

Наша «шагренева кожа» — это наша проблема. Нам ее и решать.

3. Недостающее звено

В. А. Кордюм

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

«Обстоятельства меняют причины»
Д. Галибертон

Развивается представление о том, что геномы клеток многоклеточных (в том числе и человека) не являются информационно изолированными, а объединены в единое информационное пространство организма. Такое объединение осуществляется за счет образования внехромосомной ДНК, ее выделения из клеток, поглощения другими клетками (или непосредственно от клетки к клетке) и последующего избирательного включения в их геномы. Единое информационное пространство организма является особым и исключительно эффективным механизмом противодействия мутационному давлению.

Мутационный фронт — противостояние живого «законам природы». Удивительная это штука — «теоретические представления». Представить себе можно все, а для «подтверждения» — выбрать из всего необъятного поля экспериментальных данных, безбрежного океана публикаций то и только то, что подтверждает соответствующие «идеи». И чем сложнее проблема, тем легче в ней высказывать новые «теоретические представления».

В силу очевидной значимости для каждого без исключения человека и в то же время безысходной сложности, разнообразия, разнонаправленности (даже на уровне феноменологии) проблема старения особо богата «теориями». «Теорий старения» создано несколько сотен. Все, что только имеется в организме само по себе и во всех сочетаниях, кто-либо в свое время объявлял причиной старения. Но если все эти причины проанализировать по первичным механизмам, то они делятся на две четкие группы.

В одну входит все то, что предусматривает активный, запрограммированный в самом индиви-

дууме, механизм «видового срока». Запрограммированный в смысле его ограничения. И смысл таких программ в том, чтобы не дать представителям любого вида (а в данном случае — *Homo sapiens*) жить дольше установленного (эволюцией, случаем, некой «биологической целесообразностью» и т. д.) времени. И если бы не такие специальные ограничивающие программы, жизнь индивидуума во времени уходила бы куда-то неопределенно далеко. А благодаря этим программам она дольше видового срока быть не должна, потому как, согласно им, не может.

В другую группу входят представления стохастические, по которым все определяют случайно (но абсолютно неизбежно, согласно «законам природы») возникающие и накапливающиеся повреждения. Программы имеются и в этом случае. Они направлены на то, чтобы сопротивляться «законам природы». Но так как это невозможно по совершенно «очевидным причинам», то насколько у таких «программ сопротивления» хватает возможностей сопротивляться, настолько долог или короток «видовой срок». А различия «теоретических представлений» внутри каждой из этих двух групп

сводятся уже к вопросам «где?» и «как?». Надо отдать должное — экспериментальные подтверждения (иногда очень наглядные, яркие и убедительные) имеются в каждой группе.

Попробуем пройти по цепочке событий от внешних проявлений до той самой-самой первоосновы, первоначала, ниже уровня которого уже ничего, с позиций старения, и нет (или, по крайней мере, сегодня ничего достоверно не известно).

В предыдущих частях представляемой серии публикаций уже не раз по ходу изложения отмечалось особое положение генома в иерархии структур и процессов клетки. Он и уникален, и не заменяется в молекулярном круговороте внутри клеток, а восстанавливается при повреждениях. С него как первоисточника начинается синтез всех расходных материалов клетки. Он информационно самокопируется и т. д. И все бы хорошо, только сам геном в виде совершенно конкретной материальной структуры — ДНК — сам по себе неживой, как, впрочем, и любая составляющая клетки. «Жизни» в ДНК как таковой не более чем в капроне, из которого делают чулки.

ДНК — очень удачно найденный эволюцией носитель информации живого. Эту информацию можно переписать на другой носитель, что, собственно говоря, и сделано уже в виде компьютерных баз данных. С таких носителей информацию, записанную в ДНК, можно считывать на компьютере, что намного удобнее, для ее анализа. ДНК становится «сама собой» — носителем информации, способным к совмещению со всеми считывающими и обслуживающими системами, только в неразрывном единении со всеми этими системами, которыми (в их совокупности) является клетка. Конструктивное решение организации земной формы жизни в виде и принципиального, и технологического разделения, разнесения, переработки и последующего совмещения, с одной стороны, информации на некоем носителе, коим является ДНК, и, с другой стороны, аппарата ее обработки предопределяет все процессы — от принципов построения и функционирования Биосферы как единой унифицированной системы до любого организма в ней, а в организме — любой его клетки. И в клетке ДНК как носителю информации нет равных. Поскольку же сама по себе ДНК категорически не живая, то на нее (как в чистом виде, так и в клетке) в полной мере действуют «законы природы» — все виды разрушительного действия. Они — основа мутаций, той реализации процессов «старения», происходящих в неживой материи, тех «законов природы», которые незыблемы во всем диапазоне Вселенной — от галактик до кварков. И тоже в полном

соответствии с «законами природы», при всех вариантах обслуживания ДНК, согласно теории вероятности, энтропии и всему такому прочему, в ней, в ДНК, тоже возникают нарушения (ошибки репликации, рекомбинации и т. д.). Иначе и быть не может. Но так, т. е. «иначе и быть не может», в неживом. Вернее, в той составляющей живого как чего-то единого, пока оно живое, что само по себе, взятое вне связи с этим самым «единым» (независимо от того, где оно, вне клетки или в ней), является неживым.

А живое потому и живое, что в нем все иначе. Иначе не потому, что на его составляющие не действуют законы неживой природы. Конечно же, действуют. Ведь все эти составляющие сами по себе неживые. И если их разнести на самостоятельные структуры, то разрушатся они и прекратят свое существование очень быстро. А пока они все вместе как единое целое, то у них появляется качественно новое свойство — защита от повреждений и восстановление после повреждений. Еще в не очень явной форме, но такое свойство противоречит «законам природы», так как работает прототип энтропии. И работает с абсолютной надежностью. С момента возникновения жизни и до наших дней, т. е. по прошествии 4 млрд лет, — времени, хотя и меньшего, но соизмеримого с существованием Вселенной со всеми ее «законами природы», — жизнь на Земле непрерывна. Пусть в поколениях, но непрерывна. И за это время она, жизнь, не только не деградировала, но просто таки фантастически развивалась и совершенствовалась. Это настолько очевидно, что никогда серьезно никем не анализировалось. Тем не менее, явное противоречие здесь существует: действующие на всю Вселенную законы ее природы, гасящие звезды и крушащие галактики, почему-то совсем иначе обходятся с живым. В чем же механизмы такого «совсем иначе»? Ведь если его, это «иначе», жизнь смогла реализовать в поколениях, то неужели Разум не реализует это на уровне индивидуума? Ну, не прямолинейно, конечно, но как конкретно — уже дело Разума. Иначе какой же он Разум? Так в чем же суть такого «иначе»?

Часть такого «иначе» лежит на поверхности, так как является основой реализации самих «законов природы». Поскольку «закон» не один, то существует их некая иерархия и взаимодействие. Вот простой, но очень наглядный пример. Сила тяжести работает по ее вектору. Поэтому вода в гору не течет, она течет с горы. Но по трубам насос качает ее в гору, не отменяя и не нарушая Закона всемирного тяготения. И так во всем, что происходит во Вселенной. «Законы природы» в своем взаи-

модействии реализуют то, что, будучи изолированным, какому-нибудь одному «закону» обязательно противоречит. Но в иерархии законов имеется всеинтегрирующий некий высший принцип, именуемый энтропией — неукоснительной деградацией, т. е. снижением общей упорядоченности. Ее-то и парирует живое.

В течение миллиардов лет жизнь на Земле непрерывна. Она развивалась, приспособлялась ко всем изменениям и ее энтропия не только не уменьшилась за это время (хотя такое уменьшение неукоснительно вершилось на Земле как небесном теле, в Галактике и Вселенной в целом), но и непрерывно возрастала как за счет увеличения разнообразия видов (счет которых сейчас идет на многие миллионы), так и общей биомассы Биосферы. И такое изменение энтропии достигло вообще невероятного во всех отношениях — Разума. Каким же образом живое смогло это осуществить, пойти против энтропии и вопреки ей?

Основой стало самоконтролируемое информационное объединение всего живого планеты в унифицированную на молекулярном уровне для такого объединения систему — Биосферу. Сегодня такая унификация стала ясна в деталях. Это единый для всего живого материальный носитель информации — ДНК; единый принцип и механизмы биосинтеза белка в виде матричного синтеза на рибосомах; единый набор мономеров для такого синтеза; единая основа всего живого — клетка; единая система макроэргов, под энергию которых настроена основная часть энергозависимых процессов и т. д. [1].

Такая унификация, с одной стороны, обеспечена общим информационным пространством Биосферы, в котором единый по своей материальной структуре носитель наследственной информации циркулирует между всем живым, а, с другой, — унификацией механизмов привнесения в общую систему циркуляции такого носителя из живого и восприятием его каждой единицей живого — клеткой. Организм — единое совмещенное пространство многих процессов и построений, унаследовавший их от своих самых далеких эволюционных этапов становления. И было бы просто невероятно, если бы он, организм, не включил в себя как орудие борьбы с энтропией циркуляцию ДНК, образовав для этого свое собственное, организованное в нем, организме, его персональное, единое информационное пространство. Давление энтропии неотвратимо. Противостоять ей организм может только как единое целое в полном объеме значения такого понятия. Стоит где-либо в организме ослабить противодействие энтропии, как ее конечная результирующая



Рис. 1. Долли, первое в мире клонированное млекопитающее. Несмотря на формальный молодой возраст, овца имела реальный биологический возраст в виде суммы возраста донора, от которого была взята соматическая клетка, и собственного после рождения. Поэтому уже в формальной молодости у Долли начали развиваться старческие патологии и, наконец, она была умерщвлена через месяц после начала развития овечьего легочного аденоматоза [2].

щая в живом — мутации, непрерывно динамически возникающие, постепенно закрепляясь, превратят живое в неживое. Какая бы ни была совершенная защита, энтропия свое дело делает — мутации накапливаются.

И чтобы реализовался «видовой срок», специальные механизмы сокращения времени жизни вообще не нужны. Для «видового срока» (даже самого короткого) нужны системы, замедляющие накопление мутаций. Последнее (и абсолютное) доказательство того, что «видовой срок» при всех имеющихся в организме программах предопределяют, тем не менее, не программы, а накопление мутаций (и в интегральном виде — эффективность систем защиты и восстановления им, мутациям, противостоящих систем), было получено благодаря клонированию. Ставшая знаменитостью овца Долли (рис. 1) появилась на свет путем переноса в энуклеированную яйцеклетку ядра соматической клетки взрослой овцы. «Взрослое» ядро было пере-

программировано на некое исходное («программно-нулевое») состояние цитоплазмы яйцеклетки. Но мутационный груз у соматического ядра оставался таким, как и был, — взрослой овцы. И пройдя все абсолютно естественные этапы эмбриогенеза, новорожденная Долли имела мутационный (т. е. биологический) возраст овцы-донора. В результате ее «программный» возраст начинался и развивался «с нуля», а биологический, мутационный — продолжался, как и у овцы — донора ядра. Согласно этому «мутационному», т. е. биологическому возрасту, не обращая внимания на «молодые программы», Долли начала очень рано болеть старческими болезнями, дряхлеть и, несмотря на царские условия существования и заботы лучших специалистов, дошла до границы (даже не дальней, а ближней) диапазона «видового срока» овец данной породы.

На том все и кончилось. И ничего не то чтобы радикального в плане преодоления «видового срока», а хотя бы облегчающего мутационный груз, т. е. отодвигающего этот треклятый срок к дальней границе, не произошло. Таким образом, первопричина видового срока в виде накопления мутаций стала очевидной. А все имеющиеся программы обеспечивают существование организма в пределах этого срока. В том числе и борьбой с его преждевременной гибелью. Для этого включаются резервы восстановления. Или, наоборот, активизируются системы защиты организма, направленные на самоуничтожение (либо адресное уничтожение, т. е. внешнее по отношению к данной клетке воздействие) клетки, ставшей ненужной, опасной, подозрительной и т. д. И «запрограммировать смерть» программы могут, только давая дорогу «законам природы» — снимая защиту от них (разблокируя ферменты разрушения, блокируя то, что предотвращает деградацию, и т. д.). Поэтому в своей первооснове «стохастические» и «программные» теории старения для большинства живого совпадают. Программированное снижение эффективности систем, противостоящих энтропии, делают свое черное дело абсолютно надежно и очень быстро. Вообще мощностное и разнообразие разрушительных процессов в клетке просто-таки уникальны. Никакая защита их полностью заблокировать не может. Даже самая совершенная.

Так, например, при дыхании образуются радикалы кислорода. И при всем совершенстве обеспечивающих дыхание ферментов на каждые 100000 молекул синтезирующейся АТФ от всех защит ускользают два радикала кислорода [3]. Как известно, в «усредненной» клетке ежедневно образуется (и распадается) примерно $5 \cdot 10^{12}$ молекул АТФ. Только при их синтезе защиты избежат $2,5 \cdot 10^7$

радикалов кислорода. Геном клетки они способны за эти сутки буквально «разнести на куски». Так это только в случае АТФ! Разнообразие других путей образования разрушительных перекисей и радикалов фактически охватывает все (но только с разной вероятностью их образования) цепи метаболизма — полуокисленные флавины, семихинонная форма убихинонов, цитохромы р-450 и продукты, ими образуемые, гемопротейны, медьсодержащие белки, комплексы марганца, молибдена и т. д. [4]. Поэтому и количество, и разнообразие повреждающих, разрушающих, мешающих и т. п. агентов в клетке будет на много порядков больше, чем цифра, приведенная в данном примере. И если в организме имеется общее метаболическое пространство, поддерживающее клетки с различными динамическими и закрепленными мутациями, то общее информационное пространство должно унифицировать разномутирующие (по законам вероятности) геномы клеток единого самого в себе организма. Унифицировать в плане сохранения в немутантном состоянии.

Что же уже известно о едином информационном пространстве организма и что неизвестно? Начнем с клетки.

Информационное пространство клетки. Сама постановка такого вопроса с традиционных, устоявшихся и «абсолютно очевидных» представлений выглядит достаточно странной. Ну, конечно же, это ядерная ДНК, т. е. геном клетки, организованный в хромосомы, и митохондриальная ДНК. У растений еще добавляется ДНК пластид. В чем проблема? Ведь это все экспериментально установлено до деталей, до последнего нуклеотида просеквенированных геномов уже многих организмов, включая человека. И, конечно же, это все так. Но только в статике, в виде некоего моментального снимка, который, к тому же, сделан именно там, «где надо». В динамике же картина получается совсем иная. В 1984 году Хесин [5] опубликовал обширную монографию с весьма нетрадиционным названием «Непостоянство генома». И хотя речь в ней шла о достаточно специфических и ограниченных формах непостоянства, формулировка проблемы была сделана совершенно однозначно.

В чем же суть проблемы в ее полной форме? В том, что динамичность генома в процессе нормальной жизнедеятельности приводит к тому, что геном каждой клетки выходит далеко за пределы пространственной реорганизации только в составе хромосом как некоей строго замкнутой системы. Внехромосомное состояние хромосомной по своей природе ДНК клетки количественно может быть соизмеримо с хромосомной, а организация и состав

генома разных клеток одного и того же организма в разное время и в разных состояниях может различаться на порядки. По отдельности, в виде конкретных (и всегда воспринимаемых как локальные, частные, как исключение) фактов это все хорошо известно. Но если собрать их все воедино, то возникнет совершенно иная картина. Они представляются теперь уже не как сумма «исключительных явлений», а как некий универсальный процесс, имеющийся у разных объектов, а все «исключительное» — это просто разные частные моменты реализации общих механизмов. Крайним проявлением динамичности генома является диминуция хроматина — строго и конкретно дозированная его элиминация при индивидуальном развитии.

Так, у аскариды на стадии гастролы элиминируется 56 % всего генома соматических клеток (естественно, с полной сохранностью в клетках генеративной линии), а при созревании макроядра реснитчатых инфузорий — более 90 % (с сохранением полного состава в микроядре) [6]. Может быть, таков удел предназначен только низшим формам эукариот? Конечно же, нет. У гордого носителя Разума все его эритроциты, начав свой путь дифференцировки из самых что ни есть полноценных стволовых клеток, на терминальной стадии, выходя «на дело» — выполнение своих функций, полностью лишаются ядра вообще как структуры, теряя, таким образом, все 100 % генома. И у всех млекопитающих происходит то же. Во всех остальных клетках динамика генома также имеет место, но в иных формах — в том числе и в виде образования внехромосомной ДНК. Такая внехромосомная ДНК образуется из хромосомной, но пространственно от нее отделена в виде самостоятельных структурных элементов. Она обнаруживается фактически во всех клетках всех тканей разных организмов как *in vivo*, так и *ex vivo* в культурах клеток вне организмов, т. е. везде, где ее ищут [7—14]. Определенное количество такой ДНК колеблется (в норме!) в широких пределах и во многом зависит от условий и методов ее обнаружения. Так, например, около 1 % новосинтезированной ДНК из лимфоцитов человека, стимулированных фитогемагглютинином, выделялось в виде крупных (до 90 тыс. п. н.) фрагментов, идентифицируемых разными независимыми методами [15].

Естественно, возникает вопрос, какой же биологический смысл заложен во внехромосомной ДНК? «Смыслов» оказывается весьма много. Диминуцию считают единственной абсолютно надежной системой регуляции. Уж если из клетки элиминировать ту часть генома, которая для функции не нужна (в интересах, конечно же, не клетки, а

организма), то ничто, что в ней записано, уже ни при каких условиях реализоваться не сможет — чего нет, того нет. И места в клетке для нужных функций будет больше. Для этого и всем ядром пожертвовать можно, как в случае эритроцитов млекопитающих.

Но может быть и прямо противоположный смысл. Его крайним проявлением является магнификация. При утрате части ДНК, кодирующей рибосомы (рДНК), часть оставшейся рДНК выщепляется, амплифицируется во внехромосомном состоянии и затем интегрирует в геномную ДНК, восполняя, таким образом, нормальную дозу гена [16]. В принципе, могут восстанавливаться и вообще утраченные клеткой гены.

В частности, при явлении «ретрофекции» за счет ретровирусов ДНКовая копия полноценного транскрипта из полноценной клетки может встраиваться в геном соседней неполноценной, восстанавливая утраченный или поврежденный ген [17]. В очень крупных клетках внехромосомные ДНК могут выполнять дополнительную генетическую функцию в отдаленных компартментах, например, в районе синапсов гигантских нейронов [18]. Имеются сведения и о регуляторных функциях экстрахромосомной ДНК [19]. Предполагается участие внехромосомной ДНК и в реакциях клеток (и соответственно содержащих их организмов) на изменения внутренних и внешних условий, т. е. в процессе индивидуального развития и фенотипических ответов [20]. Но, пожалуй, больше всего существует и экспериментальных данных, и теоретических предположений о связи внехромосомной ДНК со старением. И действительно, многие авторы отмечали при старении изменение состава и увеличение количества внутриклеточной внехромосомной ДНК, имеющих место как в клетках организма непосредственно, так и в культуре [21—24]. Вот только что бы это значило? Здесь мнения имеются во всем диапазоне, включая полярные: от предположений, что внехромосомные ДНК ускоряют старение и хорошо бы их уничтожить, до мнений, что внехромосомные ДНК — это теряющиеся участки генома и хорошо бы их сохранять. Фактом же остается то, что с возрастом реально увеличивается подвижность генома.

Удивительная это вещь — подвижность генома. Незыблемая, всеподдерживаемая, всесохраняемая составляющая жизни — и вдруг какие-то разговоры о ее подвижности. В конце концов, мало ли что говорят в свободном обществе, да еще и ученые. Допустимо ли это? Лет 20—30 тому назад, действительно, незыблемая стабильность генома казалась абсолютно очевидной, доказанной и вообще не

подлежащей обсуждению. И название монографии Хесина, о чем написано выше, хотя и было откровенным вызовом, тем не менее, в самом тексте ограничивалось очень частными случаями. Но затем начался обвал — почти сразу прорвалась некая психологическая плотина и появилась масса работ о подвижности, динамичности генома. А после того как структура генома стала известной, возник уже качественно иной вопрос диаметрально противоположной направленности — как вообще может существовать геном с такой организацией, каковая имеет место у человека?

Попробуйте представить себе 23 дубля гигантских линейных нитей ДНК общим размером примерно 7 млрд п. н. и общей длиной более чем в 1,5 м; размещенных в сфере с диаметром, эквивалентным нескольким десяткам тысяч диаметров одного атома водорода, и с суммарным объемом (по порядку величины) несколько сотен кубических микрометров (т. е. в объеме меньше одной миллиардной доли 1 см³); в сфере, которая ограничена мембраной, не допускающей выхода всей этой ДНК (функционирующей и обрабатываемой массой ферментов) за пределы ничтожного объема, в которой все должно происходить с высочайшей скоростью. ДНК, которая только полуторами процента своего материального объема кодирует то, что представляет собой венец творения вообще и читающий эти строки в том числе; ДНК, которая на 10—20 % состоит из повторов разных размеров и разных ориентаций; ДНК, которая на 10—20 % состоит из остатков ретровирусов; ДНК, которая на 70 % состоит из реальных и потенциальных мобильных элементов; ДНК, которая кодирует разнообразнейшие нуклеазы, ревертазы, топоизомеразы, рекомбиназы, трансформазы и прочие ферменты деградации, деструкции и дестабилизации генома. Представьте себе, что это имеется во всех $\approx 5 \cdot 10^{13}$ клетках каждого индивидуума на протяжении всех лет его жизни, и Вы поймете, что такое никогда, нигде, ни при каких условиях существовать не может и не сможет. А если Вам не хватит фантазии, попробуйте изготовить рекомбинантную молекулу ДНК, содержащую хотя бы по 3—4 прямых и столько же инвертированных идентичных повторов средней протяженности, между которыми локализованы структурные гены, и ввести ее в клетку. И убедиться на собственном опыте, что на выходе, т. е. в клонках, подобное существовать не будет. Такая ДНК развалится, срекомбинирует, перестроится уже при первых делениях клеток, не дав на выходе ни одного клонка с аналогичной структурой. Это всего-то при 3—4 парах повторов.

И если бы не реальное существование биосфе-

ры с подобными геномами, не абсолютно невероятное, но еще более абсолютно достоверное существование человека, не вызывающее никаких сомнений у читающего эти строки, его реальное (и достаточно длительное) бытие, единое само в себе, то даже безнадежно психически больному в голову не могло бы прийти допущение о даже чисто абстрактно-теоретическом существовании такого немислимого в своей полной абсурдности и дремучей невежественности дизайна генома. А он, этот дизайн, неукоснительно создавался усилиями всей биосферы и ее эволюции. Постоянно проверяясь на эффективность в течение миллиардов лет. Пока не дошел до венца творения. И вывод из этого может быть лишь один — именно такой и только такой геном обеспечивает и биосферу, и венец творения. Попробуем же разобраться в принципиальной структуре нашего генома теперь уже с этих позиций и понять, почему, зачем и для чего он такой и что из этого следует?

Первое, что сразу же обращает на себя внимание, — это высочайшей степени, буквально доведенная до абсолютного совершенства, какая-то просто мистическая блочность генома. И не просто блочность, а блочность совершенно конкретная, разборно-наборного типа. Сиротские 1,5 % структурных и регуляторных (в плане регуляции экспрессии) генов сложным образом перемежаются всеми мыслимыми последовательностями, обеспечивающими нестабильность. Если принять действительное число генов человека даже ≈ 50000 (хотя их определяют величиной и того меньшей ≈ 35000 [25, 26]), то на них одних только *Alu*-повторов приходится 500000—100000. Мономеры таких повторов имеют размер ≈ 300 п. н. и фланкированы, в свою очередь, короткими прямыми повторами [27]. Фактически, все структурные гены фланкированы *Alu*-повторами. Но повторы такой протяженностью (≈ 300 п. н.) — просто-таки идеальный вариант для рекомбинационных процессов. Так ведь сами повторы еще фланкированы повторами! Примерно на порядок меньше длинных интерспейсных повторов. Но, судя по структуре, их рекомбинационный потенциал выше. Остальная часть генома тоже состоит из различных повторов — от полноразмерных экспрессирующихся проретровирусов до коротеньких, в несколько пар.

По проведенным оценкам, не менее 70 % генома человека в структурном отношении представляют собой потенциальные (т. е. готовые и только ждущие соответствующих молекулярных команд) мобильные элементы [28]. Но и сами структурные гены блочны. Их экзонно-интронная структура позволяет им рекомбинировать уже гото-

выми для такой рекомбинации частями. Получается, что по своей структуре весь геном может быть естественным путем за счет самых что ни есть природных событий разобран на отдельные гены (и даже их части), перебран и опять собран. А все эти фрагменты единого генома организованы в репликоны — длинные последовательности, дискретно самоудваивающиеся. И их размер для млекопитающих, по данным разных авторов, лежит в диапазоне от 4 до 140 мкм [6]. Если принять их средний размер за 50 мкм, то при общей длине генома (т. е. протяженности ДНК в одной клетке) более $1,5 \text{ м}$ количество репликонов превысит $3 \cdot 10^4$. Это 30 тыс. автономно реплицирующихся участков генома. Для сравнения — у бактерий, лабильность генома которых хорошо изучена и поражает своей динамикой, всего-то один репликон, а повторов буквально единицы, да и сами гены не состоят из блоков. Но если бы этим все и ограничивалось! Реальность оказывается еще более необычной. За счет уже достаточно хорошо известных механизмов участки генома могут амплифицироваться (и реально амплифицируются), вследствие чего появляются фрагменты различного размера, состоящие из блоков — структурных генов и повторов всех типов, готовых к рекомбинантным событиям. Очень интересна количественная оценка амплификации. Как правило, в литературе описывается своеобразная индуцированная амплификация. При действии на клетку токсических веществ усиливается амплификация генов, способных функционально снизить их негативное действие. Усиливают амплификацию воздействия, повреждающие ДНК, и т. д. Но и без них амплификация происходит как стабильный, естественный в норме процесс. Он определен для культур клеток и происходит в них с частотой 10^{-3} — 10^{-4} на отдельный сегмент хромосомы [6]. Вообще различные события в геноме часто оценивают «на одно клеточное деление», так как в статике определять многие события либо методически очень трудно, либо пока вообще невозможно. В действительности же события происходят не «на деление». Они возникают в статике. Но методически их оценить, как правило, можно только по появлению измененных клонов, т. е. после того, как измененная клетка даст поддающуюся анализу биомассу. Усредненная величина 10^{-3} — 10^{-4} означает, что в популяции из 10^3 — 10^4 клеток в одной произошла амплификация данного конкретного участка хромосомы. Но если это некая средняя частота амплификации (что подтверждается, фактически, случайным выбором маркера в приведенном выше примере), то с такой же вероятностью будет амплифицирован и любой другой участок. И если быть последовательным, то

приведенная усредненная величина будет оценочно означать, что в популяции из 1000—10000 клеток каждый участок хромосомы (разный в разных клетках) один раз амплифицирован, т. е. в них пофрагментно имеется полная амплификация всего генома в одном полном исполнении. При средней массе усредненной клетки 10^{-9} г указанное выше количество клеток будет весить всего 1—10 мкг.

В культуре усредненно можно принять время одного деления за 1 сут (хотя обычно оно происходит быстрее). И на одно деление рассчитана частота амплификации. Поскольку же деление не производит амплификацию, а лишь позволяет ее определить, то частота самой амплификации может быть оценена в среднем для любой клетки в 10^{-3} — 10^{-4} на каждый конкретный участок в сутки. Конечно, это очень приблизительная величина, да еще со многими допущениями. Но ведь внешние и внутренние факторы ее могут и увеличить. При этом принципиально важно то, что сам геном сохраняется целым. Образование амплификатов по самой сути, самому механизму процесса происходит на геноме, создавая дополнительные детерминанты, а не за счет их выщепления (и, таким образом, потери их для генома). Геном при амплификации, несмотря на появление амплификатов в любом числе и любом месте, остается полным.

Наконец, распространенным и массовым механизмом образования внехромосомных участков генома (также без нарушения его целостности) является обратная транскрипция [12].

Так, если все это потенциально «вбито» эволюцией в структуру генома, то не для красоты же. Такой могучий потенциал просто неизбежно должен реализовываться. И он, конечно же, реализуется. В результате в клетках млекопитающих, включая человека, содержится экстрахромосомная ДНК разных размеров, разного состава, разной локализации и в разных количествах. Что касается размеров, то они колеблются от нескольких сотен до нескольких миллионов пар оснований. Состоять они могут из любых участков генома и включают как повторяющиеся, так и уникальные последовательности. Локализация их охватывает все составляющие клетки — ядро, цитоплазму, мембрану. Количество варьирует от одной тысячной процента до нескольких десятых процента по отношению ко всей хромосомной ДНК. И, наконец, присутствует такая экстрахромосомная ДНК во всех клетках организма человека (как, впрочем, и других млекопитающих), а также в культурах клеток вне организма [29—32] (табл. 1).

Экстрахромосомная ДНК всегда присутствует в клетках, что свидетельствует о ее непрерывной

Таблица 1
Характеристика малых гетерогенных кольцевых (мгк) ДНК, полученная на основе исследования методом слюдяной реплики [12]

Клетки	Средняя длина молекулы, мкм*	Доля молекул мгкДНК длиной более 1 мкм, %	Число молекул мгкДНК на одну клетку
Тимус, костный мозг	1,9—5,4	80—90	100—200
Селезенка, лимфатические узлы	1,0—1,8	40—50	50—130
Эксплантаты легких, печени	1,0—2,0	30—60	20—50
Линии HeLa, L, 3T6, L6	0,3—1,0	25	400—1200
Эмбриональные линии F-9, 311	0,3	3—10	100—600

*1 мкм соответствует примерно 3 тыс. п. н.

динамике. Динамика означает, что такая внехромосомная ДНК должна непрерывно образовываться и куда-то деваться. Конечно, можно было бы предположить, что после образования она какое-то время существует в клетке, а затем деградирует, т. е. что динамика сугубо внутриклеточная, а по своей сути — нечто побочное, такие себе «отходы производства». Так в большинстве случаев и считают. Но если ограничиться только таким представлением, то уж очень нелогично все получается. Миллиарды лет эволюция создавала блочную структуру генома и неукоснительно ее поддерживала. И только для того, чтобы обеспечить некий круговорот «случайно» возникающей экстрахромосомной ДНК в клетке? В некоторых случаях функция экстрахромосомной ДНК известна и ее любят приводить как все объясняющий пример. При добавлении ряда токсических веществ их действие нейтрализуется повышенным количеством соответствующего продукта. Для этого происходит амплификация участков хромосомы. Ну а все остальное списывают на сопутствующие случайные процессы. Только ведь внехромосомная ДНК присутствует во всех клетках и всегда! Что-то здесь не так. Непрерывное образование внехромосомной ДНК во всех клетках организма в течение всей его жизни может быть лишь в том случае, если это необходимо.

А блочная структура генома только подтверждает такую необходимость. И если посмотреть на Биосферу с позиций сегодня уже принимаемых всеми представлений, то в ней между всем живым идут непрерывные информационные потоки. Пото-

ки, которые для одноклеточных с родственными геномами обеспечивают реальную адаптацию к реальным изменениям реального обеспечения существования. Образовавшись из популяции одноклеточных с родственным геномом, многоклеточные просто не могли не использовать то, что имело уже место и было закреплено эволюцией как эффективнейший механизм существования. Но теперь это все происходило в едином совмещенном пространстве организма, что несоизмеримо лучше обеспечивало более высокую эффективность процесса. У просто организованных одноклеточных блочность генома выражена очень слабо, повторов почти нет, геном в основном представлен уникальными последовательностями. У них информационные потоки часто обеспечиваются гибелью клеток, из которых ДНК поступает во вне. Но и у них развились некоторые механизмы информационного обмена, сохраняющие клетки. У современных млекопитающих и венца творения в том числе структура генома изменилась радикально. Она стала совершенной для организации информационных потоков не только без разрушения клеток, но и без нарушения процессов в них. И если это так, то экстрахромосомная ДНК должна выполнять какие-то функции внутри самих клеток и, кроме того, выходить из клеток. Такой процесс изучен, регистрируется как в культурах клеток, так и в организме и демонстрирует исключительно высокую интенсивность.

Иллюстрацией этого может служить «типичная» для подобных работ табл. 2, приведенная в публикации [33]. Особо следует отметить, что практически во всех подобных публикациях экспериментально доказывается, что выход ДНК имеет место из неразрушенных клеток и не является продуктом распада хроматина, а сама выходящая ДНК была вновь синтезированной.

Информационное пространство организма. Аналогичная картина имеет место и в организме. Исследование содержания внеклеточной ДНК у людей (обычных здоровых) неизменно приводило к обнаружению таковой в концентрации от нескольких десятых микрограммов до нескольких микрограммов в 1 мл [34—39].

Весьма любопытно сравнить это с самыми что ни на есть рутинными лабораторными генно-инженерными манипуляциями. Такое сравнение приводит к неожиданному «совпадению» — для трансформации клеток экзогенным генетическим материалом в составе различных молекулярных конструкций обычно используют именно такие концентрации векторных молекул, каковые реально обнаруживаются в норме во внеклеточной фрак-

Таблица 2

Выход растворимого хроматина из ядер клеток, чувствительных и устойчивых к бромистому этидию

Условия инкубации клеток*	Доля высвободившейся ДНК, % от тотальной, $x \pm S_x$			
	Из клеток L-929		Из клеток Lebr-350	
	В отсутствие циклогексимида	В присутствии циклогексимида	В отсутствие циклогексимида	В присутствии циклогексимида
0 °С	2,9±0,7	7,9±1,9	5,6±1,3	3,4±1,1
37 °С	12,1±2,1	20,8±4,2	23,4±5,3	16,5±3,6
37 °С, Zn ²⁺	1,4±1,1	7,2±1,8	7,8±1,7	3,8±2,1

*Длительность инкубации 4 ч.

ции крови человека (без учета вариантов упаковки в вирусные капсиды, где эффективные концентрации в пересчете на вызывающую трансформацию ДНК на несколько порядков ниже).

Надо признать, что наличие в крови здоровых людей такого количества ДНК как постоянной компоненты требует каких-то особых допущений. Ибо, как достоверно показано во многих экспериментах, введенная шприцем в кровяной ток ДНК (в основном, это делали на животных) в кратчайший срок поглощается макрофагами всех локализаций (особенно в печени), а также сквенджер-рецепторами других клеток и напрочь исчезает. С чего бы такое несоответствие? Создается впечатление, что по отношению к введенной извне ДНК организм ведет себя агрессивно, бескомпромиссно и исчерпывающе эффективно, а свою — заботливо поддерживает на уровне эффективных трансформирующих концентраций. На самом деле это только кажется. На самом деле (и тоже чисто феноменологически) такое, т. е. столь же быстрое поглощение, может быть только в том случае, если в кровь «своя» ДНК поступает непрерывно. И тогда клиренс, одинаковый что для введенной извне, что для «своей», но внеклеточной, и даст то, что реально обнаруживают анализы. Если это «не просто так» (что, вообще-то, для венца творения звучит неправдоподобно), если это имеет функциональное значение (а иначе неумимо работающий на протяжении миллиардов лет отбор был бы не эффективным механизмом эволюции, а «пьяным разгильдяем»), то клетки организма (все, а не только те, которые специализируются на «уборке мусора») должны иметь механизмы улавливания такой ДНК из открытого регуляторно-метаболического пространства, а после улавливания — ее поглощения. А само поглощение для очистки организма от циркулирующей ДНК должно носить лишь контролирующую функцию, т. е. поддержание на оптимальном для чего-то уровне. Так оно и есть. И такие механизмы

у человека разнообразны и задублированы. В общей форме, согласно весьма многочисленным экспериментальным работам и их теоретическим обобщениям, поглощение клетками внеклеточной ДНК происходит по рецепторному механизму, т. е. как специализированная функция, отличная от сквенджер-функции [40—44]. Что же касается природы таких рецепторов, то она пока только выясняется.

Кроме того, хорошо известны белки клеточной мембраны (особенно интенсивно экспонированные при некоторых аутоиммунных болезнях), которые узнаются моноклональными антителами к двунитчатой ДНК [45]. Это уже само по себе выглядит необычно. Высокоспециализированные, предназначенные для улавливания самых тонких различий системы узнавания аффинно связываются с категорически разными по всем своим параметрам макромолекулами — белками и двунитчатой ДНК. Имея детерминанты, аффинно узнаваемые антителами к ДНК-связывающим доменом, такие белки, как можно ожидать, будут узнаваться и самой ДНК.

Существует обоснованное экспериментальное предположение о наличии в клеточной мембране и непосредственно фрагментов ДНК. Но, кроме предположений, имеются и точные прямые эксперименты. Так, в нормальных (как, впрочем, и опухолевых) клетках человека идентифицирован ассоциированный с мембраной нуклеинсвязывающий белок (и клонирован его ген), отвечающий за улавливание не клеточной ДНК, которая затем транспортируется внутрь клетки [46]. Вообще же поглощение в организме млекопитающих (и человека тоже) свободной экзогенной ДНК сегодня вышло уже из чисто академических изысканий и используется как один из вариантов техники генных вакцин. И «голая» ДНК (т. е. без носителя или упаковки) оказывается при этом весьма эффективной, т. е. обеспечивает вакцинацию к тому антигену, который кодирует. Особенно, когда ее вводят не в кровяной ток, а непосредственно в ткань (чаще всего,

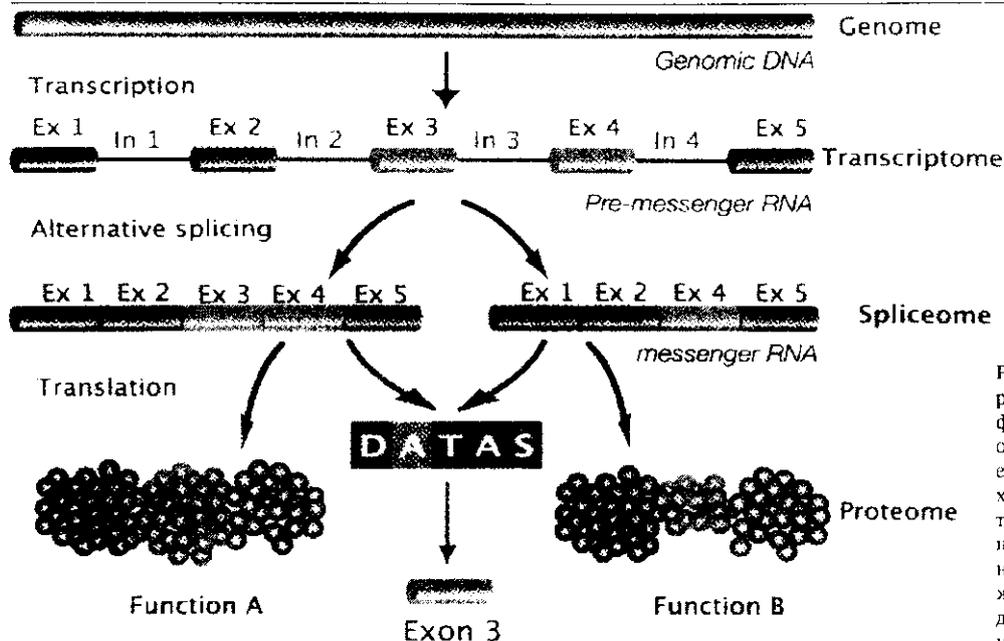


Рис. 2. От генома к протеому: репертуар РНК-сплайсинга играет критическую роль в образовании изоформ белка от единичного гена. Белки, происходящие от гена, с которого транскрибируется РНК, имеющая возможность альтернативного сплайсинга, могут содержать разные функциональные домены и поэтому иметь различные биологические функции [52]

мышечную) [47—51]. Но это уже значит, что поступившая в клетку внеклеточная ДНК в такой клетке полноценно функционирует. Как? При генной вакцинации, когда ее вводят на специальных векторных молекулах, экспрессия транзиторная. Но так ведь именно транзиторную и только транзиторную экспрессию такие рекомбинантные молекулы строго по заложенной в них конструкции и обеспечивают. Оно и задумано так было. Если же конструкция иная (как, например, при генной терапии), то и экспрессия будет длительная или вообще постоянная, а сам введенный ген при этом интегрирует в хромосому. Но это все при искусственных манипуляциях, т. е. при «силовом» введении экзогенной ДНК. А как без него, естественно, «само по себе» в организме, согласно его нормальному самоподдержанию, самообеспечению и прочему «само...»? Ведь для того, чтобы такое происходило «естественно», в клетке должны быть соответствующие механизмы. Что известно в этом отношении?

Анализ истории представлений о структуре генома показывает весьма любопытную особенность нашего процесса познания нового. Первыми объектами, приемлемыми для детального изучения в этом направлении, были бактериофаги. Тщательное определение их геномов (доступными в то время методами генетического анализа) позволило составить первые карты и как само собой разумеющееся, абсолютно очевидное, было принято тесное расположение генов. Понятие межгенного про-

странства отсутствовало. Конечно, некоторое небольшое количество «просто так» находящихся нуклеотидов между генами допускалось. Но не более того. Генетический анализ бактерий (следующий по доступности и времени изучения объект) подтверждал такие представления. И знаменитые постулаты молекулярной биологии того времени типа «что справедливо для *Escherichia coli*, справедливо и для слона», а также «между королями и капустой на молекулярном уровне нет принципиальных различий» были возведены в абсолют. Сомневающиеся с презрением объявлялись закоренелыми ретроgrадами и тупыми невеждами. Но, как и положено, при взрослении самоуверенность и безапелляционность раннего детства молекулярной биологии и молекулярной генетики прошли. Была открыта информационная прерывистость генов высших эукариот. После очень кратковременного удивления и замешательства все в очередной раз стало «совершенно очевидным».

Экзонно-интронная структура обеспечивает две основополагающие функции генома. Во-первых, это дает возможность одному гену кодировать за счет альтернативных посттранскрипционных процессов несколько (часто десятки и в отдельных случаях даже сотни) различающихся между собой белков. В результате не только увеличивается «репертуар» белков вообще, но и обеспечивается их тканеспецифичность (рис. 2). В разных типах тканей имеются индивидуальные тонкие отличия идентичных по своей основной функции белков

(как структурных, так и ферментных). И если бы на каждый из них требовался отдельный ген с его отдельной регуляцией, то никакого генома бы на это все не хватило. И о ранее «абсолютно очевидной» концепции Бидла — «один ген — один белок» тихо и незаметно забыли.

Во-вторых, мозаичность геномов обеспечивает их эволюционную перетасовку. Прокариотам понятие «разные ткани» чуждо. У них аналогом «разных тканей» являются разные, генетически близкие, но самостоятельные виды. Это только генетически однородная популяция, продвинувшаяся в эволюцию многоклеточных, должна была решать проблему «быть или не быть» сложным формам жизни на Земле. И если бы не возникновение блочной структуры генома как способа обеспечения высочайшего разнообразия типов клеток, тканей и органов и гены оставались (как у ныне живущих прокариот) цельной структурой, то эволюция в конце своего многомиллиардного пути захлебнулась бы где-нибудь на уровне губок. Это все сегодня детальнейшим образом изучено (и продолжает изучаться) и, конечно же, не вызывает никаких принципиальных ни возражений, ни сомнений. Но было бы просто невероятным, если бы такая блочность не использовалась и для решения задач поддержания стабильности и унификации совокупного генома организма.

Рекомбинационный обмен был открыт при мейозе. И стало ясно, что он обеспечивает генетическую стабильность в поколениях. Именно за счет перераспределения генов и пусть даже чисто случайного, вероятностного, появления комбинаций, отягощенных мутациями (с элиминацией их обладателей на всем пути пренатального фильтрования, от мейотических клеток до эмбрионов), и обладателей с меньшим их содержанием поколения существуют вопреки «законам природы». Митотические рекомбинации долго считались «практически невероятными», затем «исключительно редкими», потом просто «редкими», а теперь уже повсеместно распространенными, часто происходящими событиями. Конечно же, «совершенно очевидными». И, собственно говоря, этим рекомбинационные обмены и ограничивают. А вот почему митотические обмены могут лишь повторять (да и то существенно более скудно) митоз — совершенно не анализируется. Вместе с тем здесь ситуация намного интереснее.

Когда вначале обнаружили внехромосомную ДНК, то ее нахождение в цитоплазме и выход из клеток сделал «совершенно очевидной» и идентификацию таковой в ядре. Ведь если экстрахромосомная ДНК образовалась (любым путем) из хро-

мосомной, то куда бы она далее ни девалась, а в ядре хоть какое-то время в каком-то количестве будет обязательно (в силу того, что все подобные процессы динамичны). И даже хорошо известная магнификация, при которой образовавшаяся экстрахромосомная ДНК встраивалась опять в хромосому, восстанавливая таким путем нормальный уровень рибосомных генов, во всех остальных вариантах с внехромосомной ДНК во внимание не принималась. Но здесь возникает удивительно интересная ситуация. При классической межхромосомной рекомбинации восстановление мутантного гена происходит путем перераспределения участков гена. И если в одном аллеле таким образом функция восстанавливается, то в другом — обогащается мутациями. Но внехромосомная ДНК может изменить этот канон. На рекомбинацию ее с хромосомной ДНК никаких запретов нет. Более того, сегодня восстановление поврежденного гена за счет введения в клетку гена полноценного в составе рекомбинантной молекулы, которая во всех отношениях является «внехромосомной», отрабатывается как перспективный вариант генных технологий человека. И если на полноценном аллеле образовалась (например, вследствие амплификации) внехромосомная копия такого гена, то она может по классическому рекомбинационному пути восстановить второй аллель без переноса мутационного груза на первый. Такой механизм восстановления мутаций может функционировать очень активно, являясь эффективным механизмом противомутационной защиты. Пока этот вариант репарации вообще не рассматривается. В то же время именно такая система восстановления должна быть особо эффективной. И тогда диплоидность — это еще и линия фронта против накопления в клетках мутаций. Если это так, то в ядре можно ожидать присутствия и «своих» (ядерных), вообще не выходящих в цитоплазму (или выходящих в очень ограниченной степени), внехромосомных ДНК. Они действительно обнаружены и составляют единицы процентов от суммарной ДНК клетки [53]. Но это все рекомбинации внутриклеточные.

В природе же, начиная с популяции, ставшей исходной для эволюции к многоклеточности (и даже задолго до такой популяции, на самых ранних этапах эволюции), возник и эффективно действовал межклеточный перенос информации. Его следствием стала несокрушимая (и непрерывно им же поддерживаемая) унификация основных молекулярных «рабочих инструментов» Биосферы. Унификация, которую не смогли разрушить все вместе взятые вселенские катастрофы за 4 млрд лет существования жизни на Земле. И если информацион-



Рис. 3. Фагоцитоз апоптических телец (указаны стрелками) клетками MEF [55]

ные потоки в информационном пространстве Биосферы унифицируют все живое, то информационные потоки в информационном пространстве организма выполняют принципиально те же функции — они унифицируют его совокупный геном. И блочность генома выполняет те же функции обеспечения рекомбинации. Только теперь уже рекомбинация становится дистанционной за счет переноса информации от одной клетки к другой. Собственно говоря, все (!!!) для этого имеется и в каждой клетке в виде совершеннейших механизмов внутриклеточных рекомбинационных событий. И единственное добавление к ним — это такая же, как в гомологичной хромосоме, ДНК, но только поступившая из внеклеточного пространства (или через прямые межклеточные коммуникации, минуя межклеточное пространство) от соседней (или не очень соседней) клетки. Ведь геномы всех клеток (от нейрона до волосистой луковицы) каждого единого самого в себе индивидуума идентичны. И для того чтобы организм был единым в самом себе, геномы всех клеток должны продолжать оставаться идентичными. Идентичными, несмотря на непрерывно и интенсивно идущие мутации, которые непрерывно и интенсивно по случайному принципу хаотически изменяют геномы всех клеток единого самого в себе индивидуума.

В виде отдельных процессов выделение генетического материала из клеток, его циркуляция в организме и поглощение клетками известны и описаны как повседневные, повсеместные и абсолютно естественные явления. Что же происходит с поглощенной ДНК? Часть ее деградирует. Но только часть и, как можно думать, размер этой части в известной мере зависит от природы поступившей

ДНК, типа клетки, ее состояния и т. д. Но другая часть интегрирует в хромосому. Это не просто известно. Это рутинный элемент при трансформации клеток млекопитающих. И механизмы такой интеграции уже хорошо исследованы. Они представляют собой нормальные различные рекомбинационные события. Критичной здесь является частота такой интеграции. Она оказывается весьма высокой. Так, в одном из прямых экспериментов на культуре клеток в оптимальных вариантах включение в хромосому введенной извне ДНК вследствие гомологичной рекомбинации достигало $58 \cdot 10^{-5}$ [54]. Это значит, что фрагмент попавшей в клетку ДНК (в данном эксперименте — способный восстанавливать мутацию за счет привнесения недостающей последовательности) встроится в точно заданный участок, по крайней мере, одной из 2000 клеток. При близкой вероятности гомологичного встраивания в любом участке хромосомы, наличия произвольных наборов фрагментов и имеющихся ≈ 100000 генов (для диплоидной клетки) в каждую клетку (в среднем) встроится не менее 50 фрагментов поступившей ДНК.

Такие расчеты многие биологи очень не любят, так как они означают массовые, непрерывные и постоянно происходящие информационные обмены в клетках венца творения, что категорически не входит в общепринятые представления. Такие расчеты даже не обсуждаются, от них отмахиваются как от чисто арифметических спекуляций, не имеющих отношения к реальности. Так оно и есть на самом деле, только с точностью до наоборот. Для того, что происходит в реальной жизни организма, подобные расчеты, действительно, чисто арифметические, но уж очень сильно занижающие реальные

информационные потоки. При нормальном существовании такие потоки идут между гомологичными геномами клеток индивидуума и потому они очень трудно выявляемые. Но идут они, естественно, без травмирования клеток кальций-преципитатом, катионными липосомами, электропорацией и прочими «отмычками» проницаемости. Очень наглядными в этом отношении являются работы, в которых описываются (и абсолютно корректно доказываются) факты массивированного поглощения, включения и функционирования апоптических телец, вплоть до целых хромосом (рис. 3) [55]. Пока это выполнено в системе донор—опухолевые клетки:реципиент—нормальные клетки. Но суть от этого не меняется, ибо поглощают и включают в свой геном внеклеточную ДНК во всем диапазоне ее массы (от отдельного гена до целых хромосом) нормальные клетки.

Непрерывный обмен генетическим материалом идет и среди нормальных клеток. Именно здесь он естествен.

Динамика информационного пространства. Информационные потоки в организме разнообразны и интенсивны. В дальнейшем это будет экспериментально продемонстрировано достаточно детально. И все эти информационные взаимодействия между клетками образуют особое, присущее в разной мере только сложноорганизованному многоклеточным, информационное пространство организма. Сегодня для такого утверждения имеется очень большой экспериментальный материал. Но даже чисто теоретически его можно было бы предсказать, если бы не «абсолютно очевидная» консервативность «общепринятых представлений». Информационный обмен необходим для существования многоклеточных вообще и человека в том числе (а, может быть, даже особенно его). Проведем же такой анализ.

Как уже отмечалось, наиболее часто встречающиеся в литературе (и применяемые в медицинской диагностике) данные о мутационных процессах в организме касаются количества крупных хромосомных нарушений (аббераций, микроядер, сестринских хромосомных обменов и т. д.) в лимфоцитах крови. Объяснение тому очень простое — сильные нарушения методически достаточно просто регистрировать, а клетки крови — технически наиболее доступный объект, который можно изъять у человека без всякого вреда и с наименьшими неудобствами для него. Нарушения такого рода в норме (т. е. у людей здоровых, не подвергавшихся никаким регистрируемым вредным внешним воздействиям) составляют десятые процента (т. е. регистрируются в нескольких клетках на 1000 про-

смотренных). При неблагоприятных воздействиях — это уже проценты. В качестве весьма показательного примера приведем детальное исследование, проведенное среди жителей Семипалатинска и двух деревень вокруг него, японским исследователем [56]. Японец — он и в Семипалатинске японец, т. е. может публиковать данные независимо от отношения (безразлично — отрицательного, враждебного, убийственного и т. д.) к ним местного (и не только местного) начальства. Согласно его публикации, у ряда лиц частота встречаемости одних только микроядер составила 2—3 %, да отмечалось еще и резко повышенное количество других хромосомных поломок. Это, по оценке исследователя, соответствовало хроническому γ -облучению от ^{137}Cs -источника в дозе 5—10 Р с мощностью 20 мР/мин. Здесь надо сделать необходимое пояснение. Когда в таких случаях пишут «соответствует», то имеют в виду не собственно облучение, а взятые как тестовые процессы, вызывающие в объекте количественно и феноменологически такие же регистрируемые изменения. Только феноменологически и только регистрируемые. Если бы имелось не «соответствующее», а истинное облучение, равное 20 мР/мин, то это дало бы в год облучение более чем 10000 Р. Его не выдержит никто, даже закаленные ядерными испытаниями поколения Семипалатинцев. Такого уровня облучения реально у них, конечно же, нет. Но что-то очень нехорошее от того времени в организмах (и, возможно, в окружении) сохранилось. И дает о себе знать проявлением «эквивалентного соответствия».

Совершенно очевидно, что нарушения в геномах клеток этих людей велики. И выражается это в резко повышенном мутагенезе. Однако, несмотря ни на что, эти люди живут (может быть, не так долго и не так хорошо, но живут). Но ведь идеальная норма — десятые процента хромосомных нарушений — достояние всех, в том числе и самых что ни есть здоровых и цветущих, живущих в идеальных экологических условиях, индивидуумов. Может быть, такое свойственно только лимфоцитам? Но лимфоциты — это кратчайший путь (всего несколько делений) от стволовых клеток — хранилища здоровья и биологического благополучия их обладателей со всеми их клетками вместе взятыми. Тех самых стволовых клеток, которые многократно обновляют каждого единого самого в себе индивидуума. Может быть, это все — следствие делений, в которых на каждое приходится несколько мутаций? И это не проходит. Не потому, что мутации при делении не возникают (конечно же, возникают), а потому, что деления позволяют в обычно проводимых экспериментах выявлять мутации по-

средством идентификации мутантных клонов клеток. В диплоидных клетках рецессивная мутация при делении фенотипически не реализуется. Появление колонии фенотипически измененных клеток (при рецессивной мутации) возможно только в том случае, если уже начавшая мультиплицировать клетка такие мутации имела в обоих аллелях. Ошибки репликации имеют место, но они столь редки, что объяснить ими количество мутантных клеток просто невозможно — деления визуализируют уже имеющиеся мутации. И количество хромосомных нарушений в лимфоцитах — это не более чем доступная для массовой регистрации некая усредненная динамика непрерывно идущих в организмах мутационных событий за счет внутренних и внешних факторов. Для лимфоцитов же это еще и почти идеальный «счетчик». У них появление хромосомных нарушений — свидетельство только что появившихся генных мутаций, вызвавших изменения на хромосомном уровне. Это объясняется скоростью элиминации клеток с такими нарушениями.

Так, было показано, что после одноразового введения сильного мутагена хомячкам в их костном мозге количество А-хромосом падает с 30,1 % на 13-й ч до 5,6 % на 37-й ч из-за размножения малоповрежденных клеток и элиминации поврежденных [57]. Поэтому хромосомные нарушения — это не следствие деления клеток с ними, а результат возникновения новых мутаций. Мутации — это то непрерывно идущее давление «законов природы», которое неотвратимо «по природе вещей», лежащих в основе мироздания. И все флуктуации окружения (как, впрочем, и внутреннего метаболизма) только усиливают это действие. Очень наглядный пример — действие сверхнизких концентраций мутагенов. Было показано, что 10^{-17} моль/кг нитрозомочевины вызывает появление у лейкозных животных хромосомных нарушений в 15 % клеток [58]. При пересчете на массу это соответствует примерно дозе 0,1 пг нитрозомочевины на человека! При нашем-то разнообразном и могучем канцерогенном окружении, среди которого нитрозомочевина, увы, далеко не самое страшное. И живем же (по крайней мере, пока).

Но если непрерывно идет столь мощное мутагенное давление, если оно, как и положено, хаотически нарушает разные гены и их группы во всех клетках, преодолевая самую эффективную репарацию, и результируется во все теоретически мыслимые и массовые нарушения, то жизнь просто невозможна. Нигде и никогда. А она, жизнь, возникнув, далее не прекращается в ряду поколений в течение 4 млрд лет, а ее «венец творения» абсолютно

недопустимо исходя из «законов природы» и их действительного, повсеместного, вездесущего и неукоснительно реализуемого разрушительного действия живет бесконечные 100 лет (если повезет, конечно). Как такое может быть? А то, что такое действительно может быть, каждый индивид абсолютно точно и достоверно знает не по литературе. Значит, имеется еще что-то. Этим «что-то» может быть только механизм, присущий организму как особой системе, единой самой в себе. Его далекий прообраз был уже выработан популяцией на заре эволюции многоклеточных. Выработан как механизм, позволивший существовать той особой форме материи, обозначенной понятием «жизнь».

Выше уже отмечалось, что, согласно установленным наконце представлением, вся Биосфера объединена информационными потоками. Все популяции внутренне также объединены информационными потоками. Информационные потоки объединяют (информационно!) одноклеточных и, оцениваемые совместно по передаче и восприятию, в их популяциях могут колебаться от исчезающе малой величины до процентов совокупного генома. Как упоминалось выше, было бы просто невероятным, если бы такая система объединения клеток исчезла при их эволюционном преобразовании в организм. Исходя из общих соображений она, система информационных потоков, просто «обязана» была даже не просто сохраниться и не просто развиваться, но и качественно совершенствоваться, так как самым надежным образом (и, строго говоря, единственно надежным образом) делала организм единым самым в себе. Ибо никакая иная система защиты не обеспечивает унификации. А далее уже шли варианты развития подобных потоков.

Эволюция совершенствовалась такой объединяющей механизм, создавая геномы, структурно и функционально максимально ему, механизму информационного обмена, соответствующие. В результате генетический материал по разным механизмам подготавливается для передачи между клетками, передается и воспринимается. Фактически, т. е. строго экспериментально, это хорошо известно. Благодаря информационным потокам в организме образуется его единое информационное пространство. И поскольку мутации идут вероятно, а гены в разных клетках выходят из строя в высокой мере неодинаково, то в информационном пространстве организма имеется генетический материал всего профиля, среди которого, по тем же причинам вероятности, копии полноценных генов (для каждого и любого конкретно) будут преобладать.

Далее должны вступать в действие механизмы предпочтительной реализации информации, при которой клетка, поглощая генетический материал, встривала бы преимущественно полноценные гены взамен своих функционирующих неполноценных (или заменяла гомологичной рекомбинацией поврежденный фрагмент на неповрежденный). Что касается вовлечения в такой обмен исключительно (или высоковероятно) только функционирующих генов, то механизм этого «лежит на поверхности». Большинство неактивных генов находится в составе гетерохроматина, очень плотно упакованы, закрыты белками и для обмена в таком состоянии просто практически недоступны (или почти недоступны).

Функционирующие же гены пространственно для рекомбинационных обменов открыты максимально. В общем виде здесь все ясно. А вот механизмы предпочтительного обмена мутировавшего гена (или его мутировавшего фрагмента) на полноценный за счет обмена с поступившей в клетку ДНК пока непонятны. Справедливости ради следует отметить, что их и не искали. Даже вопрос о такой возможности не ставили. Так что отсутствие в литературе сведений о подобных механизмах неудивительно. Но даже на основе чисто случайных процессов обмена вероятность обмена «испорченного» гена на нормальный обратна вероятности мутаций. Так, если такая вероятность составляет 10^{-4} (на геном), то в циркулирующем генетическом материале 10^{-4} генов будут мутантными, а остальные — полноценные. Но и здесь должна быть некая избирательность — в обмен предпочтительно должны вступать поврежденные гены и не вступать — полноценные (или вступать существенно реже). Такая предпочтительность косвенно подтверждается особым состоянием тех генов, функции которых стали для клетки недостаточными. В самой что ни есть норме при необходимости для клетки соответствующие гены амплифицируются, активно репарируются и т. д. Более активная рекомбинация поврежденных генов в этой связи кажется вполне реальной. Репарация-то идет ведь не статическими заменами случайных последовательностей. Механизм такой неслучайности, а наоборот, исключительно высокой точности и направленности, понятен. Механизм же предпочтительной рекомбинации дефектного аллеля пока неясен. Но на его существование никаких запретов нет. А с позиций биологической целесообразности он вполне ожидаем. И тогда мутации как проявление «законов природы» по тем же самым ее, природы, законам начинают работать не на разрушение, а на сохранение.

Вследствие случайности процессов единое ин-

формационное пространство организма будет содержать для каждого индивидуального гена в высокой степени полноценные копии. Замена в клетках, где произошла мутация, полноценного гена такой копией приведет к восстановлению его функции. Теперь уже в общий информационный пул клетка начнет поставлять для данного гена его полноценную копию. И так все время и для всего генома. В результате совокупность генов организма получает совокупный механизм самовосстановления. Каждая клетка теперь работает на поддержание полноценности такого совокупного генома, исправляясь им, с одной стороны, и поддерживая его за счет своего же, обусловленного им исправления, с другой. И чтобы возникла общая мутация в совокупном геноме и закрепились в нем, вероятности будут совсем другие — на много порядков ниже. А вот какие конкретно и почему, можно будет понять, только выяснив механизмы поддержания целостности совокупного генома организма, а не изолированной от него его отдельной клетки.

Можно ли оценить информационное пространство организма, его динамику и потенциал? Имеющиеся в литературе данные позволяют это сделать, но только на уровне нижнего предела. Нижнего в том смысле, что имеется только «крайний» материал: для клеток — содержание в них внехромосомной ДНК, а для организма — содержание ДНК в крови и его клиренс. И рассчитанные по нему величины будут в неопределенное число раз меньшими, чем имеющиеся в действительности. То есть меньше уже быть не может. Попробуем же оценить этот нижний предел.

Как уже отмечалось, в самой клетке находится экстрахромосомная ДНК. И, кроме того, непосредственно в ядре имеется еще и своя особая фракция. Рекомбинационный обмен между гомологичными хромосомами ограничен, помимо всего прочего, необходимостью пространственного соприкосновения аллелей. При той плотности содержания ДНК в ядре и длине каждой хромосомы, каковые имеют место и указаны выше, такое пространственное соприкосновение аллелей будет достаточно редким событием. Если же попробовать оценить время, необходимое для того, чтобы в таком контакте побывали все гены, то при любых допущениях это растянется на многие месяцы. Мутации же, т. е. нарушения, ускользающие от классической внутриклеточной репарации, идут очень интенсивно (как показано выше в разных вариантах расчетов — на порядки быстрее). Кроме того, согласно каноническим представлениям, межаллельные хромосомные митотические рекомбинации не убирают мутации, а лишь перераспределяют их между ал-

делями. Принципиально иначе будет вести себя рекомбинация между мутантным аллелем, находящимся на хромосоме, и полноценным, расположенным на внехромосомной производной (например, амплификате) второго, полноценного аллеля. Размер его на несколько порядков меньше хромосомы. Количество же, наоборот, может быть во много раз больше. Поэтому вероятность контакта такой нехромосомной ДНК с гомологичным участком на хромосоме окажется не просто как угодно большой, но еще и функционально-зависимой, т. е. регулируемой. Такое будет иметь место при количественном изменении скорости образования, размера, формы (кольцевая или линейная), состояния (релаксированное или суперскрученное в разной степени) и т. д. И, наконец, такая рекомбинация будет не перераспределять мутации между аллелями, а убирать их из аллелей. Перенос мутантного фрагмента на внехромосомную ДНК приведет к исправлению аллеля, а клиренс нехромосомной ДНК элиминирует мутацию. При этом очень важно учитывать следующее.

Содержание внутриядерной ДНК определяется количественно как единицы процентов от тотальной. В основной массе клеток организма большая часть генома функционально неактивна и структурно практически не достигаема для рекомбинации, так как находится в виде плотно конденсированного гетерохроматина. А структурных и регуляторных генов всего 1,5 % от всего объема генома. И те единицы процентов от тотальной ДНК, которые присутствуют в ядре, становятся количественно близкими к общей сумме активных в этом ядре генов (а, возможно, и многократно превосходящими их). И роль клиренса (который очень приблизительно, на основании изучения в системах *ex vivo* общей динамики внеклеточной ДНК, т. е. скорости ее выхода из клеток, соответствует примерно 50 % за двое суток) фактически сводится к элиминации внехромосомной ДНК ядра, вобравшей в себя мутации из хромосом. При таком механизме устранения мутаций экстрахромосомная ДНК (в основном, ядерной локализации) может выполнять функцию некоего немутантного резерва, особенно для генов, не имеющих аллелей (например, в Y- или X-хромосомах у мужчин).

Прототип такого типа элиминации мутаций известен для некоторых прокариот. Так, лет 40 тому назад очень остро и совершенно неожиданно возникла проблема получения у медленно растущих клубеньковых бактерий клонов, мутантных по любому гену. Надо было иметь маркированные линии для разного рода исследований.

После облучений или обработки мутагенами

отбирали клоны с четкими изменениями фенотипа (по трофике, морфологии, способности к симбиозу и т. д.). Но через несколько пересевов все восстанавливалось и никакими серийными рассевами с последующим отбором нереввертирующую мутантную форму получить не удавалось. Оказалось, что клетки этих бактерий имеют множественные (и, конечно же, идентичные) хромосомы. Мутации по любому гену могли возникнуть даже во всех хромосомах, вследствие чего и изолировался мутантный клон. Но в каждой его клетке мутации такого гена в разных хромосомах были локализованы в разных участках. За счет случайности, статистичности самого мутагенеза. И вследствие гомологичной рекомбинации через некоторое время происходило восстановление гена, который замещал (сам или путем элиминации — замещения хромосом) мутантный. Механизм подобный избирательности замещения неизвестен и поныне. Но механизм, по которому из 100 %-х мутантов возникали 100 %-е ревертанты, известен. Благодаря этому проблему получения ревертантов тогда успешно решили, найдя условия, при которых клетки становились монохромосомными (т. е. фактически гаплоидными). И с учетом этого механизма, существующего у прокариот, диплоидность в сочетании с внехромосомными амплификатами приводит к тому качественно новому уровню борьбы с мутациями, который обеспечивает двойной набор хромосом, начиная с популяции диплоидных одноклеточных, эволюционирующей в многоклеточные.

В предыдущей части предлагаемой серии публикаций было оценено (очень условно) среднее время жизни клетки в организме человека в виде 50 %-го обновления за один месяц. Как указывалось выше, содержание внехромосомной ядерной ДНК составляет несколько процентов от тотальной (примем по минимуму — 2 %). Это значит, что в самом первом приближении за 2 месяца (время условно полной смены всех клеток в организме человека) в живых, еще не элиминированных клетках, как минимум 1,2 раза внехромосомно воссоздается, прорекомбинирует и исчезнет весь совокупный геном. За 75 лет жизни, таким образом, внутриядерные информационные потоки будут соответствовать 525 совокупным геномам индивидуума.

Как отмечено выше, в крови здорового человека присутствие внеклеточной ДНК оценивается разными исследователями в очень широком диапазоне — от нескольких десятых микрограмма до нескольких микрограммов (иногда — нескольких десятков микрограммов) в 1 мл. Примем некое усреднение — 1 мкг в 1 мл. Существенно меньше

как некое среднее падение концентрации ДНК в крови вдвое за 10 мин, хотя, по имеющимся данным, оно меньше этой величины [59].

Круговорот и циркуляция жидкой фракции внеклеточной локализации в организме человека организованы весьма неординарно. Кровь циркулирует в достаточно «герметичном» пространстве — сети кровеносных сосудов. И непосредственно со всеми клетками организма (кроме внутренней поверхности сосудов) кровь как таковая в норме не соприкасается. Все клетки организма контактируют с околкеклеточной жидкостью, находящейся в межклеточном пространстве. Затем эта жидкость переходит в лимфатические сосуды, все более и более крупные и, наконец, вливается в кровоток. А из кровотока она диффундирует через межклеточное пространство капилляров в межклеточное пространство, окружающее клетки. И чтобы в крови находилось постоянно регистрируемое количество ДНК при том, что клиренс составляет 10 мин, надо (в первом приближении), чтобы ее удвоенное количество поступало в кровоток также каждые 10 мин. Поскольку кровь для ДНК — конечный и очень недолгий путь (за счет ее быстрого поглощения), то поступать в кровь ДНК может почти исключительно из межклеточного пространства. Скорость движения жидкости между клетками на порядки медленнее, чем по кровотоку. Поэтому и выделение, и поглощение ДНК в межклеточном пространстве будут существенно (и, вследствие отсутствия данных, неопределенно) выше, чем клиренс из крови.

Но, как обусловлено выше, расчет ведется по нижнему пределу, и будем считать содержание ДНК и ее клиренс в межклеточном пространстве такими же, как в крови. Если всю лимфу и всю околкеклеточную жидкость вместе взятые приравнять по объему к крови, то общее содержание суммарной жидкости для усредненного человека (приблизительно и округленно) можно принять за 10 л. В них с учетом принятых выше допущений постоянно присутствует в общей сложности 10 мг внеклеточной ДНК. А чтобы такое было при 10-мин клиренсе, фактически образуемое количество внеклеточной ДНК должно составлять примерно 20 мг. В сутки это составит 2,88 г, а за 75 лет жизни — несколько более 79 кг. В условно усредненной клетке человека (без учета функциональных, патологических и возрастных элиминаций) с поправкой на всякие варианты амплификации ДНК будет при любых допущениях и отклонениях не более 10 пг. И весь совокупный геном человека, если суммировать наследственный материал всех $\approx 5 \cdot 10^{13}$ клеток, его составляющих, не превысит (в пределе!) 500 г. Это значит, что за 75 лет жизни

через внеклеточную жидкость человека пройдут, т. е. выделятся клетками, проконтактируют с ними, поглотятся и, в конце концов, будут удалены из организма примерно 160 его геномов. Без учета смены клеток, только за счет внеклеточного содержимого. Не менее 160 совокупных геномов человека выделятся, пройдут через самого себя, поглотятся и деградируют за его жизнь. Это сплотит и унифицирует весь геном, обеспечив тем самым его единение. А внутриядерные потоки за это же время составят 525 совокупных геномов, гарантируя таким путем внутриклеточную унификацию. И становится понятной структура генома человека: 1,5 % — это мы, каждый из нас как личность, а остальные 98,5 % нашего наследственного материала с его блочностью и фантастическим рекомбинационным потенциалом — это обеспечение нашего существования во времени. Обеспечение того, чтобы 1,5 %, определяющих индивидуума, могли в составе его совокупного генома не разрушаться в течение видового срока. Вся основная часть нашего генома (98,5 %) с ее повторами, нестабильностью, блочностью и т. д. необходима для создания, поддержания и эффективного функционирования информационного пространства организма.

Единое совмещенное информационное пространство организма — это то недостающее звено, которое в сочетании с уже известными совмещенными пространствами организма позволяет ему прожить ничтожные по сравнению со временем жизни на Земле и одновременно бесконечные по сравнению с мутационной реализацией «законов природы» видовые 100 лет. Если повезет, конечно.

Но если информационное пространство организма столь эффективно, если оно способно (вместе со всеми остальными достоинствами организма как системы) противостоять нехорошим по отношению к человеку законам природы, то почему же тогда все равно имеется этот абсолютно неприемлемый для всех и столь же неизбежный (тоже для всех) «видовой срок»? Почему?

V. A. Kordyum

Our «Shagreen leather» is our problem. And we have to solve it.

3. A missing link

Summary

The idea that genomes of multi-cellular organisms, including human, are not informatively isolated but united into a common informational space is being developed. Such unification is performed through formation of out-chromosomal DNA, its release from cells, absorption by other cells (or direct transfer from cell to cell) and further selective inclusion into their genomes. The common informational space of organism is a special and exceptionally effective mechanism of the resistance to mutational pressure.

В. А. Кордюм

Наша «шагренава шкіра» — це наша проблема. Нам її і вирішувати. З. Ланка, якої бракує

Резюме

Розвивається уявлення про те, що геноми клітин багатоклітинних (у тому числі й людини) не є інформаційно ізольованими, а поєднані у єдиний інформаційний простір організму. Таке поєднання здійснюється за рахунок утворення позахромосомної ДНК, її виділення з клітин, поглинання іншими клітинами (або безпосередньо від клітини до клітини) і наступного вибіркового включення у їхні геноми. Єдиний інформаційний простір організму є особливим і винятково ефективним механізмом протидії мутаційному тискові.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кордюм В. А. О концепции «вирусы» и их месте в биосфере // Биополимеры и клетка.—2000.—16, № 2.—С. 87—98.
2. Bioindustry defends cloning after Dolly's death // Genet. Eng. News.—2003.—23, N 5.—P. 57—58.
3. Koltover V. K. Aging versus reliability: Stochastic modulations of the genetic melodies: Abstr. 2nd Eur. Congr. Biogerontol.: from Molecules to Human (Saint Petersburg, Aug. 25—28, 2000) // Успехи геронтології.—2000.—№ 5.—С. 23.
4. Обухова Л. К., Эмануэль Н. М. Роль свободнорадикальных реакций окисления в молекулярных механизмах старения живых организмов // Успехи химии.—1983.—52, № 3.—С. 353—372.
5. Хесин Р. В. Непостоянство генома.—М.: Наука, 1984.—472 с.
6. Папонов В. Д. Динамика генетического аппарата эукариотов (динамика генома) // Успехи соврем. биологии.—1987.—103, № 3.—С. 354—370.
7. Bertelsen A. H., Humayun M. Z., Lippman A., Rush M. G. Identification of extrachromosomal DNA in hematolymphoid cells of chickens and mice // Biochem. and Biophys. Res. Commun.—1982.—105, N 3.—P. 977—984.
8. Riabowol K., Reis R., Schmoekler J., Goldstein S. Interspersed repetitive and tandemly repetitive sequences are differentially represented in extrachromosomal covalently closed circular DNA of human diploid fibroblasts // Nucl. Acids Res.—1985.—13, N 15.—P. 5563—5584.
9. Тульчинський Е. М., Григорян М. С., Луканидин Е. М. Кольцевые формы длинных диспергированных повторов в геноме мыши // Генетика.—1987.—23, № 9.—С. 1535—1546.
10. Pont G., Degroote F., Picard G. Some extrachromosomal circular DNAs from Drosophila embryos are homologous to tandemly repeated genes // J. Mol. Biol.—1987.—195, N 2.—P. 314—335.
11. Misra R., Shih A., Rush M., Wong E., Schmid C. W. Cloned extrachromosomal circular DNA copies of the human transposable element THE-1 are related predominantly to a single type of family member // J. Mol. Biol.—1987.—196, N 2.—P. 233—243.
12. Сальников К. В. Экстрахромосомальная ДНК в клетках млекопитающих // Цитология.—1990.—32, № 11.—С. 1061—1071.
13. Zambrano N., Ammendola R., Russo T., Gimino F. Changes in extrachromosomal DNA during rat aging // Ital. J. Biochem.—1991.—40, Suppl. N 1.—P. 45A—46A.
14. Lou Z., Kastury K., Crilley P., Lasota J., Druck T., Croce C. M., Huebner K. Human bone marrow-derived closed circular DNA clones // Genes, Chromosomes and Cancer.—1993.—7, N 1.—P. 15—27.
15. Rogers J. C., Rucinsky T. E. Unstable high molecular weight inverted repetitive DNA in human lymphocytes // Nucl. Acids Res.—1982.—10, N 18.—P. 5483—5501.
16. Ritossa F. Drosophila. On magnification of rDNA in Drosophila // Biol. Cell.—1982.—43, N 1—2.—P. 7.
17. Scott A. «Retrofection»: a new role for retroviruses // New Sci.—1987.—114, N 1560.—P. 33.
18. Бухман В. Л., Акопян А. Н., Киселев С. Л., Нинкина Н. Н., Анохин К. В., Георгиев Г. В. Кольцевые ID-последовательности в синапсомной фракции из коры головного мозга крыс // Докл. АН СССР.—1990.—310, № 4.—С. 1004—1008.
19. Szyfter K., Wiktorowicz K. Regulatory effect of DNA released by proliferating human lymphocytes // Stud. biophys.—1980.—81, N 2—3.—P. 171—172.
20. Gaubatz J. W. Extrachromosomal circular DNAs and genomic sequence plasticity in eukaryotic cells // Mutat. Res. DNaging: Gen. Instab. and Aging.—1990.—237, N 5—6.—P. 271—292.
21. DNA rings may be the key to aging // New Sci.—1983.—97, N 1345.—P. 441.
22. Macieira-Coelho A. Genome reorganization during cellular senescence // Mech. Aging and Dev.—1984.—27, N 2.—P. 257—262.
23. Kunisada T., Yamagishi H., Ogita Z.-I., Kirakawa T., Mitsui Y. Appearance of extrachromosomal circular DNAs during *in vivo* and *in vitro* aging of mammalian cells // Mech. Aging and Dev.—1985.—29, N 1.—P. 89—99.
24. Goldstein S., Srivastava A., Riabowol K. T., Shmoekler R. R. J. Genetic organization and expression in aging human fibroblasts // *In vitro*.—1985.—21, N 3, pt 2.—P. 14.
25. Aparicio S. A. J. R. How to counting human genes? // Nature Genet.—2000.—25, N 2.—P. 129—130.
26. Ewing J., Green P. Analysis of expressed sequence tags indicates 35,000 human genes // Nature Genet.—2000.—25, N 2.—P. 232—234.
27. Rowold D. J., Herrera R. J. Alu elements and the human genome: Pap. 7th Conf. Small Genomes (Arlington, 1999) // Genetica.—2000.—108, N 1.—P. 57—72.
28. Акифьев А. П., Дегтярев С. В., Худолий Г. А., Терентьев М. А. Эволюционные аспекты генетической организации эукариот // Пробл. мутагенеза и эволюции: Сб. работ памяти В. В. Сахарова.—М.: Наука, 1986.—С. 53—60.
29. Radloff R., Bauer W., Vinograd J. A dye-bouyant-density method for the detection and isolation of closed circular DNA in HeLa cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1967.—57.—P. 1514—1521.
30. Jones R. S., Potter S. S. Characterization of cloned human alphoid satellite with an unusual monomeric construction: evidence for enrichment in HeLa small polydisperse circular DNA // Nucl. Acids Res.—1985.—13.—P. 1027—1042.
31. Yamagishi H. Role of mammalian circular DNA in cellular differentiation // BioEssays.—1986.—4.—P. 218—221.
32. Okazaki K., Davis D., Sarano H. T-cell receptor and sequences in the circular DNA of thymocyte nuclei: direct evidence for intramolecular DNA deletion in V-D-J-joining // Cell.—1987.—49.—P. 477—485.
33. Липская Л., Житкович А., Васюхин В., Цветков А., Сальников К. Участие эндонуклеазы в образовании экстрахромосомальной ДНК и возможные механизмы возникновения амплификации генов // Цитология.—1993.—35, № 1.—С. 70—77.
34. Anker P., Stroun M., Maurice P. A. Spontaneous release of DNA by human blood lymphocytes shown *in vitro* system // Cancer Res.—1975.—35.—P. 2375—2382.

35. *Stroun M., Anker P., Maurice P. A., Gahan P. B.* Circulating nucleic acids in higher organisms // *Int. Rev. Cytol.*—1977.—51.—P. 1—48.
36. *Stroun M., Anker P., Lyantey J., Lederrey C., Maurice P. A.* Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients // *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*—1987.—23.—P. 707—712.
37. *Федоров И. А., Янева Н. С.* Экскреция ДНК лимфоцитами человека // *Успехи соврем. биологии.*—1982.—93, № 2.—С. 171—182.
38. *Казаков В. И., Божков В. М., Линде В. А., Репина М. А., Михайлов В. М.* Внеклеточная ДНК в крови беременных женщин // *Цитология.*—1995.—37, № 3.—С. 232—236.
39. *Владимиров В. Г., Шерлина С. С.* Влияние различающихся по своей природе экстремальных факторов на распределение повторяющихся последовательностей во внеклеточной ДНК // *Радиационная биология. Радиоэкология.*—2002.—42, № 6.—С. 754—758.
40. *Bennett R. M., Gabor G. T., Merritt M. M.* DNA binding to human leukocytes // *J. Clin. Invest.*—1985.—76, N 12.—P. 2182—2190.
41. *Emlen W., Rifal A., Magilav D., Mannik M.* Hepatic binding of DNA is mediated by a receptor on nonparenchymal cells // *Amer. J. Pathol.*—1988.—133.—P. 54—60.
42. *Loke S. L., Stein C. A., Zhang X. H., Mori K., Nakanishi M., Subasinghe C., Cohen J. S., Neckers L. M.* Characterization of oligonucleotide transport into living cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1989.—86.—P. 3474—3478.
43. *Takagi T., Hashiguchi M., Mahato R. J., Takuda H., Takakura Y.* Involvement of specific mechanism in plasmid DNA uptake by mouse peritoneal macrophages // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1998.—245.—P. 729—733.
44. *Al-Mousa S., Nicholls P. J., Gumbleton M.* Evidence for the role of caveolae in gene delivery // *J. Pharm. and Pharmacol.*—1999.—51.—P. 178.
45. *Jacob L., Lety M.-A., Louvard D., Bach J.-F.* What is the primary target of anti-DNA auto-antibodies? // *Protides Biol. Fluids: Proc. 33rd Colloq.*—Oxford, 1985.—P. 393—398.
46. *Stess D., Vedder C. T., Merckens L., Tanaka T., Freed A., McCay S., Heinrich M., Deffebach M., Bennett R., Herendeider S.* A human gene coding for a membrane-associated nucleic acid-binding protein // *J. Biol. Chem.*—2000.—275, N 43.—P. 33655—33662.
47. *Li X., Sambhara S., Li C. X., Ewasyshyn M., Parrington M., Caterini J., James O., Cates G., Du R.-P., Klein M.* Protection against respiratory syncytial virus infection by DNA immunization // *J. Exp. Med.*—1998.—188, N 4.—P. 681—688.
48. *Triyatni M., Jilbert A. T., Qiao M., Miller D. S., Burrell C. J.* Protective efficiency of DNA vaccines against duck hepatitis B virus infection // *J. Virol.*—1998.—72, N 1.—P. 84—94.
49. *Tiollais P., Michel M.-L.* La vaccination genetique. Perspectives pour la prevention et le traitement de l'hepatite B // *C. r. Acad. Sci. Ser. 3.*—1999.—322, N 11.—P. 979—981.
50. *Weiner D. B., Kennedy R. C.* Genetic vaccines: Vaccines crafted from genetic material might one day prevent AIDS, malaria and other devastating infections that defy current immunization technologies. They may even help treat cancers // *Sci. Amer.*—1999.—281, N 1.—P. 34—41.
51. *Gurunathan S., Klinman D. M., Seder R. A.* DNA vaccines: Immunology, application, and optimization // *Annu. Rev. Immunol.*—2000.—18.—P. 927—974.
52. *Wrotnowski C.* Biosensors for the study of protein activity // *Genet. Eng. News.*—2002.—22, N 19.—P. 64—66.
53. *Сердюк О. И., Сухова Т. И., Алехина Р. П., Шелепов В. П., Арсенин С. Л., Моисеев В. Л., Лихтенштейн А. В.* Метаболические и структурные свойства внехромосомных ДНК в клетках млекопитающих // *Биохимия.*—1996.—61, № 10.—С. 1825—1836.
54. *Глебов О. К., Абрамян Д. С., Романов С. Р., Смагина Л. В.* Исследование влияния бутирата натрия и люминола на реципрокные обмены и генную конверсию при экстрахромосомной рекомбинации ДНК в культивируемых клетках животных // *Цитология.*—1994.—36, № 5.—С. 441—451.
55. *Bergsmedh A., Szeles A., Henriksson M., Bratt A., Folkman M. J., Spetz A.-L., Holmgren L.* Horizontal transfer of oncogenes by uptake of apoptotic bodies // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—2001.—98, N 11.—P. 6407—6411.
56. *Tamaka K.* Chromosome and micronucleus aberrations in lymphocytes from resident people in Semipalatinsk nuclear test sites // *J. Radiat. Res.*—1999.—40, N 4.—P. 358.
57. *Кузин С. М.* Элиминация хромосомных aberrаций и сестринских хроматидных обменов в клетках костного мозга джунгарских хомячков после мутагенного воздействия // 2-й Всесоюз. съезд мед. генетиков (Алма-Ата, 4—6 дек., 1990): Тез. докл.—М., 1990.—С. 224—225.
58. *Фомина М., Островская Л. А., Корман Д. Б.* Цитогенетические особенности влияния сверхмалых доз цитостатиков на опухолевые клетки // 1-й Симпоз. «Перспективы использования сверхмалых доз лекарственных препаратов в онкологии» (Москва, 6—7 дек., 2000): Тез. докл.—М., 2000.—С. 22—24.
59. *Budker V., Budker T., Zhang G., Subbotin V., Zoomis A., Wolff J. A.* Hypothesis: packaged plasmid DNA is taken up by cells *in vivo* by a receptor-mediated process // *J. Gene Med.*—2000.—2, N 1.—P. 76—88.

УДК 577.214.625

Надійшла до редакції 14.08.03