

УДК 577.112:577.217

UDC 577.112:577.217

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЖИВОТНЫХ ПРИ АМИНОКИСЛОТНОМ ИМБАЛАНСЕ. Часть II

ANIMAL GENE EXPRESSION IN THE AMINO ACID IMBALANCE. Part II

Рядчиков Виктор Георгиевич
д.б.н., профессор, академик РАСХН
ryadchikov@mail.ru

Ryadchikov Victor Georgievich
Dr.Sci.Biol., professor, academician of Russian
Academia of Agriculture

Плотников Владимир Константинович
д.б.н., доцент
vkpbio21@mail.ru
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Plotnikov Vladimir Konstantinovich
Dr.Sci.Biol., associate professor
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

В обзоре рассмотрены достижения мировой молекулярной биологии в исследовании особенностей экспрессии генов животных в условиях аминокислотного имбаланса

This review covers the advances of the molecular biology in the study of gene expression characteristics of animals in the amino acid imbalance

Ключевые слова: ЖИВОТНЫЕ, ПИТАНИЕ, АМИНОКИСЛОТЫ, ГЕНЫ, РИБОСОМЫ, ДНК, РНК, БЕЛКИ

Keywords: ANIMALS, FOOD, AMINO ACIDS, GENES, RIBOSOME, DNA, RNA, PROTEIN

I. Влияние имбаланса аминокислот на судьбу мРНК как фактор регуляции экспрессии генов у животных

Центральным компонентом белоксинтезирующей системы клетки является мРНК. Количество молекул мРНК в цитоплазме клеток животных определяется уровнем транскрипции генов, интенсивностью транспорта мРНК из ядра в цитоплазму и стабильностью (временем полужизни) мРНК. Аминокислотный имбаланс способен повлиять на количество мРНК и, таким образом, на качественные характеристики синтеза белка на любом этапе реализации генетической информации в особенности морфологии и физиологии организма животного.

1. Активность генов. Конечным результатом активности любого известного гена на молекулярном уровне является образование молекул РНК, информация о первичной структуре которых закодирована в этом гене. Гены животных организмов подразделяются по функциональному признаку на две большие группы: «гены домашнего хозяйства» (housekeeping genes) и «гены роскоши» (luxury genes). К первой группе

относятся гены, функционирующие повсеместно, на всех стадиях жизненного цикла организма. Они обеспечивают процесс гликолиза, биосинтез аминокислот и нуклеотидов, катаболизм белков и т.д. Матричные РНК этих генов чаще всего имеют большее время полужизни, чем мРНК генов, относящихся ко второй группе, которые активны лишь в специализированных клетках и являются маркёрами дифференцированных состояний этих клеток. Это белки, которые необходимы только на определённый период времени в клетке, например – во время клеточного цикла, во время развития, роста, дифференцировки или при ответе на внешние стимулы. Так мРНК для лимфокинов, цитокинов, онкогенов и транскрипционных активаторов обычно не стабильны с периодом жизни в 10-30 минут.

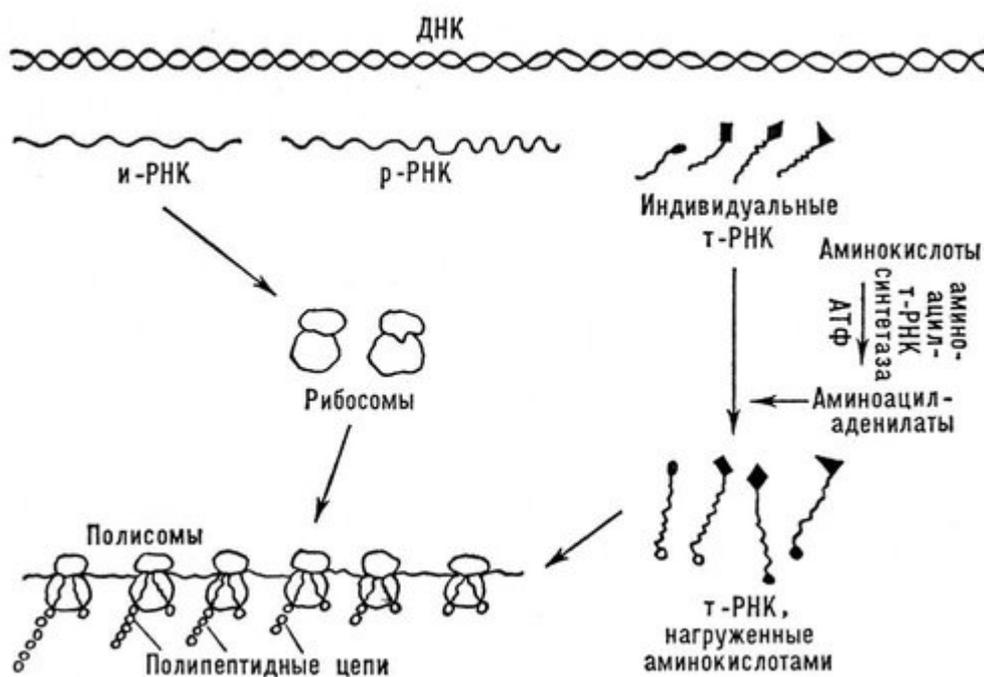


Рис 3. Биосинтеза белка - основной молекулярный механизм реализации экспрессии генов в клетках эукариот

2. Транскрипция. Транскрипцию генов животных осуществляют как минимум три различные РНК-полимеразы (Pol): I – ответственна за синтез рРНК, II – за синтез мРНК и III – за синтез тРНК. В активации этих

ферментов принимает участие выше упомянутая серин/треониновая протеинкиназа mTOR (рис. 4).

Белковое голодание, недостаток или отсутствие аминокислот вызывают усиление активности, в частности, РНК-полимеразы II, определяющий повышенный уровень синтеза мРНК ряда генов. Деятельность этих генов направлена на синтез ферментов деградации белков тканей, прежде всего мускульных, в создавшихся неблагоприятных условиях питания и наоборот гены, ответственные за синтез других белков, особенно мускульных, ингибируются [62].

При исследовании транскрипции генов животных обнаружены регуляторные белки, которые взаимодействуют со специфическими последовательностями нуклеотидов генов, получивших название факторов транскрипции. Больше тысячи этих белков разных организмов уже идентифицированы, а общее их число составляет не менее нескольких тысяч. Эти факторы реализуют механизм регуляции активности генов так называемого комбинаторного типа, когда факторы транскрипции осуществляют высокоспецифические белок-белковые и белково-нуклеиновые взаимодействия. В результате достигается беспрецедентная гибкость в модуляции уровней транскрипции эукариотических генов. Большое значение в этих процессах играют белки с так называемой «лейциновой застёжкой-молнией» (bZIP) [31].

Не менее уникальна способность эукариот использовать для регуляции транскрипции своих генов изменения структуры хроматина, что чаще всего связано со специфическим взаимодействием ДНК нуклеосомы с гистонами и негистоновыми белками.

В этом плане представляет интерес ген CHOP, который является убиквитиновым белком, гомологом белков транскрипционного фактора семейства CCAT/CEBR. Индукция CHOP в ответ на стресс приводит к прекращению фолдинга (структурирования) белков в эндоплазматическом

ретикулуме. В промоторе гена СНОР выделен *cis*-положительный элемент, который определяет регуляцию активности этого гена в ответ на аминокислотное голодание. Эта короткая последовательность нуклеотидов была названа АКРЭ - «аминокислотный регуляторный элемент» (AARE –

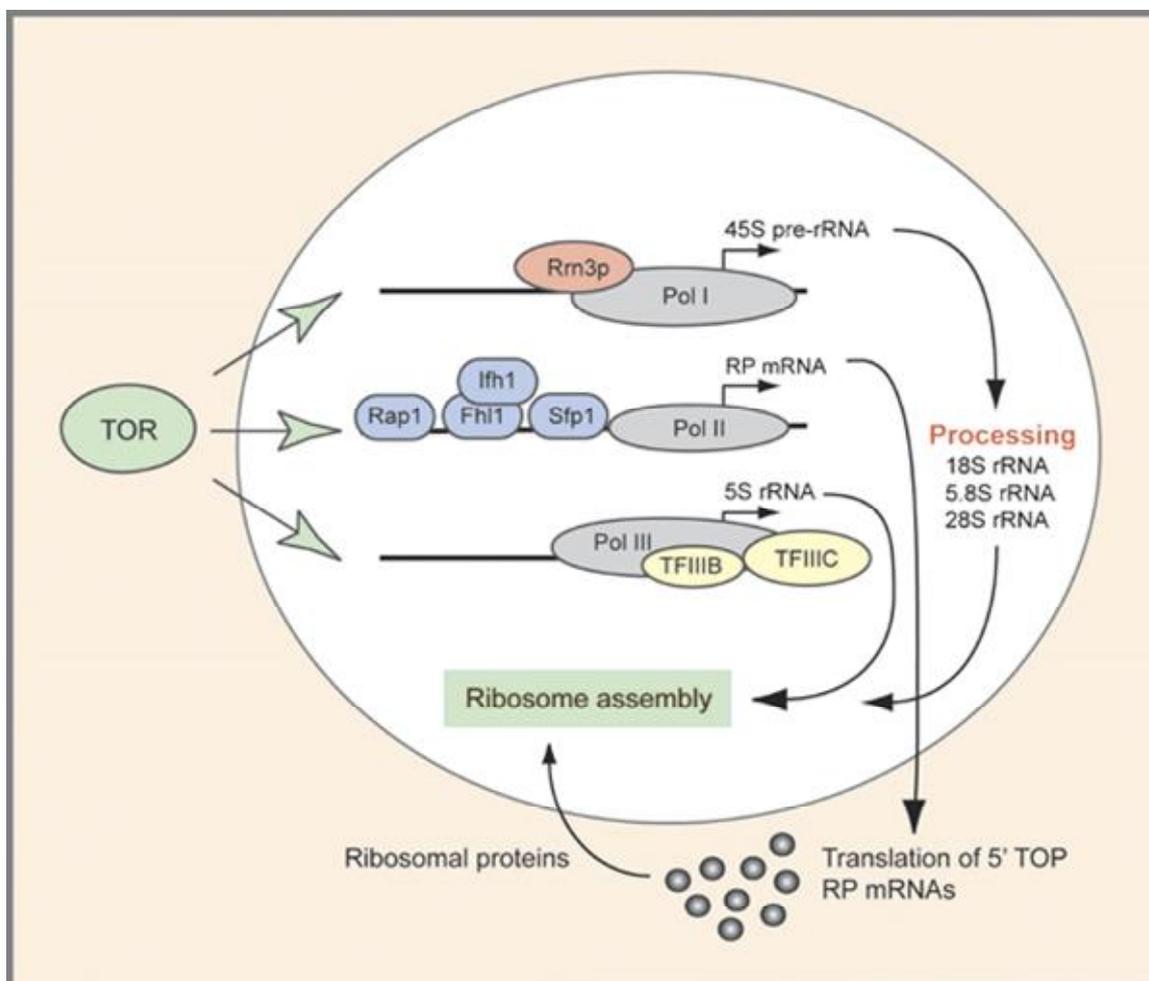


Рис. 4. Участие серин/треониновой протеинкиназы mTOR в активации РНК-полимераз (POL) и биогенезе рибосом

amino acid regulatory element), и ответственна она за восприятие наличия аминокислот. В опытах *in vivo* было показано, что ряд транскрипционных факторов семейства ATF и C/EBP связываются с АКРЭ гена СНОР. Показано, что факторы ATF2 и 4 участвуют в контроле активности гена СНОР и являются ключевыми компонентами, через которые аминокислоты определяют активность генов [63].

Ген СНОР (известен как *gad 153*) активируется во всех клетках млекопитающих пищевым стрессом. При этом 4-х часовая инкубация клеток на безлейциновой среде увеличивает синтез мРНК этого гена (его транскрипцию) в 21 раз, но время полужизни его мРНК в условиях блокады транскрипции актиномицином Д увеличивается в 3 раза по сравнению с таковой при инкубации клеток на среде с полным набором аминокислот [63, 64]. Таким образом, лейциновая депривация повышает как скорость транскрипции, так и стабильность мРНК гена СНОР.

3. Экспрессия генов. Реализация активности генов в экспрессию генов осуществляется при помощи белоксинтезирующего аппарата клетки и регулируется на посттранскрипционном, трансляционном и посттрансляционном уровне. Среди множества слагаемых этих процессов наиболее важными компонентами являются время полужизни мРНК и белка того или иного гена.

Основным уровнем регуляции количества мРНК в клетках бактерий считается транскрипция. В то же время в клетках эукариот уровень функционально активных мРНК в значительной степени определяется нормой их распада в цитоплазме, которая зависит от физиологического состояния клетки и детерминирована внутренними и внешними факторами.

Влияние скорости деградации мРНК на её общую концентрацию в клетке легко понять, если представить себе процесс наполнения водой дырявого ведра. По мере наливания воды часть её вытекает через дырку. В конце концов, количество воды в ведре установится на некотором стационарном уровне, когда, сколько воды наливается, столько за то же время вытекает. Уровень жидкости (мРНК) зависит как от скорости вливания воды (транскрипция гена), так и от скорости её вытекания (разрушения мРНК). Можно пустить в ведро мощную струю воды, однако если дыра в днище большая (высокая скорость деградации), то в нём будет

все время мало воды. Если же отверстие маленькое, уровень воды окажется высоким.

4. Количество и качество РНК определяют норму реакции организма на условия окружающей среды.

Исследования последних десятилетий показали, что стабильность мРНК является наиболее лабильным звеном регуляции экспрессии генов. Индивидуальные мРНК значительно различаются по времени жизни, которое варьирует в клетках эукариот от нескольких минут до недель. Так, уровень мРНК гистонов определяется тремя параметрами: нормой транскрипции, эффективностью процессинга и транспорта мРНК, временем жизни мРНК. В целом это позволяет повысить концентрацию мРНК в клетке в 30-50 раз в течение клеточного цикла. При этом транскрипция изменяется в 3-5 раз. Значительное увеличение уровня мРНК гистонов в S-фазу клеточного цикла в основном обусловлено возрастанием времени её полужизни от 10-15 до 45-60 мин.

Другим наглядным примером роли стабильности мРНК может служить глобиновая мРНК, составляющая 90% суммарной мРНК ретикулоцитов. Большое содержание этой мРНК является результатом высокой стабильности (2-3-ое суток) по сравнению с другими мРНК, что и определяет её относительное накопление при отсутствии транскрипции генов в ретикулоцитах.

Известно, что онкогенная с-тус мРНК, ответственная за синтез белка, определяющего деление клеток, имеет время полужизни менее 10 минут или оборот её составляет 10 000% в сутки, в то время как мРНК глобина – 50 часов или 33% в сутки. При изменении условий жизни стабильность с-тус мРНК может возрасти или снизиться на 400%, соответственно изменив синтез белка с-тус, без изменения транскрипции гена с-тус [65].

В то же время оборот (%) индивидуальной ген-специфической мРНК определяется физиологическим состоянием клеток. Например, концентрация мРНК рибонуклеотидредуктазы в мышечных фибробластах под влиянием фактора роста b1 возрастает за счёт увеличения времени жизни (т.е. снижение оборота) с 1,5 часа (1110% в сутки) до 6 часов (227% в сутки). Клеточные мРНК транспортных белков (например, GLUT1) обычно имеют относительно высокий оборот: время полужизни составляет 12 часов (139% в сутки) в нервных клетках, 8 часов (208% в сутки) в гепатоцитах и $2 \pm 2,5$ часа ($665\% \pm 831\%$ в сутки) в культуре миоцитов. Сходные нормы оборота имеет мРНК GLUT4 в клетках адипоцитов. Длительная экспозиция клеток *Caco-2* на среде, содержащей глицил-L-глутамин ведёт к увеличению экспрессии транспортного белка PEPT1, время жизни мРНК которого возрастает с 8,9 часа (187% в сутки) до 12,5 часа (133% в сутки).

Структурные белки также могут иметь быстро обменивающуюся мРНК. Например, время полужизни мРНК тропонина (Troponin C) составляет в сердце 94 часа (17,7% в сутки), в скелетных мышцах 13 часов (128% в сутки) и в печени 6 часов (277% в сутки). В скелетных мышцах полужизнь мРНК мускулов составляет 2 ± 3 часов ($554\% \pm 832\%$) [66, 67].

Имеется тесная корреляция (оперативная взаимосвязь) между временем полужизни белков и соответствующих им мРНК. Структурные белки обычно обладают большей продолжительностью жизни (миозин, гемоглобин, эластин, коллаген). Напротив, регуляторные белки, как правило, быстро распадаются. К ним относятся большинство ферментов, киназы, кинины и другие. Так, полужизнь ферментов печени крыс составляет для орнитин-декарбоксилазы – 11 минут, РНК-полимеразы 1 – 1,3 часа, тирозин-аминотрансферазы – 1,5 часа, триптофан-оксигеназы – 2

часа, ацетил-КоА карбоксилазы – 2 дня, аргиназы – 4-5 дней. Для белков мышц: α -актинин – 5-6 дней, миозин (тяжёлые цепи) – 5-6 дней, миозин (лёгкие цепи) – 9 дней, актин – 7-8 дней [68, 69].

Методы генной инженерии позволили за последние 20-25 лет установить, что наиболее лабильным компонентом системы регуляции экспрессии генов является стабильность (время полужизни) мРНК, которая зависит как от гена, на котором синтезирована эта мРНК, так и от условий окружающей среды. Кроме того, как выясняется из всей совокупности данных по структуре рибосом и из особенностей катализируемой рибосомой реакции образования пептидных связей в процессе биосинтеза белка, каталитический центр этой реакции (пептидилтрансферазный центр рибосомы) определяется доменом большой рибосомной РНК (28S), без участия рибосомных белков, т.е. имеет рибозимную природу. Поэтому стабильность рибосомной РНК также является важнейшим компонентом системы регуляции экспрессии генов [65].

Стабильность рРНК в разных тканях животных варьирует. Так 28S рРНК мускулов быка имеет время полужизни 141 час, а для печени – 21 час. Но обычно 18S более стабильна, чем 28S рРНК. Так в жировой ткани время полужизни 28S рРНК составляет 125 часов, а 18S – 216 часов, в то время как для печени: 28S рРНК – 21 час, а 18S – 69 часов [70]. Аналогичные соотношения стабильности характерны и для 25S и 18S рРНК высших растений [71]. Вместе с тем, стабильность рРНК и животных и растений зависит от условий окружающей среды [65].

Показано, что если личинки *Drosophila melanogaster* находятся на оптимальной для роста среде, рРНК разрушается с периодом полужизни 48 ч. Однако, если личинки находятся на среде замедляющей рост и развитие

период полужизни рРНК возрастает до 115 ч [72]. Вместе с тем, рост, как правило, прямо пропорционален стабильности мРНК [65].

На РНК печени крысы показано, что *in vitro* (прогрев при 90° С) 28S рРНК частично деградирует, в то время как 18S остаётся практически неизменной [73]. В тоже время *in vivo*, в цитоплазме клеток печени голодающих крыс, в течение первых 3 ч ингибитор синтеза белка циклогексимид вызывал деградацию 18S рРНК, при этом стабильность 28S рРНК изменяется незначительно [74]. Аналогичные инверсии в стабильности 25S и 18S рРНК отмечены и для высших растений [71].

Двадцать лет назад было высказано предположение о наличии посттранскрипционного контроля синтеза рРНК, а, следовательно, и формирования рибосом [75]. Рибосомные РНК составляют более половины массы рибосомы и выполняют ведущую роль в биосинтезе белка. В последние годы выясняется всё большее функциональное значение в биосинтезе белка самих рибосомных РНК как катализаторов: реакция образования пептидной связи (транспептидирование) и продвижение рибосомы по мРНК (транслокация), по всей видимости, связаны с функционированием рРНК. По образному выражению академика А.С. Спирина, белки рибосом только «декорируют рибосому», а главные функции в её работе выполняют РНК, тогда как белки могут лишь усиливать эти функции [76].

Причиной дифференциальной стабильности 28S (25S) и 18S компонентов рРНК, возможно, является разное содержание в них катионов магния [65]. В целом, чем больше содержится магния в рРНК, тем активнее синтезируют белок (полифенилаланин) рибосомы из зародышей пшеницы в бесклеточной системе синтеза белка (*in vitro*) на искусственной матрице (поли-У) [77]. Важным в этом отношении является наличие у 28S

рРНК так называемых «скрытых разрывов», которые предположительно отражают этапы процессинга и, по-видимому, необходимы для определённых неизвестных функций рибосом [65].

В ходе исследований рРНК злаковых растений неоднократно отмечалось, что распад магний-содержащей рРНК при инкубации *in vitro* сопровождался интересным перераспределением компонентов 25S и 18S рРНК при электрофорезе в агарозном геле. Часто сумма РНК при компьютерном денситометрировании не изменялась, но вполне пропорционально снижалось количество 25S рРНК и соответственно увеличивалось содержание 18S компонента рРНК. Это наводило на мысль о наличии молекулярной сегрегации, т.е. перераспределении фрагментов разных компонентов при электрофорезе как следствии частичного распада 25S рРНК [71].

Анализ научной литературы показал, что это явление – фрагментирование РНК большой субъединицы рибосом обнаружено у многих организмов. При созревании рРНК эукариот из молекулы-предшественника (45S) удаляются внешние и внутренние транскрибированные спейсорные последовательности нуклеотидов (ETS и ITS) и образуются функциональные молекулы рибосомных РНК (18S, 5,8S и 28S). Это специфическое расщепление впервые было названо скрытый разрыв («hidden break»). Однако дальнейшее изучение структуры рДНК насекомых показало, что разрыв образуется путём удаления из предшественника рРНК короткого участка, известного как гар-участок. Поэтому это событие получило название гар-делеции. К концу прошлого века было установлено, что специфические делеции гар-участка рРНК наблюдаются у многих организмов. Несмотря на вариации размеров гар-последовательностей у разных представителей *Eukaryota*, все они

расположены в специфичном для эукариот сегменте D7a внутри 28S рРНК. Во многих исследованиях последних 40 лет были сделаны попытки выяснить молекулярный механизм иссечения гар-последовательностей из зрелых 28S рРНК, однако до сих пор он остаётся неясным [78].

Известно, что 28S компонент рРНК обладает выраженными рибозимными свойствами, формирующими пептидилтрансферазный центр, благодаря чему эта РНК способна синтезировать белок без участия белков-ферментов [65]. Для оперативной регуляции синтеза белка при изменении условий внешней и внутренней среды, по-видимому, важно, что этот компонент содержит меньше катионов магния и обладает меньшей стабильностью (более лабилен) по сравнению с 18S компонентом.

С открытием в начале восьмидесятых годов XX века самосплайсинга у рибосомной РНК *Tetrahymena thermophyla* и рибозимных свойств РНК вот уже на протяжении 30-ти лет происходит относительно интенсивная эволюция знаний о спектре функциональных возможностей РНК и в частности – рРНК. Многие учёные разделяют гипотезу о существовании на заре зарождения жизни «мира РНК».[65].

В целом эти исследования привели к пониманию того, что норма реакции организма на изменения условий окружающей среды на молекулярном уровне выражается в изменении количества и качества (стабильности) РНК в клетках эукариот.

5. Как влияет imbalance аминокислот на стабильность РНК?

Распад любой молекулы РНК *in vivo* обусловлен двумя группами факторов: 1) особенностями структуры самой молекулы, в случае с мРНК - определяемые взаимодействием 5'-нетранслируемой, кодирующей и 3'-нетранслируемой частями молекулы (цис-факторы, рис. 5) и 2) локализацией РНК, делающей её особенно чувствительной к РНКазам,

активностью РНКаз, а также наличием в клетке прочих стабилизирующих и дестабилизирующих факторов (транс-факторы).

Что касается цис-факторов, то в настоящее время методы клонирования и секвенирования нуклеиновых кислот привели к накоплению значительного банка данных о первичной структуре РНК, а создание химерных молекул методами генной инженерии позволило выявить функциональную роль многих регуляторных нуклеотидных последовательностей в составе молекул мРНК (рис. 5). Основные успехи были достигнуты на животных объектах. Было найдено, что главные цис-детерминанты стабильности мРНК находятся в 3'-нетранслируемой области. Это (U)_nA последовательности и степень полиаденилирования, т.е. длина терминальной гомонуклеотидной цепи поли(А)-хвоста мРНК, максимально достигающая 200-300 нуклеотидов. Кодированная и 5'-нетранслируемая области также могут иметь цис-элементы, определяющие время жизни мРНК.

На животных объектах хорошо изучены и транс-детерминанты – гормоны, стрессы (в том числе аминокислотный имбаланс) и другие факторы, стабилизирующие и дестабилизирующие мРНК.

Примером «прямого» влияния питательного вещества на генную экспрессию через воздействие на стабильность мРНК и эффективность трансляции является контролируемая катионами железа трансляция определённых мРНК. Показано, что 3'-нетранслируемая область (3'-UTR) мРНК рецептора трансферина человека обеспечивает зависимый от железа контроль стабильности этой мРНК. Делеционные эксперименты позволили идентифицировать фрагменты длиной в 678 нуклеотидов в ДНК, комплементарной мРНК для рецептора, которые определяют стабильность мРНК. Внутри этого фрагмента располагается пять структур «стебель-

петля», дестабилизирующие эту мРНК в присутствии избытка ионов железа (рис. 5) [65].

Сходным образом регулируется трансляция мРНК синтетазы δ -аминолевулиновой кислоты и субъединицы β -сукцинатдегидрогеназы позвоночных животных. Но, в этом случае, уже 5'-UTR мРНК белков содержат регуляторный элемент IRE (iron-regulatory element), с которым взаимодействует белок IRP (iron-regulatory protein), акцептирующий ионы железа. В отсутствие железа IRP связывается с IRE и блокирует трансляцию мРНК. Сродство IRP к IRE понижается в 50-100 раз, если он находится в комплексе с ионами железа. Этого оказывается достаточно для вовлечения соответствующих мРНК в трансляцию [79].

И наоборот, катионы Mg^{++} стимулируют укорочение терминальной поли-А-последовательности, определяющей стабильность и трансляционную активность мРНК, через усиление прочности определённых структур, с которыми связываются белки, определяющие деаденилирование молекулы мРНК. Известно, что АУ-богатые области на 3'-конце молекулы мРНК, предшествующие терминальной поли(А)-последовательности и определяющие скорость её деаденилирования, содержат структуры в виде шпилек, устойчивость которых зависит от наличия и количества катионов магния [80]. Вероятно, этим и объясняется обратная зависимость степени полиаденилирования мРНК от количества катионов магния.

Возможно, стабилизация мРНК вызывает ускорение обмена рРНК, что необходимо для эффективного функционирования рибосом. В пользу этого предположения свидетельствуют литературные данные о том, что в опухолевых клетках животных мРНК имеет большее время полужизни по сравнению с таковой нормальных клеток, но рРНК опухолевых клеток

содержит на 30-50 % меньше магния [65] и имеет меньшее время полужизни: оборот рибосом возрастает с 2,4% в сутки до 3,1-3,6% у пациентов с онкологическими заболеваниями [67].

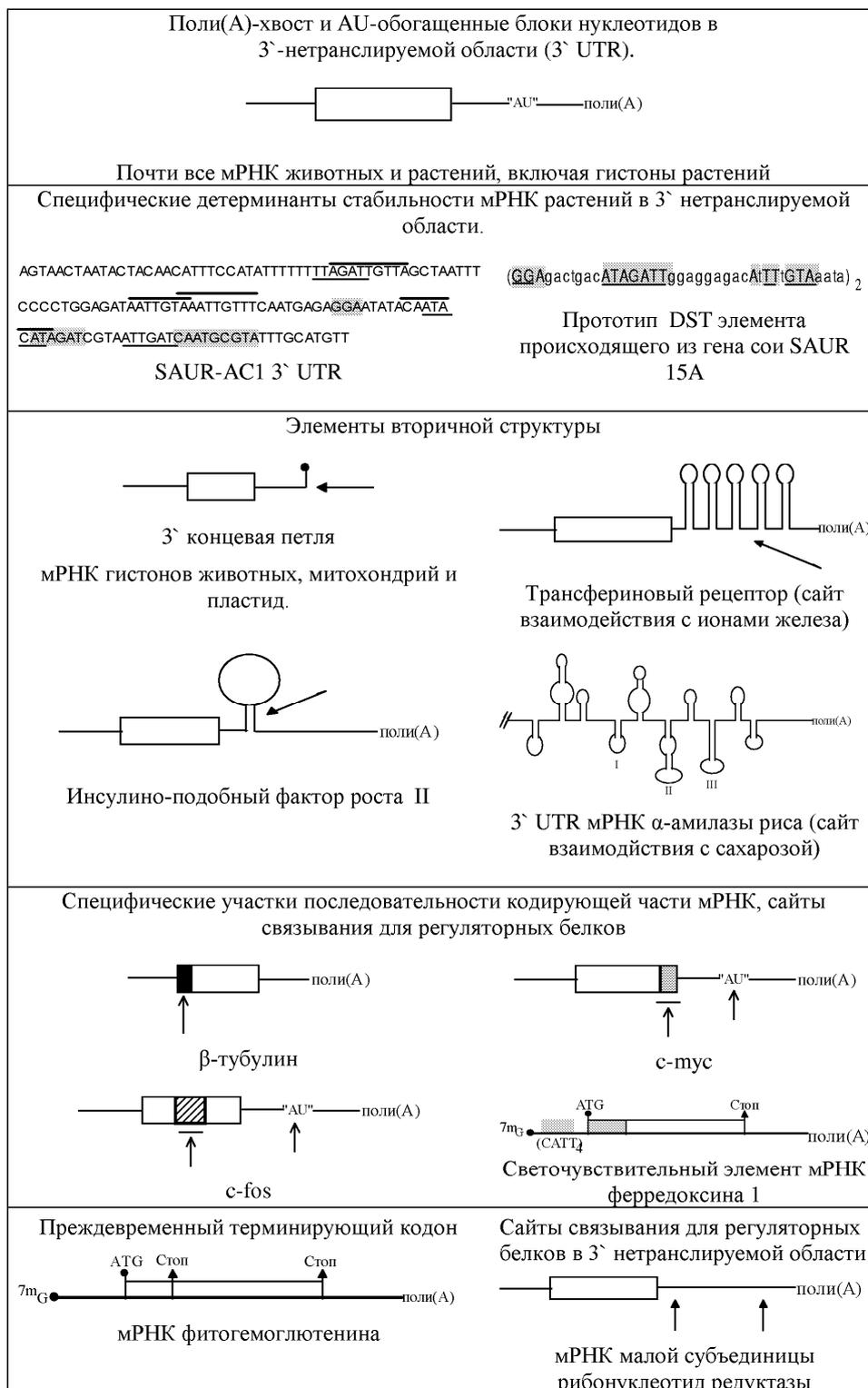


Рис 5. Некоторые цис-детерминанты, контролирующие стабильность мРНК эукариот [65].

Поэтому весьма актуальными представляются исследования влияния имбаланса аминокислот на судьбу рРНК и мРНК. При имбалансе по лизину и триптофану концентрация РНК в печени, в том числе матричной, выше, чем на основной диете и находится на том же уровне, как и в печени крыс, получавших высокобелковую скорректированную диету. В мышцах концентрация полисомной РНК несколько выше у крыс при триптофановом имбалансе. Учитывая слабый рост крыс в этой группе, можно сделать вывод, что имбаланс не оказывает ингибирующего действия на синтез РНК. Индекс стабильности (ИС) полиаденилированной мРНК оценивали двуциклической аффинной хроматографией мРНК на поли-(У)-сефарозе как % поли-(А)⁺⁺-мРНК второго цикла от поли-(А)⁺-мРНК первого цикла. Было показано, что ИС мРНК печени относительно низок (30%), а имбаланс по незаменимым аминокислотами приводит к значительному снижению этой величины [5].

Стабильность мРНК может определяться разными молекулярными механизмами. Наиболее вероятным молекулярным механизмом в случае имбаланса аминокислот является изменение длины поли-(А)-последовательности на 3'-конце молекулы мРНК, т.е. степень её полиаденилирования. Важно подчеркнуть, что степень полиаденилирования определяет и трансляционную активность мРНК: чем длиннее поли-(А)-хвост, тем продолжительнее время полужизни и эффективнее трансляция матрицы, т.е. терминальная поли-(А)-последовательность является цис-фактором стабильности мРНК и энхансером (усилителем) трансляции.

В экспериментах на поросятах методом ступенчатой термальной элюции поли-(А)-содержащей мРНК печени с колонки поли-(У)-сефарозы было установлено, что, как и в печени крыс, имбаланс по лизину и триптофану негативно повлиял на стабильность мРНК: соотношение фракций мРНК, элюируемых с колонки при температуре 65°C

(длиннохвостовые молекулы) и при температуре 35°C (короткохвостовые молекулы) составляло для контрольных групп 0,85 и 1,04, а для групп с имбалансом по лизину или триптофану - 0,47 и 0,31, соответственно [5].

Изменения в полиаденилировании мРНК могут быть вызваны действием эндогенных и экзогенных факторов. Так, под действием NaCl увеличивается длина поли-А-хвоста аргинин-вазопрессина и окситоцина у крыс. В гипоталамусе крыс увеличивается размер поли-А-хвоста мРНК окситоцина в течение беременности и лактации. На 100-150 адениловых остатков увеличивается мРНК гормона роста в цитоплазме клеток крыс под воздействием тиреоидных гормонов. Наблюдаются циркадные ритмы в изменении поли-(А)-хвоста ядерных транскриптов вазопрессина крыс: на свету мРНК имеет хвост протяжённостью 240 остатков аденина, а в темноте – всего лишь 30. Сильно увеличивается полиаденилирование мРНК крыс также при обработке клеток высокими концентрациями актиномицина Д и при аминокислотном голодании. Укорачивание поли-А-хвостов короткоживущих мРНК протоонкогенов *c-myc* и *c-fos* в клетках животных происходит с различной скоростью в зависимости от условий внешней среды. В целом это определяет изменение стабильности мРНК в 5-6 раз [65, 66].

Вместе с тем, относительно хорошо изученным является механизм стабилизации специфических мРНК под влиянием голода как следствие усиления синтеза специфических белков, взаимодействующих с (U)_nА-обогащённой последовательностью нуклеотидов в 3'-некодирующей области молекулы мРНК, предшествующей поли-(А)-хвосту. Синтез этих белков усиливается и при блокаде транскрипции антибиотиком актиномицином Д, когда происходит частичный распад мРНК. Это говорит о том, что в свою очередь синтез этих белков усиливается как следствие парадоксальной стабилизации их мРНК. В частности установлено, что стабильность мРНК белка CAT-1 (cationic amino acid transporter), который

является переносчиком лизина и аргинина через клеточные мембраны, зависит от белка-киназы HuR, который является убиквитин-подобным белком из семейства РНК-связывающих белков. Содержание и трансляционная активность мРНК белка Cat-1 повышается при аминокислотном голодании, когда общий синтез белка снижается. Повышение стабильности мРНК определяется 11-ю нуклеотидами в (U)_nA-обогащённой области, что является сенсорным элементом питания (NS-ARE-nutrient AU-rich element) [81].

6. Влияние имбаланса аминокислот на трансляционную активность полирибосом *in vitro*. В классических исследованиях, представляющих особый интерес, продемонстрировано, что формирование полирибосом зависело от присутствия в рационе незаменимых аминокислот. При этом эффективность синтеза белка определяется степенью агрегации рибосом на мРНК: наиболее интенсивно синтез белка происходит с участием тяжёлых высокоагрегированных полирибосом.

Исследования по регуляции синтеза белка показывают, что сбалансированность корма по незаменимым аминокислотам оказывает сильное действие на агрегацию рибосом. Дезагрегированные полисомы при отсутствии или остром недостатке какой-либо аминокислоты быстро восстанавливаются после включения в рацион животных недостающих аминокислот. Однако реагрегация идёт значительно медленнее, когда исключённой аминокислотой был триптофан. Это указывает на то, что содержание в рационе триптофана играет особую роль в формировании полирибосом. При отсутствии в питании крыс аргинина, фенилаланина, метионина, цистина, изолейцина, треонина и гистидина активность полисом не снижалась до такой сильной степени, как при отсутствии триптофана [5,82].

Существенным моментом в этом процессе является то, что формирование полирибосом зависит как от свойств мРНК, так и от свойств

pРНК. Следовательно, изменение трансляционной активности полисом может формироваться разными молекулярными механизмами. В этом отношении наглядным примером является *in vitro* прирост трансляционной активности полирибосом проростков озимой мягкой пшеницы и озимого ячменя под влиянием закаливающей температуры (4°C). У пшеницы под влиянием холода прирост происходил пропорционально увеличению поли-(А)-хвоста мРНК, но холод не влиял так на мРНК проростков ячменя. Тем не менее, полирибосомы из проростков озимого ячменя под влиянием закаливающей температуры увеличивали свою трансляционную активность, что можно связать со стабилизацией pРНК, например, под влиянием повышения концентрации катионов магния. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что, чем больше содержится магния в pРНК, тем активнее синтезировали белок (полифенилаланин) рибосомы из зародышей пшеницы в бесклеточной системе синтеза белка (*in vitro*) на искусственной матрице (поли-У) [5, 77].

Используя полную бесклеточную систему синтеза белка из ретикулоцитов кролика (лизат ретикулоцитов, все необходимые энергетические, функциональные и структурные компоненты для синтеза белка за исключением полирибосом) была изучена активность экзогенных полирибосом по их способности синтезировать белок. Полирибосомы выделяли методом дифференциального ультрацентрифугирования из печени белых крыс, находившихся на диетах с имбалансом по той или иной незаменимой аминокислоте. Было установлено, что имбаланс по метионину не влиял на привесы животных и практически не менял трансляционную активность полирибосом (97,5% от такового показателя для скорректированной диеты). Сходным образом проявил себя имбаланс по валину (115%). Имбаланс по трём аминокислотам: лизину, треонину и гистидину приводил к увеличению трансляционной активности полисом на 194%; 264%; 148% соответственно. Подобное неспецифическое

усиление трансляционной активности полисом *in vitro* под влиянием закаливающей зоны стрессов описано у растений [83] и рассматривается как активная адаптивная реакция. Ибаланс по четырём аминокислотам: триптофану, лейцину, изолейцину и фенилаланину снижал трансляционную активность полисом до уровня 67%; 69%; 59%; 79% соответственно, что вероятно связано с исчезновением тяжёлых полисом [5].

Степень стрессового воздействия в клетках эукариот определяет характер и уровень перестройки метаболизма: «закаливающая» зона стресса приводит к интенсификации метаболизма, необходимой для экстренного изменения обмена веществ в адапционном плане; «повреждающая» зона стресса приводит к угнетению метаболизма и в перспективе – к гибели организма. Таким образом, имбаланс по аминокислотам группы лизина соответствует закаливающей зоне стресса, в то время как имбаланс группы триптофана соответствует повреждающей зоне стресса. Тем не менее, имбаланс по всем семи аминокислотам приводит к снижению привесов животных в краткосрочных экспериментах. Долговременные эксперименты по имбалансу невозможны из-за явно плохого самочувствия животных.

7. Триптофан – наиболее редкая аминокислота в полипептидных цепях белков животных. Можно предположить, что при значительной нагрузке всеми аминокислотами при умеренном дефиците триптофана стимулируется синтез не только ферментативных, но и структурных белков тканей и органов. Но при этом трансляция приводит к синтезу значительного количества незаконченных или ошибочных полипептидных цепей, которые сходят с матрицы после того как обнаруживается отсутствие субстрата (триптофана) или вставка неверной аминокислоты.

В настоящее время всё больше внимания привлекают процессы, влияющие на трансмиссию серотонина, который образуется из триптофана

в нервных окончаниях. При недостатке триптофана угнетается синтез серотонина и вызывает его обратный нейрональный захват. При этом он изменяет схему пищевого поведения, вмешивается в другие поведенческие реакции. Пища дефицитная по триптофану снижает его содержание, а также количество серотонина в мозге человека. Это приводит к ухудшению настроения и агрессивности. Низкий уровень серотонина блокирует успокаивающее действие морфинов. Снижение серотонина в мозге вызывает дефицит фолиевой кислоты. Выявлено, что пища богатая углеводами повышает содержание триптофана и серотонина в плазме крови, хотя концентрация триптофана не изменялась. Эффект углеводов реализуется через секрецию инсулина, который увеличивает отношение триптофан / аминокислоты с разветвлённой цепью. В свою очередь это повышает содержание триптофана и серотонина в мозге. Пища богатая белками, снижает концентрацию триптофана и серотонина в мозге, так как она содержит аминокислоты с большей скоростью транспортирующиеся в мозг, чем триптофан [84-86].

8. Лизин медленно обновляется и лучше других аминокислот реутилизируется [87-91]. Поэтому обеспеченность организма лизином, по всей вероятности, создаётся лучше, чем при имбалансе триптофана, даже при условии одинакового дефицита в диете. Кроме того, лизин – наиболее часто встречаемая аминокислота в белках организма животных. Вероятность образования ошибочных полипептидов при имбалансе лизина должна быть ниже, а обнаружение таковых быстрее, чем при триптофановом имбалансе.

9. Ошибочные полипептиды. Возможность ошибок (или неоднозначность трансляции) в синтезе полипептидных цепей при считывании генетического кода вполне вероятна. Синтез и деградация белка – тесно взаимосвязанные процессы. Интенсификация ошибочного синтеза может стимулировать «ошибочную» деградацию белка. По-

видимому, при имбалансе, по триптофану в особенности, происходит дезорганизация белоксинтезирующей системы. Следствием этого являются нарушения обмена веществ, накопление вредных метаболитов, усиление активности синтеза и деградации белка и нуклеиновых кислот. Отказ от корма или снижение потребности в этих условиях становится защитной реакцией от более серьёзных нарушений. При имбалансе возрастают непроизводительные затраты энергии на корректировку точности трансляции на уровне деацилирования, деградацию ошибочных полипептидов, синтез ферментов деградации излишних аминокислот. Эти процессы при низкобелковом питании и умеренном дефиците лизина, по-видимому, экзоэнергетичны, что в итоге создаёт условия для более эффективного использования энергии корма на продукцию.

Ответить на вопрос, какую функциональную нагрузку несет неоднозначность трансляции (ошибочный синтез белков), в настоящее время трудно. Мы до сих пор не знаем многих весьма важных деталей в работе аппарата белкового синтеза. Такие проблемы, как относительные частоты использования кодонов-синонимов у различных организмов, дублирование генов для различных классов тРНК, функциональное значение различных белков в рибосомах, механизм работы аминокил-тРНК синтетаз, и многие другие сейчас лишь затронуты в экспериментальных исследованиях.

Чтобы описать возможные последствия поливариантности белкового синтеза в более или менее строгой форме, необходимы подробные сведения о процессе трансляции. Сейчас можно высказать лишь некоторые предположения в общей форме. Представляется допустимым рассматривать *поливариантность как адаптивный признак* (подобно тому, что фактически адаптивным признаком являются ошибки репликации — мутации, источник наследственной изменчивости). Возникновение серии

близкородственных белков в результате «ошибок» трансляции может служить для расширения нормы реакции клетки [5, 91, 92].

10. Перспективные методические разработки биологических маркёров генетико-физиологического статуса животных. Большое значение для практического использования данных о стабильности РНК имеет разработка простых, но эффективных методов оценки времени её полужизни. На растительных и животных объектах было показано, что рециклика (повторное нанесение на колонку) в ходе аффинной хроматографии на полиг-(У)-сефарозе (рис. б) или инкубация водного препарата РНК, выделенного из тканей в присутствии катионов магния в экстрагирующем буфере, приводит к дифференциальному магний-зависимому распаду РНК *in vitro*, аналогично закономерностям деградации РНК *in vivo* [93, 94].

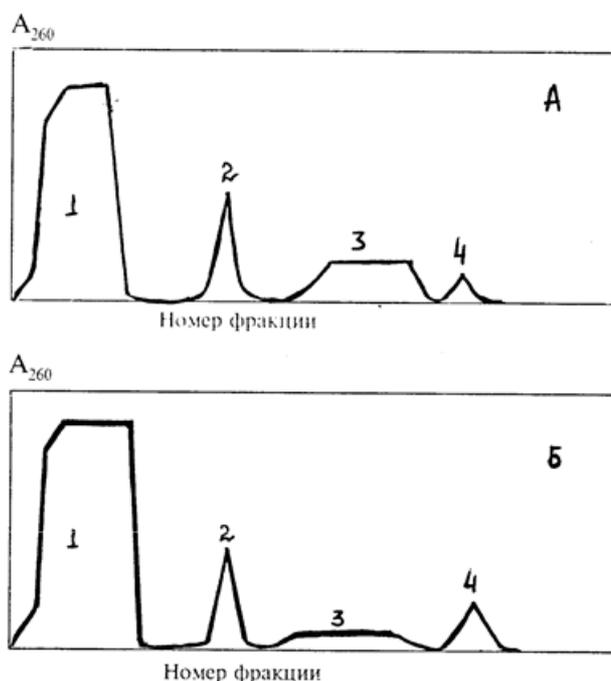


Рис 6. Схема влияния диет кормления на результаты аффинной хроматографии Mg^{++} -содержащей РНК из печени крыс на колонке поли-(У)-сефарозы [95].
 А – имбаланс по триптофану;
 Б – контроль (диета, сбалансированная по аминокислотам);
 1 - рРНК; 2 - поли(А)⁺мРНК; 3 - рРНК и продукты деградации мРНК; 4 - поли(А)⁺⁺мРНК
 A₂₆₀ - поглощение при 260 нм.

Метод позволил развить молекулярно-кинетические (биологические) маркёры особенностей взаимодействия «генотип-среда» и изучить влияние различных факторов внешней (свет, температура, стресс-факторы) и внутренней (гормоны, биологически активные вещества) среды на стабильность суммарной поли-(А)-содержащей мРНК и индивидуальных ген-специфических мРНК в относительно простых экспериментах [94-101]. В частности, было показано, что питание животных кормами, не сбалансированными по лизину и триптофану, приводит к дестабилизации суммарной поли-(А)-содержащей мРНК и ряда ген-специфических мРНК (рис. 6) [101, 102].

Вместе с тем, поиск простого метода оценки кругооборота РНК без вмешательства в организм (неинвазивного метода) показал, что анализ содержания модифицированных (метилированных) нуклеозидов и оснований нуклеиновых кислот в моче позволяет эффективно изучать кругооборот не только мРНК, но и рРНК и тРНК всего организма в целом.

На первых этапах исследований было показано наличие тесной взаимосвязи между нормой метаболизма покоя и стабильностью мРНК, тРНК и рРНК всего тела ряда животных (мышей, крыс, свиней, хомяков) а также тела человека разного возраста и пола. Schoch G. с соавторами были пионерами исследований в этом направлении в течение многих лет. Они детально описали эту методологию [103], открывающую широкие перспективы как в исследовании регуляции метаболизма человека и животных под влиянием питания, физических нагрузок и стрессов, так и для диагностики ряда заболеваний, в первую очередь – онкогенеза [67, 103, 104].

Минорные нуклеозиды, пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, входят в молекулы природных нуклеиновых кислот в относительно небольших количествах. В отличие от наиболее распространённых нуклеозидов (аденозина, гуанозина, уридина, тимидина и цитидина) они

содержат модифицированные гетероциклические основания и (или) остатки рибозы или дезоксирибозы.

Минорные нуклеозиды обнаружены практически во всех нуклеиновых кислотах. Наиболее высокое содержание минорных нуклеозидов наблюдается у эукариотических тРНК, у которых доля минорных нуклеозидов достигает 20-25% от общего количества нуклеозидов. Значительно меньше (1-2%) минорных нуклеозидов в рРНК. Ещё меньше в мРНК, однако, мРНК цитоплазмы эукариот обязательно имеют на 5'-конце структуру, состоящую из метилированного гуанина - "кэп", который присоединяется к нативной молекуле посттранскрипционно (7-метилгуанозин).

Минорные нуклеозиды в рРНК, по-видимому, участвуют в приобретении молекулой конформации, необходимой для взаимодействия с рибосомными белками. В мРНК 7-метилгуанозин кэпа взаимодействует с поли-А-хвостом, замыкая молекулу в кольцо, конформацию, необходимую для трансляции мРНК.

Принципиально важным является то, что в отличие от обычных аналогов модифицированные нуклеозиды и основания нуклеиновых кислот не подвергаются катаболизму и выводятся из организма с мочой. Идентификация и определение их содержания в моче может быть определено различными современными аналитическими методами: иммунными исследованиями (ELISA), высокоэффективной ионообменной жидкостной хроматографией, масс-спектрометрией, капиллярным электрофорезом.

Моча содержит около 20 модифицированных нуклеозидов и оснований нуклеиновых кислот из 93-х модифицированных и минорных

нуклеозидов, образующихся в результате распада РНК в живой клетке. Наибольшее содержание и разнообразие характерно для тРНК: 79 различных модификаций. Предшественники рРНК содержат 28 модификаций, а мРНК и малая ядерная РНК – 12 и 11, соответственно [104].

Таким образом, исследования модифицированных нуклеозидов мочи могут дать ценнейшую информацию об особенностях регуляции экспрессии генов в ходе развития и роста всего организма человека и животных при различных болезнях и стрессовых воздействиях, в том числе и при аминокислотном имбалансе.

11. Биологические маркёры роста животных при аминокислотном имбалансе. Представляется вероятной цепь следующих событий, для описания перестройки экспрессии генов в адапционном плане [5]: в условиях имбаланса аминокислот в клетках животных повышается активность РНК-аз, которая в первую очередь подавляет синтез гипотетических белков-репрессоров (или РНК-интерференции - iRNA), продуктов генов-регуляторов, мРНК которых относится к группе короткоживущих и которые в норме снижают время жизни мРНК клеток эукариот. В результате предполагается стабилизация мРНК и стимуляция синтеза белков ряда структурных генов, изначально имеющих относительно стабильные мРНК, и подавление синтеза белков, изначально имеющих относительно короткоживущие мРНК (соразмерные по времени жизни с РНК генов-репрессоров). Всё это приводит к перестройке популяции мРНК и изменяет экспрессию генов в адапционном плане (рис. 7)

При этом прямая зависимость между ростом животных и концентрацией суммарной РНК в печени и мышцах наблюдается лишь при сравнении показателей у животных на низкобелковой, недостаточной по лизину и на высокобелковой скорректированной по аминокислотам диетах. Такой зависимости нет при имбалансе. Животные при имбалансе по триптофану росли намного хуже по сравнению с животными, получавшими скорректированную диету. В то же время по концентрации РНК в печени за весь период опытов и в мышцах достоверных различий между ними не было отмечено.

Количественное соотношение РНК и ДНК в тканях, как правило, положительно коррелирует со скоростью роста организма [108]. Однако при имбалансе аминокислот эта закономерность не выдерживается.

Этот факт подтверждается и некоторыми литературными данными. Показано, что более активный синтез РНК в ядрах печени крыс при имбалансе лизина (20% глютена) сопровождался замедленным её выходом в цитоплазму, а при кормлении крыс диетой с имбалансом по триптофану включение меченой аминокислоты в белки печени и мышц было почти в 2 раза выше, чем на основной и скорректированной диетах, наблюдалось более активное включение меченого фенилаланина в белки мышц (но не печени) крыс на диете без лизина, чем на диете без триптофана, но при этом не обнаружено достоверных различий по количеству рРНК на грамм печени у животных на казеиновых и глютеиновых рационах, несмотря на значительно лучший рост и более активное включение меченой аминокислоты в белки печени и мышц крыс на казеиновом рационе. Кроме того, показано, что концентрация РНК на грамм печени крыс на безтриптофановом рационе не снижается и

усиливается синтез РНК в печени у крыс на рационе с зеином, лишённого лизина и триптофана [5]. Это может свидетельствовать о наличии более активного синтеза белков при имбалансе и необходимости высокой концентрации РНК.

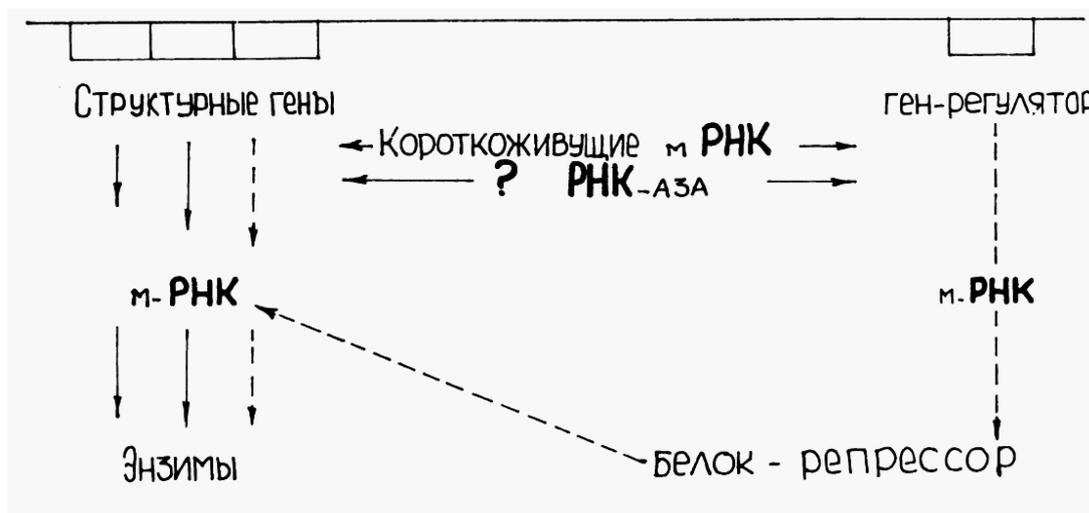


Рис 7. Гипотетическое схема регуляции экспрессии генов эукариот на посттранскрипционном уровне через дифференциальную стабильность мРНК [105].

Схема основана на гипотезе Гордона Томкинса [106, 107], согласно которой распад короткоживущей мРНК (пунктир) гена-регулятора, приводит к стабилизации многих специфических мРНК (сплошные линии) структурных генов, что часто наблюдают исследователи при блокаде транскрипции актиномицином Д. Предполагается, что повышенный уровень активности РНКаз может воздействовать на гетерогенную по стабильности популяцию мРНК сходным образом. С современной точки зрения продуктами генов-регуляторов могут быть РНК-интерференции (RNAi), определяющие распад мРНК ряда белков [].

По-видимому, в печени животных, получавших диеты с имбалансом, происходит как активный синтез, так и деградация белка. Сохранение или даже повышение концентрации РНК, вероятнее всего, связано с необходимостью интенсивного синтеза ферментов деградации излишних аминокислот, а также ферментов глюконеогенеза.

Наряду с повышением общего содержания РНК, аминокислотный имбаланс вызывает повышение активности рибонуклеаз (РНКаз) в животных тканях [109]. Интересно отметить, что в физиологической зоне стресса (закаливающая зона стресса) у высших растений также наблюдается парадоксальное увеличение количества РНК при усилении активности РНКаз, аналогичная картина – увеличение количества РНК в клетках при более высокой активности РНКаз – наблюдается и в созревающем зерне кукурузы, мутантной по регуляторному гену *opaque-2* (высоколизиновая кукуруза) [65]. При этом во всех случаях наблюдается негативное действие повышенной активности РНКаз на популяцию молекул мРНК.

В результате изучения влияния имбаланса по лизину и триптофану на коэффициент активности генома - РНК/ДНК - в клетках печени и мышц крыс установлено, что эта расчётная величина, обычно рассматриваемая как показатель активности транскрипции, не коррелирует с изменением роста животных.

Наиболее интересным показателем, связывающим особенности белоксинтезирующего аппарата подопытных животных и их роста, оказался индекс стабильности матричных РНК (ИС), рассчитываемый по результатам двуциклической афинной хроматографии поли-(А)-содержащей мРНК на поли-(У) сефарозе, как процент поли-(А)⁺⁺ мРНК второго цикла хроматографии от поли-(А)⁺ мРНК первого цикла (рис. 6), или как показатель степени полиаденилирования мРНК: $(A)_n^{65\%}/(A)_n^{35\%}$. Эти параметры характеризуют потенциальную эффективность экспрессии генов в зависимости от генотипа и аминокислотной сбалансированности питания. Как было показано, величина ИС, определяемая степенью полиаденилирования мРНК, отражает интенсивность роста животных: чем выше значение ИС, тем выше аппетит животного и интенсивнее его рост

[65]. Аналогичные закономерности связи стабильности мРНК и роста были выявлены и для растений [5].

12. О взаимоотношении стабильности рибосомной и матричной РНК. Обязательным условием стабилизации нативной структуры рРНК является наличие в ней катионов магния, которые оказывают негативное влияние на степень полиаденилирования мРНК. Анализ литературных экспериментальных данных показывает, что количество магния в клетках эукариот прямо пропорционально стабильности рРНК и обратно пропорционально стабильности мРНК [5, 65].

При изучении печени и мускулов цыплят-бройлеров было установлено, что мускулы содержат в 2,5 раза больше катионов магния, чем печень. Имбаланс по лизину повышал содержание катионов магния в печени на 20-30% и практически не влиял на его содержание в мускулах. Чем меньше магния содержат клетки, тем интенсивнее рост эукариот [110].

Анализ литературных данных показывает, что снижение роста крыс при аминокислотном имбалансе часто сопровождается увеличением содержания РНК (основная масса которой представлена рРНК) печени и дестабилизацией мРНК, составляющей всего лишь 1-2% от суммарной РНК. Но именно мРНК определяет возможности биосинтеза белка и потому её стабильность и содержание положительно взаимосвязаны с ростом животных.

Включение в безаминокислотный перфузирующий раствор лейцина способствовало двукратному снижению распада РНК печени. Этот антидеградационный эффект лейцина превышал таковой инсулина. Включение в перфузию глюкагона ускоряло деградацию РНК [111].

Инверсия направленности стабилизации и дестабилизации мРНК и рРНК были отмечены в ряде исследований. Установлено, что в полирибосомах десяти различных злокачественных тканей содержание

магния оказалось на 30-50% ниже по сравнению с таковыми нормальных клеток, что сопровождается усилением оборота рРНК от 2,4% до 3,6%, т.е. происходит снижение стабильности рРНК. При этом стабильность мРНК в опухолевых клетках выше, чем в нормальных [5].

Противоположные колебания стабильности рРНК и мРНК наблюдали также при сравнительных исследованиях модифицированных нуклеозидов мочи здоровых детей и педиатрических пациентов с черепно-мозговой травмой головы [103]. В подобных экспериментах также установлено, что уровень деградации рРНК на килограмм массы тела выше на 24% у мужчин по сравнению с женщинами во всех возрастных группах; в противоположность этому, уровень распада мРНК был немного выше у женщин, чем у мужчин [104].

Показано, что если личинки *Drosophila melanogaster* находятся на оптимальной для роста среде, рРНК разрушается с периодом полужизни 48 ч. Однако, если личинки находятся на среде замедляющей рост и развитие период полужизни рРНК возрастает до 115 ч. Вместе с тем, рост животных и растений, как правило, прямо пропорционален стабильности мРНК [65]

На инверсии стабильности мРНК и рРНК и вариациях содержания катионов магния в РНК основан гипотетический молекулярный механизм морозоустойчивости озимой мягкой пшеницы [65]. Вместе с тем, литературные данные о содержании катионов магния в зерне свидетельствуют в пользу вывода о том, что морозоустойчивость в целом обратно пропорциональна содержанию катионов магния в зерне. Так, сравнительно слабо морозоустойчивый ячмень содержит 180, более морозоустойчивая пшеница – 157, а высоко морозоустойчивая рожь – 92 мг магния на 100 г сухого вещества зрелого зерна [112]. Аналогичную инверсию стабильности мРНК и рРНК наблюдали и при воздействии на проростки пшеницы биологически активным веществом «фуролан» [113].

В связи с этим представляется понятным факт, отмеченный в научной литературе: денситометрический анализ рРНК по отношению 28S рРНК/18S рРНК в препарате высокополимерной РНК не может быть критерием качественного состояния мРНК, т.е. рРНК и мРНК имеют разные механизмы деградации. Это хорошо иллюстрируется экспериментами по изучению влияния концентрации рРНК и мРНК на их распад в водном препарате Mg^{++} -содержащей РНК при его инкубации в условиях положительных температур (37°; 65°С – система *оттп*): разбавление концентрации РНК снижало степень распада рРНК, но никак не сказывалась на интенсивности распада ряда ген-специфических мРНК [65]. Вероятно, это обусловлено наличием у рРНК наряду с прочно связанными катионами магния и диффузно (слабо) связанных с молекулой катионов Mg^{++} , в то время как мРНК имеет только прочносвязанные катионы магния.

Таким образом, можно полагать, что центральным молекулярным механизмом перестройки метаболизма животных при аминокислотном имбалансе является разнонаправленное изменение стабильности рРНК и мРНК. Дестабилизация мРНК приводит к дезагрегации полирибосом и таким образом затрудняет синтез белка, приводит к снижению роста животных. Стабилизация рРНК, по-видимому, направлена на противодействие этому негативному процессу с целью повышения жизнеспособности организма в стрессовых условиях через обеспечение короткоживущей мРНК избытком рибосом.

Этот вывод согласуется с хорошо изученным молекулярным механизмом влияния аминокислотного имбаланса на активацию системы mTOR (mammalian target of rapamycin), включающей каскад фосфорилирования ряда белков, и приводящей, в конечном итоге, к усилению синтеза рибосомных белков, через повышение уровня трансляции соответствующих им мРНК (рис. 4) [38, 42].

Следовательно, аминокислотный имбаланс включает феномен реализации физиологического резервирования (использование скрытых ресурсов организма) через усиление образования рибосом.

II. Влияние имбаланса аминокислот на время жизни животных

В 1934-1943 гг. К.М. МакКей, Т.Б. Робертсон с сотрудниками сообщили об увеличении продолжительности жизни крыс и мышей посредством некоторого ограничения их питания. Это ограничение, введенное на ранних этапах жизни, вначале приводило к задержке роста животных. Затем, когда ограничение питания снималось, животные быстро увеличивались в размерах до нормы, но жили дольше на 70% (самцы) и 48% (самки), чем те, что всю жизнь получали пищу *ad libitum*.

В дальнейшем благоприятное действие некоторого ограничения питания на продолжительность жизни было продемонстрировано у самых разных видов эукариот: от дрожжей до макак-резусов и людей. Среди причин смерти резко уменьшался вклад остеопороза, лёгочных инфекций и некоторых опухолей (уменьшение вдвое смертей от рака), исчезал из списка причин смертей диабет, уменьшалось число смертей от сердечно-сосудистых заболеваний, отсутствуют болезни зрительного аппарата, не происходит поседения и выпадения волос. Животные-долгожители выглядели проворными и молодыми независимо от возраста [114, 115].

Вместе с тем, описанный эффект зависел от длительности ограничения питания. Положительное влияние оказывало кратковременное воздействие (пост), при более длительном ограничении питания наблюдается торможение заживления ран, снижение температуры тела и замедление роста животного.

Как показали исследования, в эффект ограничения питания вносят вклад как углеводный, так и белковый его компоненты. При этом за действие белков отвечает единственная аминокислота – метионин,

который относится к группе незаменимых аминокислот. Оказалось, что не только продление жизни, но и уменьшение генерации активных форм кислорода (АФК) митохондриями и окислительного повреждения митохондриальной ДНК имитируется диетой, где белок был заменён смесью аминокислот, из которой исключён метионин [115, 116]

Вместе с тем, имбаланс по метионину не влиял на привесы животных (крысы) и практически не менял трансляционную активность полирибосом печени *in vitro*, в бесклеточной системе синтеза белка [5].

III. Заключение

Анализ результатов исследований свидетельствуют о весьма сложном молекулярном механизме регуляции аппетита, а также неравнозначности биохимических и нейрологических реакций и взаимодействий при разных условиях баланса аминокислот в питании животных. Аминокислотный имбаланс включает феномен реализации физиологического резервирования (использование скрытых ресурсов организма) через усиление образования рибосом, что является следствием каскада изменений в молекулярной биологии организма животного и при этом наблюдается ряд терапевтических и геронтологических эффектов, имеющих прикладное значение.

Одним из возможных молекулярных механизмов положительного терапевтического влияния имбаланса может быть связан с тем, что несбалансированность белка по незаменимым аминокислотам приводит к повышению уровня активности РНКаз, которые, воздействуя на гетерогенную по стабильности популяцию мРНК клеток животных, могут вызвать парадоксальный эффект усиления синтеза определённых белков при общей дисгармонии метаболизма.

Примером могут быть мРНК генов *c-myc* и *c-fos*, стабилизация короткоживущих мРНК которых приводит к онкологическим

заболеваниям. Имбаланс по аминокислотам, как сказано выше, существенно снижает риск онкологических заболеваний, как и обработка тканей панкреатической РНКазой, с переменным успехом применявшейся для терапии рака.

В 2013 году исполняется 60 лет самому главному событию в биологии XX века – рождению молекулярной биологии [117]. Эта наука триумфально постигла суть реализации генетической информации в морфологические и физиологические особенности организмов [118]. В настоящее время молекулярные биологи подступили к изучению сакральных закономерностей формирования эффекта взаимодействия «генотип-среда», важнейшим проявлением которого являются особенности экспрессии генов животных в условиях аминокислотного имбаланса.

Исследования в этом направлении важны, как для получения новых фундаментальных знаний о путях регуляции экспрессии генов, так и для разработки новых молекулярно-биологических маркёров и методов оценки генетико-физиологического статуса животных и разработки на их основе научно-обоснованных норм питания. Это позволит управлять индивидуальным развитием животного организма, корректировать его хозяйственно важные показатели.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bruhat A., Jousse X., Wang X.Z., Ron D., Ferrara M., Fafournoux P. Amino acid limitation induces expression of CHOP and CCAAT/enhancer binding protein-related gene, at both transcriptional and posttranscriptional levels // *Biol. Chem.*, 1997, V. 272, P. 17588-17593. .
2. Kilberg M.S., Pan Y-X., Chen H., Pineda L. Nutritional control of the gene expression: how mammalian cells respond amino acid limitation // *Annu. Rev. Nutr.*, 2005, 25, P. 59-85.
3. Bruhat A., Jousse C., Fafournoux P. Amino acid regulates gene expression // *Proceedings of the Nutr. Society*, 1999, V. 58, N 3, P. 1-10.
4. Плотников В.К. Биология РНК зерновых культур, Краснодар, Издательство «Эдви», 2009, 375 с.
5. Плотников В.К. Стабильность мРНК как фактор регуляции экспрессии генов в клетках эукариот // *Успехи современной биологии*. 1992. Т. 112. вып. 2. С. 186-199.

6. Grimble G.K., Malik S.B., Boza J.J. Method for measuring tissue RNA turnover//Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2000. v. 3, P.399-408.
7. Kay J. Intracellular protein degradation // Biochem. Rev., 1978, V. 6, P. 789-797.
8. Fafournoux P., Bruhat A., Jousse C. Amino acid regulation of gene expression // Biochem. J., 2000, V. 351, P. 1-12.
9. Bahar B., Monahan F.J., Moloney A., Schmidt O., MacHugh D.E., Sweeney T. Long-term stability of RNA in post-mortem bovine skeletal muscle, liver and subcutaneous adipose tissues // BMC Molecular Biology. 2007. V. 8. P. 108-120.
10. Насонов А.И., Степанов И.В., Евтушенко Я.Ю., Плотников В.К. Дифференциальная стабильность 25S и 18S рибосомной РНК растений // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2012, 5 (38), с.123-127.
11. Grandison R.C., Piper M.D., Partridge L. Amino-acid imbalance explains extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila* // Nature, 2009, V. 24, N 462 (7276), P. 1061-1064.
12. Venkov P.V., Hadjiolov A.A. Differential stability of 28S and 18S rat liver ribosomal ribonucleic acids // Biochem. J. 1969. V. 115. P. 91-94.
13. Чирков Г.П., Бойков П.Я., Дружинина М.К., Годоров И.Н. Деградация 18S и 28S-рибосомных РНК в цитоплазме клеток печени крыс при подавлении синтеза белков // Биохимия. 1983. Т.48. С. 1157-1162.
14. Zacharias M., Theissen G., Bradachek C., Wagner R. Analysis of sequence elements important for synthesis and control of ribosomal RNA in *E. coli*. Biochimie, 1991, V. 73, P. 699-712.
15. Спиринов А.С. Регуляция трансляции мРНК-связывающими факторами у высших эукариот// Успехи биологической химии. – М., 1996.-Т.36.- С. 3-48.
16. 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.
17. Шахонг Сан, Хуей Ксай, Йен Сан, Джинг Сонг, Жи Ли. Характеристика молекулярной структуры вырезаемого участка 28S рРНК креветки // Биохимия, 2012, т. 27, в. 6, с. 713-720.
18. Hollams E.M., Giles K.M., Thompson A.M., Leedman P.J. mRNA Stability and the Control of Gene Expression: Implications for Human Disease // Neurochem. Res., 2002, V. 27, P. 957-980.
19. 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.
20. Yaman I., Fernandes J., Sarkars B., Schneiders R.J., Snider M.D., Nagy L.E., Hatzoglou M. Nutritional control of mRNA stability is mediated by a conserved AU-rich element that binds the cytoplasmic shuttling protein HuR // The journal of Biological Chemistry, 2002, 277, P. 41539-41546.
21. Сидорин В.В. Пищевая геномика и пищевая регуляция экспрессии генов// WWW MGIMO.RU
22. Kimball S.R., Jefferson L. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation // Am. J. Nutr. 2006. V. 83. P. 500-507.
23. Park B-Ch. Amino acid imbalance – biochemical mechanism and nutritional aspects // Asian-Aust. J. Anim. Sci., 2006, V. 19, P. 1361-1368.
24. Osawa Y., Kanamori H., Seki E., Hoshi M., Ohtaki H., Yasuda Y., Ito H., Suetsugu A., Nagaki M., Moriwaki H., Saito K., Seishima M. L-tryptophan-mediated enhancement of susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease is dependent on the mammalian target of rapamycin // J. Biol. Chem., 2011, V. 286 (40), P. 34800-34508.

25. Nagaо K., Bannat M., Seki Sh., Kawai N., Mori M., Takabashi M. Voluntary wheel running is beneficial to the amino acid profile of lysine-deficient rats // *Am.J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2010, V. 298, P. 1170-1178.
26. Tesseraud S., Bouvarel I., Collin A., Audouin E., Chrochet S., Seilies I., Leterrier Ch. Daily Variations in Dietary Lysine Content Alter the Expression of Genes Related to Proteolysis in Chicken Pectoralis major Muscle // *J. Nutr.*, 2009, V. 139, N 1, P. 38-43.
27. Lansard M., Panserat S., Plagnes-Juan E., Dias K., Seilies I., Cassy S.S. L-Leucine, L-Methionine, and L-Lysine Are Involved in the Regulation-of Intermediary Metabolism-Related Gene Expression in Rainbow Trout Hepatocytes // *J. Nutr.*, 20011, v. 141, N 1, P. 75-80.
28. Yi-Ming Chang, Hen-Wei Wei The effects of Dietary Lysine Deficiency on Muscle Protein Turnover in Postweanling Pigs // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2005, V. 18, N 9, P. 1326-1335.
29. Rosebrough R.W., Richards M.P., McMurtry J.P. Rapid dietary protein changes, enzyme activities, mRNAs and plasma hormones in the broiler chicken // *Avian Biology Research*, 2010, V. 3, N 1, P. 7-9.
30. 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.
31. Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. Генетический контроль синтеза белка. Л.: ЛГУ, 1988. 296 с.
32. Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel // *Plant Molecular Biology*. 1996. V.31. P. 507-515.
33. Плотников В.К. Генетико-физиологическая детерминация распада мРНК злаков *in vitro* // *Успехи современной биологии*. 2003. Т. 123. № 1. С. 98-109.
34. Полежаев С.Л. Регуляция стабильности мРНК при балансе и имбалансе лизина и триптофана в рационах моногастричных животных // Автореф. дисс. на соиск. ст. канд. биол. наук, Боровск, 2009, 21 С.
35. Плотников В.К., Бакалдина Н.Б. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов: изучение дифференциального распада мРНК растений *in vivo* и *in vitro* // *Генетика*, 1997, Т. 33, № 3, С. 343-349.
36. Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Новиков Б.Н., Алексеенко Ж.В. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов растений: ряды индексов стабильности специфических мРНК *in vivo* и *in vitro* // *Генетика*, 1998, Т. 34., № 7, С. 869-875.
37. Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Новиков Б.Н., Алексеенко Ж.В., Бибишев В.А., Полежаев С.Л., Рядчиков В.Г. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов эукариот: влияние стрессов на стабильность мРНК *in vitro* // *Генетика*. 1998, Т. 34. № 9. С. 1205-1211.
38. Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Сметанин Д.В. Фотоиндуцированная модуляция стабильности мРНК фитохрома А у проростков пшеницы и ячменя // *Физиология растений*. 2000. Т. 47. № 2. С. 203-209.
39. 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.
40. Полежаев С.Л., Омаров М.О., Рядчиков В.Г., Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Бибишев В.А., Новиков Б.Н., Алексеенко Ж.В. Влияние качества аминокислотного питания на стабильность мРНК животных // *Сб. науч. тр. РАСХН "Проблемы*

- повышения качества зерна пшеницы и других зерновых культур”. Москва. 1998. С. 248-255.
41. Полежаев С.Л., Омаров М.О., Рядчиков В.Г., Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Бибишев В.А. Молекулярно-биологические аспекты действия имбаланса незаменимых аминокислот на моногастричных животных // Сб. науч. тр. СКНИИЖ “Научные основы ведения животноводства и кормопроизводства”. Краснодар. 1999. С. 345-354.
 42. Topp H., Schöch G. Whole-body degradation rates of transfer-, ribosomal-, and messenger ribonucleic acids and resting metabolic rate in 3- to 18-year-old humans // *Pediatric Res.* 2000. V. 47. P. 163-175.
 43. Плотников В.К., Артемьева Н.К. Модифицированные нуклеозиды мочи как маркёры особенностей метаболизма // Материалы научной и научно-методической конференции проф-преподавательского состава КГУФКСТ.- Краснодар: 2012.- С.167-172.
 44. Плотников В.К., Рядчиков В.Г., Филичкин С.А., Неудачин В.П., Филипас Т.Б., Долгих Ю.Р. К выяснению причин перераспределения белковых фракций в эндосперме кукурузы opak-2 // *Физиология и биохимия культурных растений.* 1984. Т.16. С. 59-66.
 45. Tomkins G.M., Gelehrter T.D., Granner D., Martin D., Samuels H.H., Thompson E.B. Control of Specific Gene Expression in Higher Organisms // *Science.* 1969. V. 166. № 3912. P. 1474-1480.
 46. Tomkins G.M., Levinson B.B., Baxter G.D., Dethlifsens L. Further Evidence for Posttranscriptional Control of Inducible Tyrosine Aminotransferase Synthesis in Cultured Hepatoma Cells // *Nature New Biology.* 1972. V. 239. № 6. P. 9-14.
 47. Wang H., Lu D., A study on the optimal amino acid pattern at the proximal duodenum in growing sheep // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2002. V. 15. No 14. P. 38-44.
 48. Омаров М.О. Динамика содержания нуклеиновых кислот и активность РНК-аз печени крыс при имбалансе аминокислот // *Повышение продуктивности свиноводства на Северном Кавказе: Сборник научных трудов КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко и Северо-Кавказского НИИ животноводства.* Краснодар, 1986, С. 127-132 .
 49. 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.
 50. Benevenga N.G., Vlemings K.P. Unique aspects of lysine nutrition and metabolism // *J. Nutr.,* 2007, V. 237, P. 1610-1615.
 51. Насонов А.И., Евтушенко Я.Ю., Серкин Н.В., Плотников В.К. Особенности состава зерна среднemosозустойчивых сортов ячменя // *Труды Кубанского государственного аграрного университета,* 2012, Т. 1, № 38, С. 104 – 106.
 52. Насонов А.И., Гаража В.В., Кузембаева Н.А., Ненько Н.И., Плотников В.К. Взаимоотношения стабильности матричной и рибосомной РНК в созревающем зерне озимой пшеницы под влиянием фуrolана // "Биология - наука XXI века", 10-я международная Пущинская конференция молодых ученых 18-22 апреля 2006, Пущино-2006, С. 386.
 53. McCormick M.A., Shin-yin Tsai, Kennedy B.K. TOR and ageing: a complex pathway for a complex process // *Phil. Trans. R. Soc.,* 2011, V. 366, N 1561, P. 17-27.
 54. Скулачев В.П. Что такое фенотоз и как с ним бороться? // *Биохимия,* 2012, Т. 77, №7, С. 827-846.

55. Baracos E., Mackenzie M.L. Investigations of Branched-Chain Amino Acid and Their Metabolites in Animal Models in Cancer // *J. Nutr.*, 2006, V. 136, P. 237-242.
56. Watson J.D., Crick F.H.C. A structure of deoxyribose nucleic acids // *Nature*, 1953, V. 171, P.737-738.
57. Плотников В.К. Самое главное событие в биологии XX века // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 2013, V.9, N 2, P. 5-14..

REFERENCES

1. Bruhat A., Jousse X., Wang XZ, Ron D., Ferrara M., Fafournoux P. Amino acid limitation induces expression of CHOP and CCAAT / enhancer binding protein-related gene, at both transcriptional and posttranscriptional levels // *Biol. Chem.*, 1997, V. 272, P. 17588-17593. .
2. Kilberg M.S., Pan Y-X., Chen H., Pineda L. Nutritional control of the gene expression: how mammalian cells respond amino acid limitation // *Annu. Rev. Nutr.*, 2005, 25, P. 59-85.
3. Bruhat A., Jousse C., Fafournoux P. Amino acid regulates gene expression // *Proceedings of the Nutr. Society*, 1999, V. 58, N 3, P. 1-10.
4. Plotnikov VK RNA biology of crops, Krasnodar, Publisher "Edwy", 2009, 375 p.
5. Plotnikov VK MRNA stability as a factor in the regulation of gene expression in eukaryotic cells // *successes of modern biology*. 1992. T. 112. no. 2. Pp. 186-199.
6. Grimble G.K., Malik S.B., Boza J.J. Method for measuring tissue RNA turnover // *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2000. v. 3, P.399-408.
7. Kay J. Intracellular protein degradation // *Biochem. Rev.*, 1978, V. 6, P. 789-797.
8. Fafournoux P., Bruhat A., Jousse C. Amino acid regulation of gene expression // *Biochem. J.*, 2000, V. 351, P. 1-12.
9. Bahar B., Monahan FJ, Moloney A., Schmidt O., MacHugh DE, Sweeney T. Long-term stability of RNA in post-mortem bovine skeletal muscle, liver and subcutaneous adipose tissues // *BMC Molecular Biology*. 2007. V. 8. P. 108-120.
10. Nasonov AI Stepanov IV, Yevtushenko Ya.Yu., Plotnikov VK Дифференциальная стабильность 25S и 18S рибосомальной РНК растений // *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*, 2012, 5 (38), p.123-127.
11. . Grandison R.C., Piper M.D., Partridge L. Amino-acid imbalance explains extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila* // *Nature*, 2009, V. 24, N 462 (7276), P. 1061-1064.
12. Venkov P.V., Hadjiolov A.A. Differential stability of 28S and 18S rat liver ribosomal ribonucleic acids // *Biochem. J.* 1969. V. 115. P. 91-94.
13. Teal GP, PY Boykov, Druzhinina MK, Todorov I. Degradation of the 18S and 28S-ribosomal RNA in the cytoplasm of rat liver cells in the suppression of protein synthesis // *Biochemistry*. 1983. V.48. Pp. 1157-1162.
14. Zacharias M., Theissen G., Bradachek C., Wagner R. Analysis of sequence elements important for synthesis and control of ribosomal RNA in *E. coli*. *Biochimie*, 1991, V. 73, P. 699-712.
15. AS Spirin Regulation of translation of mRNA-binding factors in higher eukaryotes // *Success of biological chemistry*. - M., 1996.-T.36. - S. 3-48.
16. 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.
17. Shahong Sun, Huey Ksay Ian Sun, Jing Song, Ji Li. Characterization of the molecular structure cut out portion of 28S rRNA shrimp // *Biochemistry*, 2012, vol 27., 6, p. 713-720.

18. Hollams EM, Giles KM, Thompson AM, Leedman PJ mRNA Stability and the Control of Gene Expression: Implications for Human Disease // *Neurochem. Res.*, 2002, V. 27, P. 957-980.
19. Fialcowitz EJ, Brewer BY, Keenan BP, Wilson GM 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. 22,406 - 22,417.
20. Yaman I., Fernandes J., Sarkars B., Schneiders RJ, Snider MD, Nagy LE, Hatzoglou M. Nutritional control of mRNA stability is mediated by a conserved AU-rich element that binds the cytoplasmic shuttling protein HuR // *The journal of Biological Chemistry*, 2002, 277, P. 41539-41546.
21. Sidorin VV Nutritional genomics and nutritional regulation of gene expression // WWW MGIMO.RU
22. Kimball S.R., Jefferson L. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation // *Am. J. Nutr.* 2006. V. 83. P. 500-507.
23. Park B-Ch. Amino acid imbalance - biochemical mechanism and nutritional aspects // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2006, V. 19, P. 1361-1368.
24. Osawa Y., Kanamori H., Seki E., Hoshi M., Ohtaki H., Yasuda Y., Ito H., Suetsugu A., Nagaki M., Moriwaki H., Saito K., Seishima M. L-tryptophan-mediated enhancement of susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease is dependent on the mammalian target of rapamycin // *J. Biol. Chem.*, 2011, V. 286 (40), P. 34800-34508.
25. Nagao K., Bannat M., Seki Sh., Kawai N., Mori M., Takabashi M. Voluntary wheel running is beneficial to the amino acid profile of lysine-deficient rats // *Am.J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2010, V. 298, P. 1170-1178.
26. Tesseraud S., Bouvarel I., Collin A., Audouin E., Chrochet S., Seilies I., Leterrier Ch. Daily Variations in Dietary Lysine Content Alter the Expression of Genes Related to Proteolysis in Chicken Pectoralis major Muscle // *J. Nutr.*, 2009, V. 139, N 1, P. 38-43.
27. Lansard M., Panserat S., Plagnes-Juan E., Dias K., Seilies I., Cassy SS L-Leucine, L-Methionine, and L-Lysine Are Involved in the Regulation-of Intermediary Metabolism-Related Gene Expression in Rainbow Trout Hepatocytes // *J. Nutr.*, 20011, v. 141, N 1, P. 75-80.
28. Yi-Ming Chang, Hen-Wei Wei The effects of Dietary Lysine Deficiency on Muscle Protein Turnover in Postweanling Pigs // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2005, V. 18, N 9, P. 1326-1335.
29. Rosebrough R.W., Richards M.P., McMurtry J.P. Rapid dietary protein changes, enzyme activities, mRNAs and plasma hormones in the broiler chicken // *Avian Biology Research*, 2010, V. 3, N 1, P. 7-9.
30. Keel VI Bibish VA Plotnikov VK Nonspecific increase in translational activity policy seedlings of wheat and barley under stress // *Plant Physiol.* 1991. T. 38. No. 4. S.730-735.
31. Ter-Avanesyan MD, Inge-Vechtomov SG Genetic control of protein synthesis. LA: LSU, 1988. 296 p.
32. Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel // *Plant Molecular Biology.* 1996. V.31. P. 507-515.
33. Plotnikov VK Genetic and physiological determination of mRNA decay grains in vitro // *successes of modern biology.* 2003. T. 123. Number 1. C. 98-109.
34. Polezhaev SL The regulation of mRNA stability and balance imbalanced lysine and tryptophan in the diet monogastric animals // *Author. diss. on soick. Art. Candidate. biol. Science, Borovsk*, 2009, 21 pp.
35. Plotnikov VK, Bakaldina NB Posttranscriptional regulation of gene expression: the study of differential mRNA decay of plants in vivo and in vitro // *Genetics*, 1997, T. 33, № 3, C. 343-349.

36. Plotnikov VK, Bakaldina NB, Boris Novikov, Alekseenko JV Posttranscriptional regulation of plant gene expression: a row index of stability of specific mRNA in vivo and in vitro // Genetics, 1998, 34., № 7, pp. 869-875.
37. Plotnikov VK, Bakaldina NB, Boris Novikov, Alekseenko JV, Bibish VA Polezhaev SL, contractors VG Posttranscriptional regulation of eukaryotic gene expression: the impact of stress on the stability of the mRNA in vitro // Genetics. 1998, v. 34. Number 9. Pp. 1205-1211.
38. Plotnikov VK, Bakaldina NB, DV Smets Photoinduced modulation of mRNA stability of phytochrome A in seedlings of wheat and barley // Plant Physiol. 2000. T. 47. Number 2. Pp. 203-209.
39. Bakaldina NB Alekseenko JV, Plotnikov VK Holodoinducirovannye change alpha subunit mRNA stability translation elongation factor 1 in seedlings of wheat and barley // Plant Physiol. 2001. V. 48, № 6. C. 879-885.
40. Polezhaev SL, Lobster MO contractor VG Plotnikov VK, Bakaldina NB Bibish VA, Novikov BN Alekseenko JV Influence the quality of the amino acid supply on mRNA stability animals // Sat. scientific. mp. RAAS "Problems of improving the quality of wheat and other grains." Moscow. 1998. Pp. 248-255.
41. Polezhaev SL, Lobster MO contractor VG Plotnikov VK, Bakaldina NB, VA Bibish Molecular biological aspects of the imbalanced amino acids on monogastric animals // Sat. scientific. mp. SKNIIZH "The scientific basis of livestock and feed production." Krasnodar. 1999. Pp. 345-354.
42. Topp H., Schöch G. Whole-body degradation rates of transfer-, ribosomal-, and messenger ribonucleic acids and resting metabolic rate in 3 - to 18-year-old humans // Pediatric Res. 2000. V. 47. P. 163-175.
43. Plotnikov VK, N. Artemiev Modified nucleosides urine as markers of metabolic features / Materials of scientific and methodological conference Prof. faculty members KGUFKST. - Krasnodar: 2012. - P.167-172.
44. Plotnikov VK, contractors VG Filichkin SA, Neudachin VP Filipas TB, Long YR To identify the causes redistribution of protein fractions in maize endosperm opaque-2 // Physiology and biochemistry of crop plants. 1984. T.16. Pp. 59-66.
45. Tomkins GM, Gelehrter TD, Granner D., Martin D., Samuels HH, Thompson EB Control of Specific Gene Expression in Higher Organisms // Science. 1969. V. 166. № 3912. P. 1474-1480.
46. Tomkins GM, Levinson BB, Baxter GD, Dethlifsen L. Further Evidence for Posttranscriptional Control of Inducible Tyrosine Aminotransferase Synthesis in Cultured Hepatoma Cells // Nature New Biology. 1972. V. 239. № 6. P. 9-14.
47. Wang H., Lu D., A study on the optimal amino acid pattern at the proximal duodenum in growing sheep // Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2002. V. 15. No 14. P. 38-44.
48. Lobster MO The dynamics of nucleic acids and RNase activity of the liver of rats with imbalanced amino acids // Increased productivity pig in the North Caucasus: Proceedings KNIISKH them. PP Lukyanenko and North Caucasus Research Institute of Livestock. Krasnodar, 1986, C. 127-132.
49. Nasonov AI Polezhaev SL, Radul A., contractor VG Plotnikov VK The relationship of magnesium cations (Mg ++), the stability of the RNA and the intensity of metabolism in the cells of eukaryotes // Proceedings of the Kuban State Agrarian University, 2008, № 2 (11), pp. 104-110.
50. Benevenga N.G., Blemings K.P. Unique aspects of lysine nutrition and metabolism // J. Nutr., 2007, V. 237, P. 1610-1615.

51. Nasonov AI, Yevtushenko Ya.Yu., Serkin, NV, Plotnikov VK Features of grain srednemorozoustoychivyyh barley // Proceedings of the Kuban State Agrarian University, 2012, Vol 1, № 38, pp. 104 - 106.
52. Nasonov AI, Garage VV Kuzembayeva NA, Nenko N., Plotnikov VK Relationship matrix and stability of ribosomal RNA in the ripening of winter wheat under the influence furolana / / "Biology - Science of the XXI century", 10th International Conference of Young Scientists Pushchino April 18-22, 2006, Pushchino, 2006, pp. 386.
53. McCormick M.A., Shin-yin Tsai, Kennedy B.K. TOR and ageing: a complex pathway for a complex process // Phil. Trans. R. Soc., 2011, V. 366, N 1561, P. 17-27.
54. Ckulachev VP What is phenoptosis and how to fight it? // Biochemistry, 2012, v. 77, № 7, pp. 827-846.
55. Baracos E., Mackenzie M.L. Investigations of Branched-Chain Amino Acid and Their Metabolites in Animal Models in Cancer // J. Nutr., 2006, V. 136, P. 237-242.
56. Watson J.D., Crick F.H.C. A structure of deoxyribose nucleic acids // Nature, 1953, V. 171, P.737-738.
57. Plotnikov VK The most important event of the twentieth century in biology // Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2013, V.9, N 2, P. 5-14 ..