессов, лежащих в основе селекции и определяющих её будущие успехи. Таким образом, Безостая 1 фактом своего существования великолепно подтверждает вывод, сделанный Н.И. Вавиловым в 30-ых годах XX века: «Генотип должен превалировать над средой».

Фундаментальные исследования молекулярной биологии РНК сорта Безостая 1 привели к прикладным исследованиям, способствовали формированию элементов молекулярных основ теории морозоустойчивости и возможности разработки простых методов оценки морозоустойчивости сортов озимой мягкой пшеницы по содержанию нуклеиновых кислот и катионов магния в зрелом зерне [9, 10, 20, 21].

В фундаментальном плане, эти исследования привели к открытию закономерностей  $Mg^{++}$ -зависимого распада мРНК и рРНК *in vitro* (система *оттпр*) [15, 16, 23, 41]. Это событие в методологии способствовало созданию фундамента для развития новой главы в молекулярной физиологии сельскохозяйственных растений, так как новые шаги в методологии, как правило, ведут за собой длинную цепь новых фактов, которые дополняют и изменяют научное мировоззрение, предоставляют принципиально новые возможности для практики.

Молекулярные маркеры (ДНК-овые, белковые) являются чрезвычайно эффективным инструментом генетических исследований растений. Однако их статичность не позволяет количественно оценить важнейшие свойства культурных злаков (например, стрессоустойчивость и фотопериодизм). Как познание электричества и развитие электротехники стало возможным только с появлением электродинамики на основе электростатики, так и статичные молекулярные маркеры должны быть существенно дополнены молекулярно-кинетическими маркерами,

способными количественно оценить экспрессию основных регуляторных генов или дать интегральную характеристику всех экспрессирующихся генов определенного генотипа в конкретных условиях роста.

Весьма существенным шагом в познании природы самораспада мРНК стало установление факта вариабельности содержания катионов магния ( $Mg^{++}$ ) в РНК (рибосомной и матричной) в зависимости от генотипа (сорта) и условий окружающей среды. С практической точки зрения очень важным представляется использование этого показателя (количество катионов магния) для долгоживущей высокополимерной РНК зрелого зерна пшеницы в целях оценки степени морозостойкости сорта: чем выше содержание катионов магния, тем ниже морозостойкость сорта [11, 12, 21].

### ***РНК-интерференция***

В настоящее время многие проблемы практики решаются путём активного вмешательства в метаболизм живых организмов при помощи методов генной инженерии на основе явления РНК-интерференции, регулирующего экспрессию генов через усиление распада мРНК определённых генов [8, 16, 17, 18, 25].

Сейчас очевидно, что перестало быть проблемой установление первичной структуры гена, но всё ещё остаётся проблема, как узнать его функцию и как ею управлять. Первое десятилетие XXI века ознаменовано стремительным прорывом в важнейшую биологическую проблему - регуляцию экспрессии генов с помощью явления РНК-интерференции и основанных на этом явлении методов "нокаутов" - техники, позволяющей выводить из строя экспрессию заранее выбранного гена, а затем смотреть, как это скажется на организме.

В 1998 году была обнаружена способность молекул двухцепочечных РНК (дцРНК), инъецированных в организм нематоды *Caenorhabditis*

*elegans*, эффективно подавлять экспрессию гомологичных по нуклеотидной последовательности генов (*явление РНК-интерференции*).

Впоследствии те же эффекты дцРНК были отмечены у других животных, а также у растений, грибов и простейших.

В 2006 году Нобелевская премия в области биологии (по физиологии и медицине) присуждена американским учёным Эндрю Файру и Крейгу Меллоу за открытие явления *РНК - интерференции*, представляющей собой молекулярный механизм, контролирующий в живой клетке поток генетической информации через закономерный распад специфических мРНК и предоставляющий принципиально новые возможности регуляции экспрессии генов в практических целях [39-40].

Суть явления, механизм которого пока изучен очень слабо, состоит в том, что короткие (20-30 нуклеотидов) двуспиральные РНК определённой структуры вызывают распад мРНК мишени - гена, экспрессию которого необходимо подавить. Это широко распространённое в природе явление (по-видимому, от бактерий до млекопитающих) может эффективно использоваться для идентификации новых генов, выяснения их функциональной роли и управления их экспрессией *in vitro* и *in vivo*[8, 16, 25].

Исследования этого явления позволяют в настоящее время решать проблемы медицины (новый класс лекарств) и сельского хозяйства (новые пути создания зерна злаков с высокими питательными свойствами).

Работы по созданию высоколизиновых злаков на основе ряда мутаций, зерно которых отличалось повышенной питательной ценностью, потерпели неудачу. Это объясняется плеiotропным действием мутаций типа мутации регуляторного гена *opaque-2* в зерне кукурузы, когда дифференциальный распад мРНК под действием повышенной активности РНКаз приводит с одной стороны к положительным эффектам (повышенное содержание в зерне незаменимой аминокислоты – лизина), но

с другой стороны к отрицательным эффектам – нарушение синтеза крахмала, определяющего физические свойства зерна (прочность) и урожай [16, 25].

РНК-интерференция позволяет целенаправленно уничтожать мРНК, белки которых снижают содержание лизина в зерне (запасные белки, ферменты катаболизма аминокислот), не «задевая» при этом мРНК ферментов, ответственных за синтез крахмала.

Такой первый трансгенный сорт кукурузы LYD38 с повышенным содержанием лизина был выведен на рынок в 2005 году [33]. Однако негативное общественное мнение, озабоченность возможным вредным влиянием генно-модифицированных продуктов на здоровье человека сдерживает развитие этого направления выхода в практику.

К тому же оказалось, что РНК-препараты слишком токсичны. Даже длины в 20-30 нуклеотидов недостаточно для полной селективности по отношению к целевой РНК, и среди миллиардов пар нуклеотидов в геноме обязательно найдутся другие мишени, связывание с которыми вызывает неприятные побочные эффекты.

Так в медицине те немногие препараты на основе РНК-интерференции, что дошли до рынка, были с него отозваны. Возможно, в будущем проблемы с неспецифичным связыванием РНК и недостаточной адресной доставкой будут решены и мы увидим больше модифицированных растений и животных, а также специфических препаратов на основе РНК-интерференции.

Принципиально новые, удивительные факты были получены китайскими исследователями из Нанкинского университета, которые обследовали 50 добровольцев и обнаружили в их крови и тканях микроРНК (РНК-интерференции) растительного происхождения.

Это и само по себе стало изрядной неожиданностью, поскольку до сих пор считалось, что все растительные ДНК и РНК, попадающие в организм

человека с пищей, полностью разлагаются, разрушаются в процессе переваривания. Но еще большее удивление вызвал тот факт, что эти растительные микроРНК участвуют в регуляции метаболизма человека наравне с его собственными микроРНК. Это открытие заставляет совершенно по-новому взглянуть на роль питания в жизни человека: существует шесть классов питательных веществ - белки, жиры, углеводы, витамины, минеральные вещества и вода. Однако теперь выясняется, что еще и растительные микроРНК, судя по всему, оказывают на активность наших генов, а значит, и на наш обмен веществ, самое непосредственное воздействие. Это дает основание считать их седьмым классом питательных веществ.

В частности, было обнаружено у всех обследованных добровольцев в плазме крови и клетках печени микроРНК типа MIR168a. Весьма обильно эти молекулы присутствуют в рисе. Опыты на трансгенных мышах показали, что в организме человека MIR168a блокирует синтез чрезвычайно важного белка - так называемого клеточного рецептора липопротеинов низкой плотности. Этот белок самым непосредственным образом связан с транспортировкой холестерина и его расщеплением в печени. Таким образом, потребление риса в пищу не только обеспечивает организм человека пластическими веществами и энергией, но и регулирует активность одного из важных генов, влияя тем самым на обмен веществ и на здоровье человека. Ведь повышенный уровень содержания в крови липопротеинов низкой плотности увеличивает риск атеросклероза [43].

Как растительные микроРНК умудряются уцелеть в пищеварительном тракте человека и проникнуть оттуда в кровь, пока неясно. Возможно, что эти растительные микроРНК могут захватываться клетками эндотелия сосудов кишечной стенки. При этом мембраны эндотелиальных клеток формируют особые внеклеточные структуры, в которые, как в оболочку,

заключаются микроРНК. В таких миниатюрных пузырьках, называемых экзосомами, микроРНК поступают в кровоток.

Это открытие позволяет по-новому объяснить лечебные свойства лекарственных трав, широко применяемых в традиционной китайской медицине. Собственно, идея использовать микроРНК в качестве биологически активного компонента лекарств обсуждается в фармацевтике уже давно. Но до сих пор все эксперименты упирались в одну неразрешимую проблему: как доставить микроРНК точно и целенаправленно в нужное место в организме. Исследования китайских учёных показали, что природа уже давно предусмотрительно создала такие пути и что функция пищи, очевидно, не сводится к одному лишь обеспечению организма пластическими веществами и энергией.

### **Заключение**

Развитие исследований РНК, интенсивно начавшиеся в самом начале 80-ых годов XX века, привело к формированию концепции «Мир РНК». В теоретическом отношении в контексте мировой научной концепции о рибозимах это способствует возможности в корне пересмотреть теорию происхождения жизни на Земле. Основой современной жизни является наследуемый биосинтез белков, который определяет все признаки ныне существующих организмов. В качестве центрального звена этого процесса биосинтеза белков выступает совокупность взаимодействующих друг с другом молекул РНК различных типов. Можно сказать, что совокупность молекул РНК - мир РНК - по-прежнему составляет ядро жизни. Современная жизнь - это РНК, передавшая часть своих генетических функций рождённому ей же полимеру - ДНК и синтезирующая белки для всеобъемлющего эффективного функционирования содержащих её компонентов - клеток и многоклеточных организмов [27-29].

В практическом плане необычные древние особенности РНК нашли в последнее время эффективные практические приложения. Исследования

магний-зависимого самораспада РНК в водных растворах позволяют говорить о развитии молекулярно-кинетических маркёров, позволяющих количественно оценивать эффект взаимодействия «генотип-среда» у растений и животных. Изучение системы РНК-интерференции и её применения находится на самой ранней стадии, но этому открытию суждено сыграть в постгеномную эру такую же ключевую роль, какую открытие рестриктаз сыграло в эпоху возникновения генной инженерии и биотехнологии. Безусловно, трудностей на этом пути много. Но, ни одна не выглядит непреодолимой.

### Литература

- 1) Алексеенко Ж.В. Дифференциальный распад мРНК злаков *in vitro* как молекулярно-кинетический маркёр эффекта взаимодействия «генотип-среда» // Автореф. дис. на соиск. степени канд. биол. наук. Краснодар. Кубанский агроуниверситет. 2003. 27с.
- 2) Бакалдина Н.Б., Алексеенко Ж.В., Плотников В.К. Холодоиндуцированные изменения стабильности мРНК субъединицы альфа фактора элонгации трансляции 1 у проростков пшеницы и ячменя // Физиология растений. 2001. т. 48, № 6. С. 879-885.
- 3) Бернал Д. Возникновение жизни, Мир, 1969, 391 с.
- 4) Григорович С. Вначале была РНК? В поисках молекулы первожизни // Наука и жизнь, 2004, №2, с.5-10.
- 5) Киль В.И., Бибишев В.А., Плотников В.К. Неспецифический прирост трансляционной активности полисом проростков пшеницы и ячменя под действием стрессов // Физиология растений, 1991, т. 38, вып. 4, С.730-735.
- 6) Колесова О. Удача не иначе // Газета «Поиск», 2014, № 23 (1305), с. 18.
- 7) Крицкий М.С., Телегина Т.А. Коферменты и эволюция мира РНК // Успехи современной биологии. 2004. Т. 44. С. 341-364.
- 8) Кузнецов В.В. РНК-интерференция. Использование метода для создания нокаутных организмов и клеточных линий // Биохимия. 2003. Т. 68. Вып. 10. С. 1301-1317.
- 9) Насонов А.И. Гетерогенность свойств основных РНК-компонентов белоксинтезирующей системы клетки в связи с биологическими особенностями зерновых культур. Дисс. ... канд. биол. наук, Саратов, ИБФРМ РАН, 2008. 145 с.
- 10) Насонов А.И. Гетерогенность свойств РНК зерновых культур. Связь с биологическими особенностями линий и сортов, Saarbruken, LAP Lambert Academic Publishing, 2010. 190 с.
- 11) Насонов А.И., Полежаев С.Л., Радуль А.П., Рядчиков В.Г., Плотников В.К. Взаимосвязь содержания катионов магния ( $Mg^{++}$ ), стабильности РНК и интенсивности метаболизма в клетках эукариот // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2008, № 2(11), С.104-110.
- 12) Насонов А.И., Евтушенко Я.Ю., Серкин Н.В., Плотников В.К. Особенности состава зерна среднеморозоустойчивых сортов ячменя // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2012, Т. 1, № 38, с. 104 – 106.

13) Насонов А.И., Степанов И.В., Евтушенко Я.Ю., Плотников В.К. Дифференциальная стабильность 25S и 18S рибосомной РНК растений // Труды Кубанского аграрного университета, 2012, т. 1., № 38, С. 121-125.

14) Плотников В.К. Стабильность мРНК как фактор регуляции экспрессии генов в клетках эукариот // Успехи современной биологии, 1992, т. 112, вып. 2, с. 186-199.

15) Плотников В.К. Генетико-физиологическая детерминация распада мРНК злаков *in vitro* // Успехи современной биологии, 2003, Т. 123, № 1, с. 98-109.

16) Плотников В.К. Биология РНК зерновых культур, Краснодар, Издательство «Эдви», 2009, 375 с.

17) Плотников В.К. Самое главное событие в биологии XX века // Журнал стресс-физиологии и биохимии, 2013, Т.9, № 2, С. 5-14.

18) Плотников В.К. Евгений Витальевич Ананьев (1947–2008). Письма в Вавиловский журнал. 2016. [http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/history\\_of\\_Genetics/appx\\_4.pdf](http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/history_of_Genetics/appx_4.pdf)

19) Плотников В.К., Насонов А.И., Ладатко А.Г. Вариабельность содержания катионов магния ( $Mg^{++}$ ) в РНК проростков озимой мягкой пшеницы // Сборник статей по материалам конференции «Аминокислотное питание животных и проблема белковых ресурсов», (23 марта, 2004, Краснодар) Краснодар, 2005, с.349 - 352.

20) Плотников В.К., Насонов А.И., Кузембаева Н.А., Букреева Г.И., Каленич В.И., Беспалова Л.А. Особенности молекулярной физиологии озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1 // Сб. материалов международной конференции «Безостая 1 – 50 лет триумфа», Краснодар, 2005, с.212 - 220.

21) Плотников В.К., Насонов А.И., Иваненко Е.Е., Кузембаева Н.А., Букреева Г.И., Каленич В.И. Взаимосвязь морозостойкости озимой мягкой пшеницы с содержанием катионов магния в РНК // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии, Москва, 2008, Вып. 2, С. 89-92.

22) Плотников В.К., Евтушенко Я.Ю., Салфетников А.А., Репко Н.В., Насонов А.И. Биологические маркёры для селекции на морозоустойчивость озимых форм мягкой пшеницы и ячменя // Научный журнал КубГАУ, 2014, № 104, С. 1855-1887.

23) Плотников В.К., Салфетников А.А. 60 лет в строю: особенности молекулярной биологии озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1 // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2016, № 118, С. 627-657.

24) Плотников В.К., Смирнова Е.В., Репко Н.В., Салфетников А.А. Сортоспецифичность действия трилона Б на прорастания семян озимого ячменя // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2016, № 120, С. 706-729.

25) Рядчиков В.Г., Плотников В.К. Экспрессия генов эукариот при аминокислотном имбалансе, 2014, Краснодар, КубГАУ, 375 с.

26) Сковорода Г. Хорошо сказано // Газета «Поиск», 2016, №41.

27) Спирин А.С. Биосинтез белков, мир РНК и происхождение жизни // Вестник Российской академии наук. - 2001. - Т. 71. - С. 320-328.

28) Спирин А.С. Рибонуклеиновые кислоты как центральное звено живой материи // Вестник Российской академии наук. 2003. Т. 73. С. 117-127.

29) Спирин А.С. Мир РНК и его эволюция // Молекулярная биология. 2005. Т. 39. №4. С. 550–556.

30) Спирин А.С. Когда, где и в каких условиях мог возникнуть и эволюционировать мир РНК? // Палеонтологический журнал. 2007. № 5. С. 11-19.

31) Чек Т.Р. РНК - фермент // В мире науки (Scientific American. Издание на русском языке). 1987. № 1. С. 1-19.

32) Четверин, А.Б. Новый взгляд на рекомбинацию РНК // Молекулярная биология. 1996. Т. 33. С. 985-996.

33) Эльконин Л.А., Доманина И.В., Итальянская Ю.В. Генетическая инженерия как инструмент модификации состава запасных белков и повышения питательной ценности зерна у злаков // Сельскохозяйственная биология, 2016, т. 51 № 1, с. 17-30.

34) Altman S. Nobel lecture. Enzymatic cleavage of RNA by RNA // Biosci Rep., 1990, V. 10, P. 317-337.

35) Cech TR. Nobel lecture. Self-splicing and enzymatic activity of intervening sequence RNA from Tetrahymena // Biosci Rep., 1990, V. 10, P. 239-261.

36) Chetverin A.B., Chetverina H.V., Munishkin A.V. On the nature of spontaneous RNA synthesis by Q $\beta$  replicase // J. Mol. Biol. 1991. V. 222. P. 3-9.

37) Chetverina H.V., Chetverin A.B. Cloning of RNA molecules *in vitro* // Nucleic Acids Res. – 1993. – V. 21. – P. 2349-2353.

38) Fialcowitz E.J., Brewer B.Y., Keenan B.P., Wilson G.M. A Hairpin-like Structure within an AU-rich mRNA-destabilizing Element Regulates trans-Factor Binding Selectivity and mRNA Decay Kinetics // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 22406 - 22417.

39) Fire A.Z. Nobel Lecture. Gene Silencing by Double Stranded RNA delivered his Nobel Lecture on 8 December 2006 at Karolinska Institutet in Stockholm. P. 198-233.

40) Mello C.C. Nobel Lecture. Return to the RNAi World: Rethinking Gene Expression and Evolution held his Nobel Lecture December 8, 2006, at Karolinska Institutet in Stockholm. P. 242-258.

41) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel // Plant Molecular Biology, 1996, V.31., P.507-515.

42) Sperrazza J.M., Spremulli L.L. Quantitation of cation binding to wheat germ ribosomes: influences on subunit association equilibria and ribosome activity // Nucleic Acids Res. 1983. V. 11. P. 2665 - 2679.

43) Zhang L., Hou D., Chen X., Li D., Zhu L., Zhang Y., Li J., Bian Zh., Liang X., Cai X., Yin Y., Wang Ch., Zhang T., Zhu D., Zhang D., Xu J., Chen Q., Ba Y., Lin J., Wang Q., Chen J., Wang J., Wang M., Zhang Q., Zhang J., Zen K., Zhang Ch-Y. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1 evidence of cross-kingdom regulation by microRNA // Cell Research, 2012, V. 22, P. 107-126.

## References

1) Alekseenko Zh.V. Differencial'nyj raspad mRNK zlakov in vitro kak molekuljarno-kineticheskij markjor jeffekta vzaimodejstvija «genotip-sreda» // Avtoref. dis. na soisk. stepeni kand. biol. nauk. Krasnodar. Kubanskij agrouniversitet. 2003. 27s.

2) Bakaldina N.B., Alekseenko Zh.V., Plotnikov V.K. Holodoinducirovannye izmenenija stabil'nosti mRNK sub#edinicy al'fa faktora jelongacii transljaciji 1 u prorostkov pshenicy i jachmenja // Fiziologija rastenij. 2001. t. 48, № 6. С. 879-885.

3) Bernal D. Vozniknovenie zhizni, Mir, 1969, 391 s.

4) Grigorovich S. Vnachale byla RNK? V poiskah molekuly pervozhizni // Nauka i zhizn', 2004, №2, s.5-10.

5) Kil' V.I., Bibishev V.A., Plotnikov V.K. Nespecificheskij prirost transljacionnoj aktivnosti polisom prorostkov pshenicy i jachmenja pod dejstviem stressov // Fiziologija rastenij, 1991, t. 38, vyp. 4, S.730-735.

6) Kolesova O. Udacha ne inache // Gazeta «Poisk», 2014, № 23 (1305), s. 18.

7) Krickij M.S., Telegina T.A. Kofermenty i jevoljucija mira RNK // Uspehi sovremennoj biologii. 2004. T. 44. S. 341-364.

8) Kuznecov V.V. RNK-interferencija. Ispol'zovanie metoda dlja sozdaniya nokautnyh organizmov i kletochnyh linij // Biohimija. 2003. T. 68. Vyp. 10. S. 1301-1317.

9) Nasonov A.I. Geterogenost' svojstv osnovnyh RNK-komponentov belosintezirujushhej sistemy kletki v svjazi s biologicheskimi osobennostjami zernovyh kul'tur. Diss. ... kand. biol. nauk, Saratov, IBFRM RAN, 2008. 145 s.

10) Nasonov A.I. Geterogenost' svojstv RNK zernovyh kul'tur. Svjaz' s biologicheskimi osobennostjami linij i sortov, Saarbruken, LAP Lambert Academic Publishing, 2010. 190 s.

11) Nasonov A.I., Polezhaev S.L., Radul' A.P., Rjadchikov V.G., Plotnikov V.K. Vzaimosvjaz' sodержaniya kationov magnija ( $Mg^{++}$ ), stabil'nosti RNK i intensivnosti metabolizma v kletkah jeukariot // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2008, № 2(11), S.104-110.

12) Nasonov A.I., Evtushenko Ja.Ju., Serkin N.V., Plotnikov V.K. Osobennosti sostava zerna srednemorozoustojchivyh sortov jachmenja // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2012, T. 1, № 38, s. 104 – 106.

13) Nasonov A.I., Stepanov I.V., Evtushenko Ja.Ju., Plotnikov V.K. Differencial'naja stabil'nost' 25S i 18S ribosomnoj RNK rastenij // Trudy Kubanskogo agrarnogo universiteta, 2012, t. 1., № 38, S. 121-125.

14) Plotnikov V.K. Stabil'nost' mRNK kak faktor reguljacii jekspressii genov v kletkah jeukariot//Uspehi sovremennoj biologii, 1992, t. 112, vyp. 2, s. 186-199.

15) Plotnikov V.K. Genetiko-fiziologicheskaja determinacija raspada mRNK zlakov in vitro//Uspehi sovremennoj biologii, 2003, T. 123, № 1, s. 98-109.

16) Plotnikov V.K. Biologija RNK zernovyh kul'tur, Krasnodar, Izdatel'stvo «Jedvi», 2009, 375 s.

17) Plotnikov V.K. Samoe glavnoe sobytie v biologii HH veka // Zhurnal stress-fiziologii i biohimii, 2013, T.9, № 2, S. 5-14.

18) Plotnikov V.K. Evgenij Vital'evich Anan'ev (1947–2008). Pis'ma v Vavilovskij zhurnal. 2016. [http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/history\\_of\\_Genetics/appx\\_4.pdf](http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/history_of_Genetics/appx_4.pdf)

19) Plotnikov V.K., Nasonov A.I., Ladatko A.G. Variabel'nost' sodержaniya kationov magnija ( $Mg^{++}$ ) v RNK prorostkov ozimoy mjadgkoj pshenicy //Sbornik statej po materialam konferencii «Aminokislotnoe pitanie zhivotnyh i problema belkovykh resursov», (23 marta, 2004, Krasnodar) Krasnodar, 2005, s.349 - 352.

20) Plotnikov V.K., Nasonov A.I., Kuzembaeva N.A., Bukreeva G.I., Kalenich V.I., Bepalova L.A. Osobennosti molekularnoj fiziologii ozimoy mjadgkoj pshenicy sorta Bezostaja 1 // Sb. materialov mezhdunarodnoj konferencii «Bezostaja 1 – 50 let triumfa», Krasnodar, 2005, s.212 - 220.

21) Plotnikov V.K., Nasonov A.I., Ivanenko E.E., Kuzembaeva N.A., Bukreeva G.I., Kalenich V.I. Vzaimosvjaz' morozostojkosti ozimoy mjadgkoj pshenicy s sodержaniem kationov magnija v RNK // Izvestija Timirjazevskoj sel'skohozjajstvennoj akademii, Moskva, 2008, Vyp. 2, S. 89-92.

22) Plotnikov V.K., Evtushenko Ja.Ju., Salfetnikov A.A., Repko N.V., Nasonov A.I. Biologicheskie markjory dlja selekcii na morozoustojchivost' ozimyh form mjadgkoj pshenicy i jachmenja // Nauchnyj zhurnal KubGau, 2014, № 104, S. 1855-1887.

23) Plotnikov V.K., Salfetnikov A.A. 60 let v stroju: osobennosti molekularnoj biologii ozimoy mjadgkoj pshenicy sorta Bezostaja 1 // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2016, № 118, S. 627-657.

24) Plotnikov V.K., Smirnova E.V., Repko N.V., Salfetnikov A.A. Sortospecificnost' dejstvija trilona B na prorastaniya semjan ozimogo jachmenja //

Politematiceskij setevoy jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2016, № 120, S. 706-729.

25) Rjadchikov V.G., Plotnikov V.K. Jekspressija genov jeukariot pri aminokislotnom imbalanse, 2014, Krasnodar, KubGAU, 375 s.

26) Skovoroda G. Horosho skazano // Gazeta «Poisk», 2016, №41.

27) Spirin A.S. Biosintez belkov, mir RNK i proishozhdenie zhizni // Vestnik Rossijskoj akademii nauk. - 2001. - T. 71. - S. 320-328.

28) Spirin A.S. Ribonukleinovye kisloty kak central'noe zveno zhivoj materii // Vestnik Rossijskoj akademii nauk. 2003. T. 73. S. 117-127.

29) Spirin A.S. Mir RNK i ego jevoljucija // Molekuljarnaja biologija. 2005. T. 39. №4. S. 550–556.

30) Spirin A.S. Kogda, gde i v kakih uslovijah mog vzniknut' i jevoljucionirovat' mir RNK? // Paleontologičeskij zhurnal. 2007. № 5. S. 11-19.

31) Chek T.R. RNK - ferment // V mire nauki (Scientific American. Izdanie na ruskom jazyke). 1987. № 1. S. 1-19.

32) Chetverin, A.B. Novyj vzgljad na rekombinaciju RNK // Molekuljarnaja biologija. 1996. T. 33. S. 985-996.

33) Jel'konin L.A., Domanina I.V., Ital'janskaja Ju.V. Genetičeskaja inzhenerija kak instrument modifikacii sostava zapasnyh belkov i povysenija pitatel'noj cennosti zerna u zlakov // Sel'skohozjajstvennaja biologija, 2016, t. 51 № 1, s. 17-30.

34) Altman S. Nobel lecture. Enzymatic cleavage of RNA by RNA // Biosci Rep., 1990, V. 10, P. 317-337.

35) Cech TR. Nobel lecture. Self-splicing and enzymatic activity of intervening sequence RNA from Tetrahymena // Biosci Rep., 1990, V. 10, P. 239-261.

36) Chetverin A.B., Chetverina H.V., Munishkin A.V. On the nature of spontaneous RNA synthesis by Q $\beta$  replicase // J. Mol. Biol. 1991. V. 222. P. 3-9.

37) Chetverina H.V., Chetverin A.B. Cloning of RNA molecules in vitro // Nucleic Acids Res. – 1993. – V. 21. – P. 2349-2353.

38) Fialcowitz E.J., Brewer B.Y., Keenan B.P., Wilson G.M. A Hairpin-like Structure within an AU-rich mRNA-destabilizing Element Regulates trans-Factor Binding Selectivity and mRNA Decay Kinetics // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 22406 - 22417.

39) Fire A.Z. Nobel Lecture. Gene Silencing by Double Stranded RNA delivered his Nobel Lecture on 8 December 2006 at Karolinska Institutet in Stockholm. P. 198-233.

40) Mello C.C. Nobel Lecture. Return to the RNAi World: Rethinking Gene Expression and Evolution held his Nobel Lecture December 8, 2006, at Karolinska Institutet in Stockholm. P. 242-258.

41) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel // Plant Molecular Biology, 1996, V.31., P.507-515.

42) Sperrazza J.M., Spremulli L.L. Quantitation of cation binding to wheat germ ribosomes: influences on subunit association equilibria and ribosome activity // Nucleic Acids Res. 1983. V. 11. P. 2665 - 2679.

43) Zhang L., Hou D., Chen X., Li D., Zhu L., Zhang Y., Li J., Bian Zh., Liang X., Cai X., Yin Y., Wang Ch., Zhang T., Zhu D., Zhang D., Xu J., Chen Q., Ba Y., Lin J., Wang Q., Chen J., Wang J., Wang M., Zhang Q., Zhang J., Zen K., Zhang Ch-Y. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1 evidence of cross-kingdom regulation microRNA // Cell Research, 2012, V. 22, P. 107-126.