

Е.Ю. РЫКОВА, И.А. ЗАПОРОЖЧЕНКО, П.П. ЛАКТИОНОВ

# НУКЛЕИНОВЫЕ СТРАННИКИ

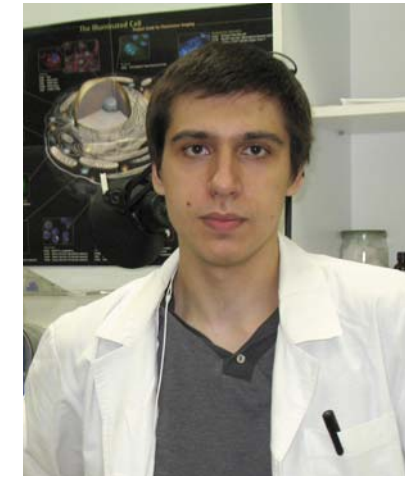


*Что представляют собой свободные, т.е. внеклеточные нуклеиновые кислоты? Для обитающих в почве и в морских отложениях бактерий это – источник азота и фосфора, а для инфицированной патогеном клетки – сигнал «опасность!» Но, как было выяснено в последние десятилетия, функции и роль нуклеиновых «странников» на этом далеко не исчерпываются. И с каждым годом мы узнаем все больше об этих молекулах, которые во многом определяют функционирование биологических систем, от клетки до популяции*

**Ключевые слова:** внеклеточные РНК, внеклеточные ДНК, горизонтальный перенос генов, микроРНК, транспорт нуклеиновых кислот.  
**Key words:** exRNA, exDNA, horizontal gene transfer, microRNA, nucleic acid transport



**РЫКОВА Елена Юрьевна** – доктор биологических наук, старший научный сотрудник группы клеточной биологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 72 научных работ и 9 патентов



**ЗАПОРОЖЧЕНКО Иван Андреевич** – аспирант группы клеточной биологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 5 научных работ и 1 патента



**ЛАКТИОНОВ Павел Петрович** – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы клеточной биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 79 научных работ и 15 патентов

**Н**уклеиновые кислоты, ДНК и РНК, несут информацию о строении, развитии и размножении всех клеток живого организма, поэтому неудивительно, что клетки тщательно оберегают эти структуры от действия потенциально опасных внешних факторов. Так, у бактерий геномные ДНК компактно упакованы с помощью специальных белков и защищены от окружающей среды прочной клеточной стенкой; в клетках высших организмов ДНК хранится в клеточном ядре в составе сложных структур – хромосом.

Долгие годы считалось, что за пределы клетки нуклеиновые кислоты выходят лишь в случае смерти последней. Конечно, было известно, что у бактерий в ходе размножения ДНК переносится из одной клетки к другой, но и в этом случае она перемещается не свободно, а внутри специального белкового комплекса. Даже ДНК и РНК «условно живых» вирусов, представляющих собой автономные генетические программы, перемещаются во внеклеточном пространстве, упакованные в специальные транспортные структуры.

Однако исследования последних лет показали, что «свободные», т.е. внеклеточные нуклеиновые кислоты встречаются в больших количествах не только в таких

природных системах, как почва, но и непосредственно в живых организмах. Какую же роль играют и какие специфические функции выполняют эти нуклеиновые кислоты, находящиеся «в свободном плавании»?

## Генетическая «интервенция»?

Нуклеиновые кислоты – довольно стабильные полимерные молекулы, поэтому они могут сохраняться в естественной среде длительное время после гибели организма. Так, в костной ткани относительно длинные фрагменты ДНК остаются практически неизменными в течение десятков тысяч лет (!), что делает возможным проведение палеогенетических исследований, таких как расшифровка генома мамонта или неандертальца.

В верхнем 10-сантиметровом слое океанических донных отложений концентрация ДНК бактериального происхождения составляет около 0,5 г/м<sup>2</sup>, причем более 90 % ее является «свободной» (Dell'Anno, Danovaro, 2005). Общее же количество ДНК, ежегодно попадающее на дно океана, превышает 12 млрд т! Очевидно, что такие запасы в качестве потенциального источника азота и фосфора оказывают значительное влияние на жизнедеятельность морских микроорганизмов.

В почве, где ДНК растительного и бактериального происхождения может сохраняться месяцами и даже годами, ее концентрация достигает 2 мкг/г (Niemeier, Gessler, 2002). Интерес к такой ДНК сегодня подогревается проблемой генетически модифицированных организмов, ведь после гибели таких растений в окружающую среду попадает рекомбинантная ДНК. Имелись опасения, что подобные «модифицированные» гены будут ассимилироваться почвенными бактериями и переноситься в другие организмы путем так называемого горизонтального переноса генов – своего рода «параллельной» эволюции, характерной для микроорганизмов. Однако прямых доказательств переноса генетической информации от генно-модифицированных растений к бактериям на сегодня нет, и вообще вероятность такого процесса в природных условиях крайне мала.

Но иногда горизонтальный перенос ДНК становится реальным источником проблем. Речь идет о бактериальных пленках (так называемых *биофильмах*), которые образуются на твердых поверхностях, в том числе на поверхности эндопротезов, зубов (вызывая кариес), а также на стенках бронхов при бронхитах и пневмониях.

Такие пленки состоят из размножающихся бактерий, связанных между собой и с поверхностью полимерным гидратированным веществом из смеси полисахаридов, белков, ДНК и РНК (Nishimura *et al.*, 2003). Причем нуклеиновые кислоты появляются в межклеточном веществе биофильмов не только за счет гибели бактерий, но и в результате специального секреторного процесса, который стимулируется совместным «культивированием» различных видов бактерий (Hamilton *et al.*, 2005). Эти ДНК могут достаточно легко переноситься от одной

бактерии к другой, поэтому биофильмы – настоящая головная боль терапевтов: входящие в состав пленок болезнетворные бактерии не только скрываются там от действия опасных факторов, но и успешно эволюционируют за счет генетического обмена в устойчивые (в том числе к антибиотикам) штаммы.

Что касается потребления ГМО человеком, то в наш организм ежедневно с пищей попадает значительное количество чужеродных ДНК различного происхождения. Известно, что у людей, потребляющих в пищу генно-модифицированную сою – самый распространенный трансгенный продукт, специфичный трансген успешно переваривается в желудочно-кишечном тракте (Netherwood *et al.*, 2004).

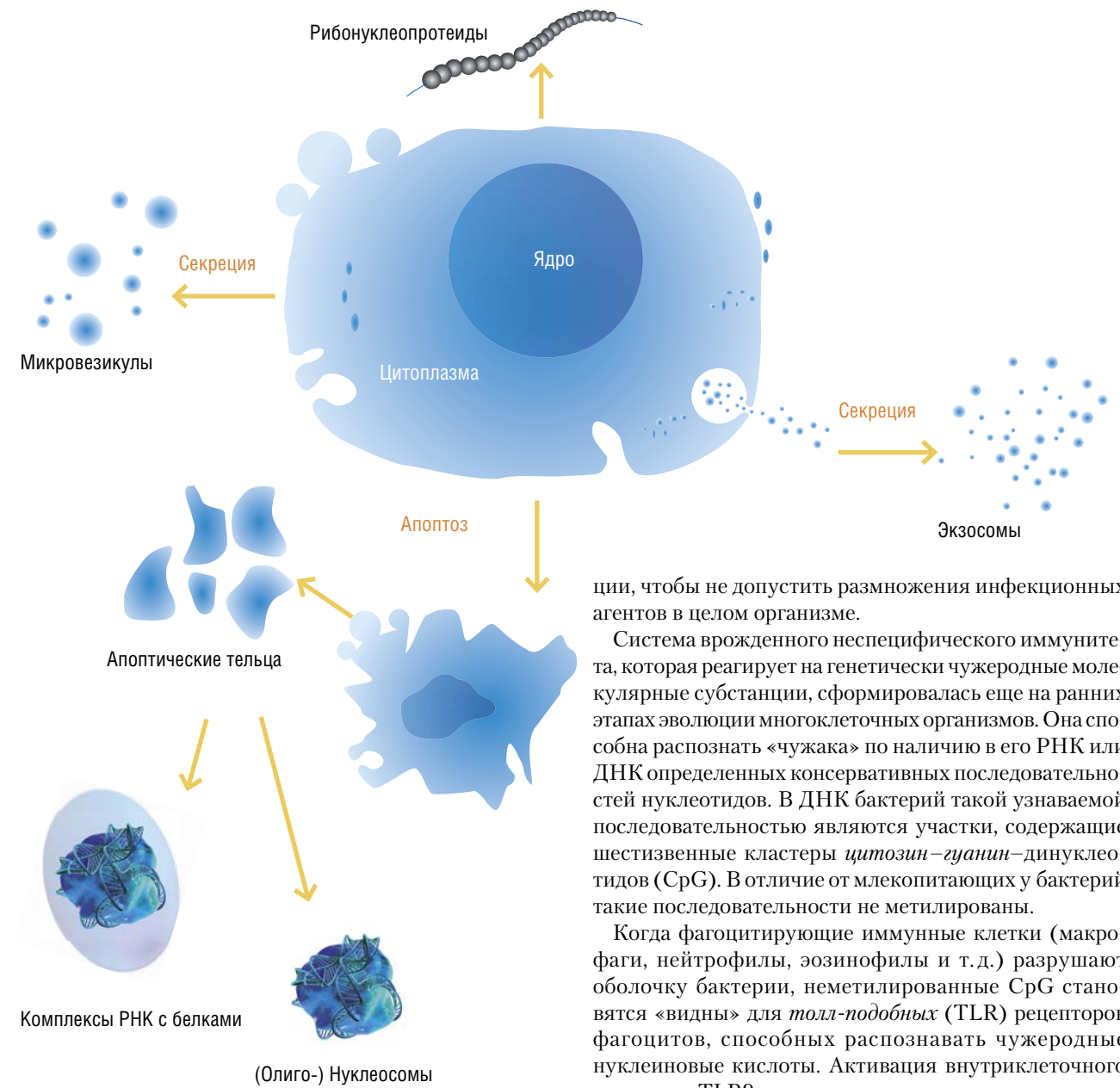
Однако со «съеденными генами» так происходит не всегда. Как показали исследования на лабораторных животных, фрагменты ДНК из переваренной пищи спустя двое суток после кормления могут попадать в кровь и задерживаться в клетках печени и селезенки (Hohlweg *et al.*, 2001). Однако в клетках животных не происходит считывания соответствующей РНК и синтеза белков, кодируемых растительными генами. Это справедливо и в отношении трансгенной ДНК, что подтверждается результатами эксперимента по кормлению лабораторных мышей ГМО-продуктами в течение восьми поколений (*там же*).

Таким образом, непосредственной опасности, связанной с употреблением трансгенных продуктов, на сегодняшний день не выявлено. Безусловно, в процессе эволюции должны были появиться механизмы, защищающие клетки от вторжения чужеродной ДНК, столь широко распространенной в окружающей среде.

Тем не менее отношения между нами и тем, что мы едим, не так просты. Судя по результатам последних исследований, в организмах животных РНК растительного происхождения могут сохранять свою биологическую активность! Так, китайским исследователям удалось обнаружить в клетках желудочно-кишечного тракта и затем в крови лабораторной мыши и человека микроРНК из пищи (риса и растений семейства крестоцветных), причем в значительных концентрациях. Эта чужеродная микроРНК оказалась способна подавлять экспрессию одного из генов, кодирующего белок рецептора липопротеина низкой плотности (Zhang *et al.*, 2012).

## На пути агрессоров

Живые клетки не только заботливо охраняют свои генетические программы, но и активно борются с чужими. При заражении вирусами или бактериями первая реакция клетки-хозяина состоит в распознавании и уничтожении чужих нуклеиновых кислот; либо зараженная клетка включает механизмы самоликвидации



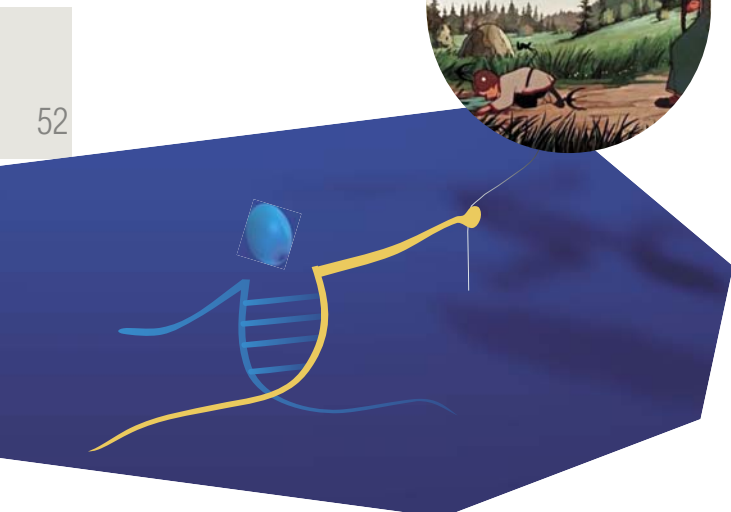
ции, чтобы не допустить размножения инфекционных агентов в целом организме.

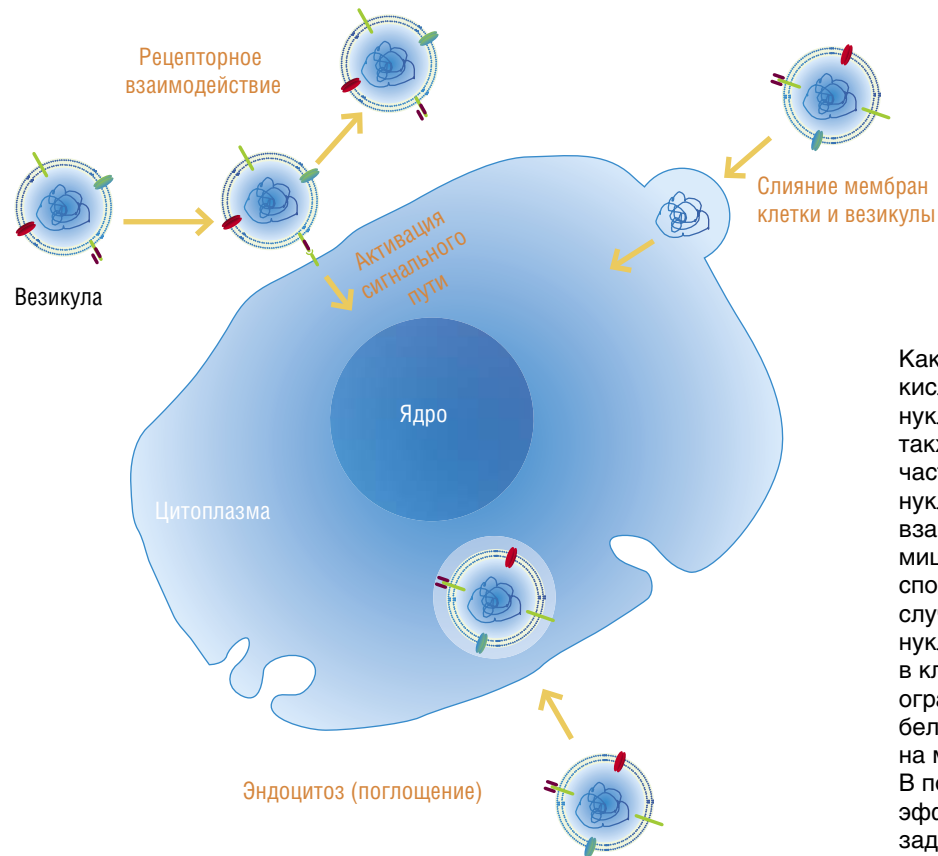
Система врожденного неспецифического иммунитета, которая реагирует на генетически чужеродные молекулярные субстанции, сформировалась еще на ранних этапах эволюции многоклеточных организмов. Она способна распознать «чужака» по наличию в его РНК или ДНК определенных консервативных последовательностей нуклеотидов. В ДНК бактерий такой узнаваемой последовательностью являются участки, содержащие шестизвенные кластеры *цитозин-гуанин*-динуклеотидов (СрG). В отличие от млекопитающих у бактерий такие последовательности не метилированы.

Когда фагоцитирующие иммунные клетки (макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и т.д.) разрушают оболочку бактерии, неметилированные СрG становятся «видны» для *толл-подобных* (TLR) рецепторов фагоцитов, способных распознавать чужеродные нуклеиновые кислоты. Активация внутриклеточного рецептора TLR9 запускает цепочку молекулярных событий, определяющих дальнейшее развитие иммунной реакции. Происходит активация В- и Т-лимфоцитов, которые начинают усиленно вырабатывать специальные вещества – *цитокины*, координирующие развитие воспалительного процесса; усиливается продукция иммуноглобулинов (Hacker *et al.*, 2002). И, наконец, на последнем этапе происходит выработка антител, специфичных к патогену.

При вирусной инфекции сигналом опасности для иммунной системы служит наличие характерной для вируса двуцепочечной РНК («обычная» для клетки РНК, в отличие от ДНК, состоит из одной цепочки нуклеотидов). Такая РНК либо присутствует в составе

Пути появления в организме эндогенных внеклеточных нуклеиновых кислот можно разделить на два основных типа. К первому относится активная секреция их клетками в составе различных везикулярных структур – таким образом переносится преимущественно матричные и малые РНК. Второй тип связан с разрушением клеток в ходе запрограммированной клеточной смерти (апоптоза) или некроза





Как и источники нуклеиновых кислот, пути проникновения нуклеиновых кислот в клетки также различаются. Везикулярные частицы (пузырьки), содержащие нуклеиновые кислоты, способны взаимодействовать с клетками-мишенями различными способами. В некоторых случаях происходит перенос нуклеиновых кислот из везикулы в клетку, в ходе которого ограничивается взаимодействием белковых рецепторов на мембранах везикулы и клетки. В последнем случае дальнейшие эффекты обуславливаются типом задействованного рецептора

### Своя рубашка ближе к телу

вирусных частиц, либо появляется в зараженной клетке в процессе размножения вируса.

Узнавание двуцепочечной РНК как сигнала опасности опосредуется поверхностным фагоцитарным рецептором TRL3, который и запускает сигнальный каскад, активирующий усиленный синтез противовоспалительных белков-интерферонов (Yu *et al.*, 2011). Последние, специфически связываясь с клеточными рецепторами, активируют работу определенных генов, ответственных за противовирусный ответ. Например, ген, кодирующий фермент *РНК-зависимую протеинкиназу* (PKR), который индуцирует *апоптоз* (клеточное самоубийство), либо белковый комплекс OAS/RNaseL, который угнетает процессы репликации и трансляции вирусной РНК и т. д.

В конечном итоге зараженная вирусом клетка обычно теряет способность к делению и синтезу белков, а зачастую и вовсе элиминируется из организма.

Другой типичной реакцией зараженной клетки, которая активируется проникновением вирусной двуцепочечной РНК, является *РНК-интерференция* – лавинообразный процесс, приводящий к расщеплению чужеродной РНК и выключению вирусных генов.

Все вышесказанное относилось к так называемым *экзогенным нуклеиновым кислотам*, чужеродным по отношению к организму. Однако достаточно давно было обнаружено присутствие в крови животных и человека, а также в тканях растений, *эндогенных*, т.е. собственных внеклеточных ДНК и РНК.

У высших растений внеклеточные РНК могут перемещаться между соседними клетками и транспортироваться до отдаленных органов и тканей через *флоэму* – проводящую сосудистую ткань, которая обеспечивает нисходящий транспорт органических веществ (продуктов фотосинтеза) из листьев к другим органам. Это было доказано в экспериментах по пересадке частей растений; был также обнаружен особый белок флоэмы, связывающий одноцепочечные РНК и способствующий их переносу как между соседними клетками, так и через фильтрующие структуры флоэмы.

В циркулирующем токе флоэмы были обнаружены матричные РНК собственных генов растения, микроРНК, малые интерферирующие РНК, а также несколько классов малых РНК с неизвестными функциями (кроме того, там присутствует большое количество экзогенной РНК – патогены, например

### МЕЖКЛЕТОЧНАЯ «ПОЧТА»

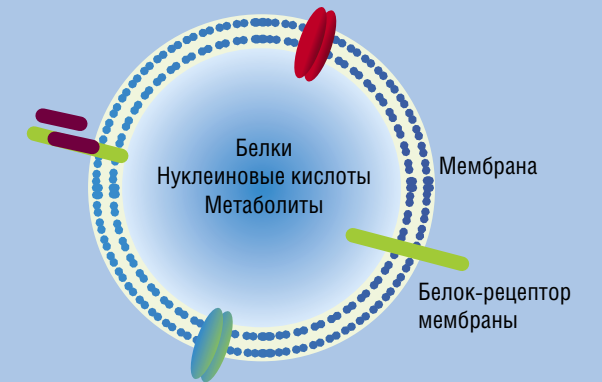
Идея о том, что в пределах организма может происходить перенос наследственной информации от одних органов и тканей к другим, принадлежит великому Ч. Дарвину. Еще в 1868 г. в своем труде «Изменения домашних животных и культурных растений» он сформулировал гипотезу «пангенезиса», предположив, что все клетки «отделяют от себя крошечные геммулы, рассеянные по всему организму». Перемещаясь с током крови в половые органы, они обеспечивают появление у потомков признаков, сходных с родительскими, в том числе и приобретенных.

Конечно же, эта гипотеза в том виде, в котором она предложена Дарвином, была впоследствии опровергнута. Надо сказать, что и сам создатель эволюционной теории предложил теорию пангенезиса в качестве временной, требующей доработки и экспериментальной проверки. И уже через три года Ф. Гальтон, двоюродный брат Дарвина, провел серию опытов по переливанию крови от черных кроликов к светлоокрашенным, однако никакого влияния на окраску потомства не обнаружил. В конечном счете гипотеза о «пангенах» заняла свое место в библиотечных архивах – как тогда казалось, навсегда...

Примечательно, что в том же 1868 г. швейцарский химик Ф. Мишер выделил из клеточных ядер ранее неизвестную субстанцию, названную им «нуклеином». Труды Мишера положили начало исследованиям нуклеиновых кислот – ДНК и РНК.

Как это нередко случается в истории науки, и само представление о межклеточном переносе генетической информации, и механистическая модель геммулы, как ее носителя, оказались востребованными в современной биологии, однако эти представления легли на ставший классическим молекулярно-генетический «фундамент», который отводит роль хранителей и переносчиков генетической информации нуклеиновым кислотам.

Однако процесс «взаимопроникновения» идей пошел не сразу. С одной стороны, были открыты секретируемые клетками животных микро- и наночастицы, которые были способны «путешествовать» по организму. Однако эти исследования практически не пересекались с исследованиями внеклеточных нуклеиновых кислот, которые были обнаружены в крови и других биологических жидкостях. Например, гранулы, высвобождаемые тромбоцитами, интересовали исследователей в основном своими белками и липидами, которые непосредственно участвуют в процессе тромбообразования, а удивительно высокую стабильность РНК в плазме и сыворотке крови объясняли тем, что она циркулирует в составе фрагментов погибших клеток.



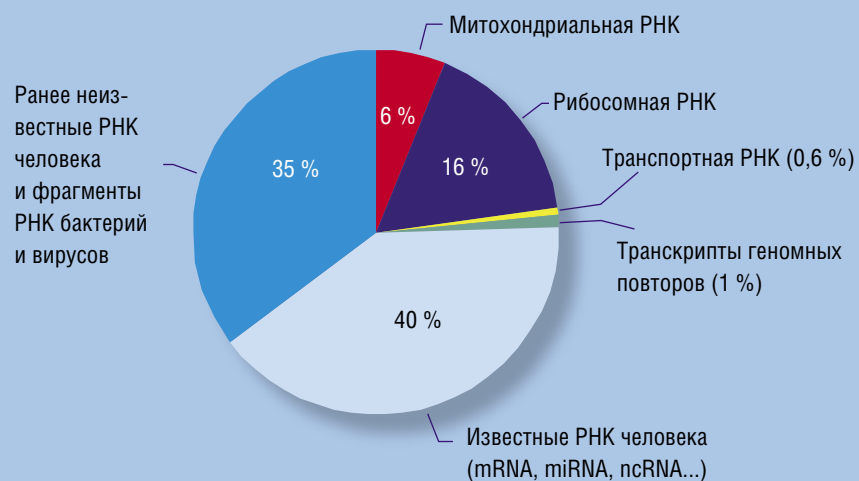
Нуклеиновые кислоты, в том числе и РНК, путешествуют по организму в составе специальных частиц типа микровезикул (*вверху*), являющихся своего рода «почтой» в мембранных «конвертах», которую клетки посылают друг другу

Все изменилось, когда было установлено, что мембранные частицы – микровезикулы и экзосомы, высвобождаемые одними и захватываемые другими клетками, – содержат РНК (Valadi *et al.*, 2007). Это означало, что жизнеспособные клетки способны активно обмениваться нуклеиновыми кислотами.

Согласно современным представлениям, большинство клеток организма человека и высших животных способны секретировать мембранные частицы размером от 50 до 1000 нм. После отделения от клетки-донора они могут быть захвачены соседними клетками либо удаленными клетками-реципиентами. Клетка-донор будет распознавать направленное ей межклеточное «сообщение» по особенностям белкового и липидного состава внешней поверхности мембран частиц, которые являются своего рода «печатью отправителя» и «адресом получателя».

Исследование процессов секреции и циркуляции клеточных микро- и наночастиц сегодня одно из самых бурно развивающихся направлений биологии, причем наиболее интригующим является вопрос об информационном наполнении межклеточных сообщений и реализации его в клетках-реципиентах.

В первую очередь в содержимом экзосом/микровезикул следует отметить многообразные формы РНК: от матричной РНК, кодирующей белки, до некодирующих микроРНК. Хотя сегодня имеются данные, что на такой мРНК в клетках-реципиентах может синтезироваться белок (Valadi *et al.*, 2007), многие детали этого процесса (в частности, эффективность синтеза белка по «чужеродной» для клетки и, скорее всего, фрагментированной РНК) вызывают у теоретиков и практиков оправданные сомнения.



В ИХБФМ СО РАН методом массового параллельного секвенирования было проанализировано свыше 1 млрд нуклеотидных последовательностей из образцов плазмы крови здоровых людей и больных, при этом было обнаружено множество РНК-последовательностей разного происхождения и с разными функциями

С другой стороны, некодирующие РНК (в том числе и микроРНК) внутри клеток являются, прямо или косвенно, регуляторами едва ли не всех ключевых, жизненно важных клеточных процессов (при этом подобные свойства сохраняются даже у продуктов частичного гидролиза некодирующих РНК). Поэтому неудивительно, что именно с набором некодирующих РНК связывают в настоящее время основное информационное наполнение всех циркулирующих мембранных частиц.

Исследования циркулирующих в плазме крови человека РНК были начаты еще до открытия их циркуляции в составе экзосом и микровезикул (Kolodny and Culp, 1972; Stroun *et al.*, 1978; Wiczorek *et al.*, 1985).

В Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) исследования циркулирующих нуклеиновых кислот были инициированы в начале 2000-х гг. Вскоре удалось обнаружить свободные ДНК и РНК не только в плазме крови, но и на поверхности человеческих клеток, что дополнило представления о циркуляции нуклеиновых кислот в организме и подтвердило предположение об их взаимодействии с клетками. Было также показано, что ДНК и РНК крови представляют собой удобный материал для диагностики опухолей, а их анализ позволяет с высокой точностью не только диагностировать опухоли, но и дифференцировать злокачественные и доброкачественные новообразования (Ryukova *et al.*, 2004; Skvortsova *et al.*, 2006; Рыкова и др., 2008).

В настоящее время для получения исчерпывающего описания всех форм РНК, которые присутствуют в плазме крови человека, в институте используются самые современные методы, включая массовое параллельное секвенирование. Это позволяет определять сотни миллионов нуклеотидных последовательностей в одном эксперименте, находить среди них десятки тысяч известных, а также открывать новые, не описанные ранее последовательности.

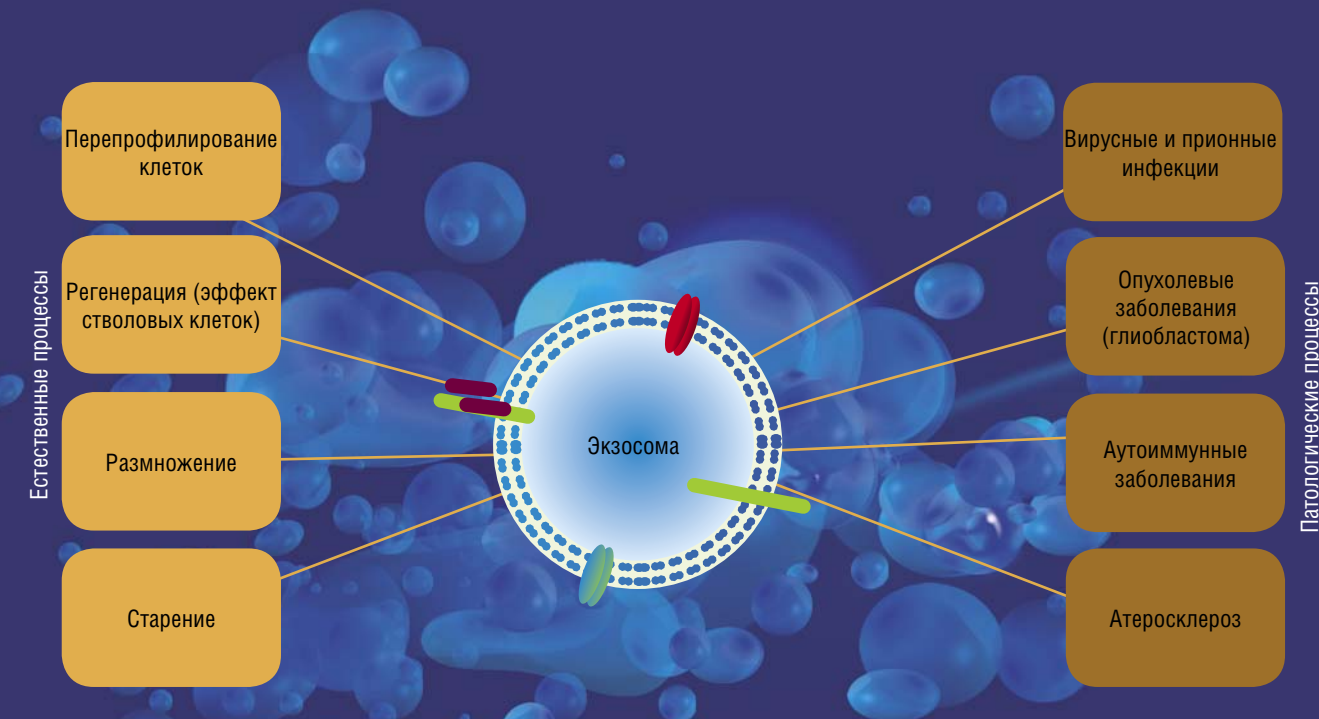
В лаборатории биотехнологии ИХБФМ занимаются как расшифровкой информационного контекста РНК, циркулирующих в составе экзосом и микровезикул, так и поиском новых форм регуляторных РНК, в том числе РНК-маркеров онкологических заболеваний.

С использованием технологии высокоэффективного параллельного секвенирования SOLiD удалось охарактеризовать набор форм РНК, циркулирующих в крови здоровых людей (Semenov *et al.*, 2012). А совместно с врачами Новосибирского областного онкологического диспансера был проведен анализ циркулирующих РНК из плазмы крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого. В результате был обнаружен ряд новых опухолевых РНК-маркеров онкологических заболеваний человека, среди которых фрагменты матричной РНК, фрагменты различных некодирующих РНК, а также новые, не описанные ранее транскрипты.

Были получены и уникальные данные, подтверждающие существенный вклад, который микровезикулы и экзосомы вносят в общий пул внеклеточных РНК, циркулирующих в крови человека.

Чтобы усовершенствовать и расширить методологию выделения и анализа внеклеточных микро- и наночастиц, в 2012 г. в ИХБФМ совместно с сотрудниками других институтов СО РАН – Института неорганической химии и Института физики полупроводников, был инициирован интеграционный проект междисциплинарных фундаментальных исследований, в рамках которого планируется решать как фундаментальные задачи, связанные с функциями экзосом и микровезикул, так и практические задачи по разработке новых подходов к диагностике и лечению заболеваний человека с использованием циркулирующих мембранных комплексов.

К.х.н. Д.В. Семенов  
(Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск)



В исследованиях последнего десятилетия доказано активное участие экзосом (в частности, переносимых ими нуклеиновых кислот и белков) в широком ряде фундаментальных процессов, обеспечивающих жизнедеятельность организма. Такой механизм обеспечивает передачу информации между клетками (соседними и не только), и нарушения этого пути (или захват его патогенами) связаны с развитием серьезных патологических процессов

вирусы растений, способны использовать этот путь для распространения своей генетической информации (Lough, Lucas, 2012).

У млекопитающих внеклеточные ДНК представляют собой популяцию молекул размером от 180 до 3500 пар нуклеотидов. Один из источников их появления – клетки, разрушающиеся по механизму апоптоза или некроза (Jahr *et al.*, 2001). Так погибают клетки опухолей, а также пострадавшие в результате травм, инфаркта миокарда, интенсивного воспалительного процесса и даже в результате интенсивной физической нагрузки.

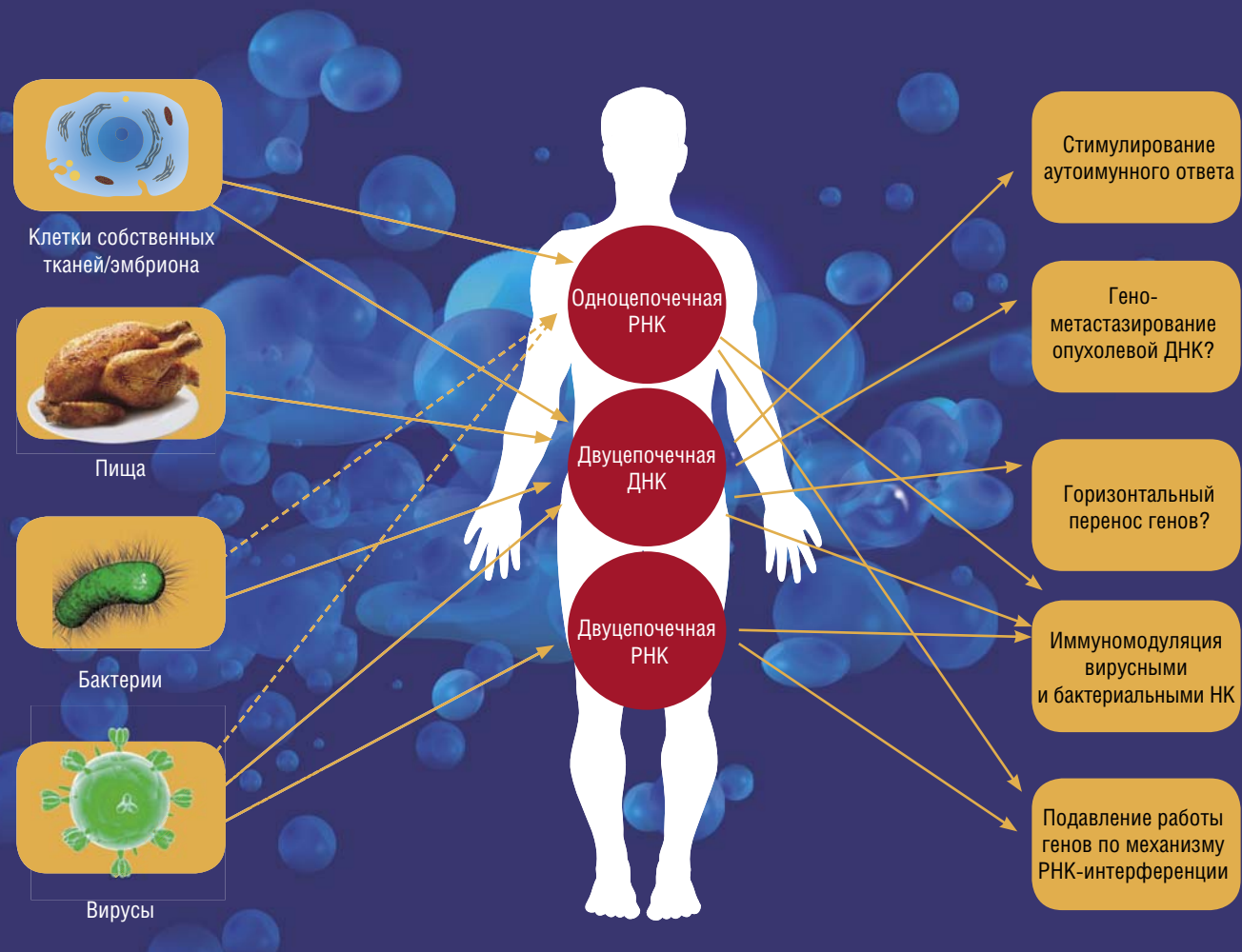
Однако внеклеточные ДНК и РНК активно секретируются и вполне «живыми», функционирующими клетками. В том числе внеклеточная ДНК опухолевого происхождения появляется в крови на ранних этапах канцерогенеза, когда некроз и апоптоз в опухоли практически не наблюдаются. Известно, что при культивировании некоторые клетки человека (например, эндотелициты пупочной вены и периферические лимфоциты) секретируют ДНК в инкубационную среду (Morozkin *et al.*, 2004). Кроме того, в процессе появления свободных нуклеиновых кислот участвуют фагоциты, которые поглощают продукты разрушения

клеток, а затем повторно их секретируют уже в «переваренном» виде.

На концентрацию внеклеточных ДНК и РНК влияет работа специальных расщепляющих ферментов, которых в крови предостаточно, и ДНК спасает лишь то, что вне клеток она появляется в комплексах с белками (например, с гистонами в виде *нуклеосом*) либо заключенная в мембранные структуры (*экзосомы*, *микрочастицы* и *апоптотические тельца*) (Stroun, 2000).

У некоторых примитивных животных, таких как паразитическая нематода *C. elegans*, интерферирующие РНК распространяются по всему организму за счет транспорта специального белком *sid-1* (Feinberg *et al.*, 2003). У млекопитающих такие РНК переносятся в комплексах с белками, участвующими в РНК-интерференции, или с липопротеинами высокой плотности («хорошим холестерином») (Vickers *et al.*, 2011). Попадая в кровь, содержащие нуклеиновые кислоты комплексы могут связываться с белками плазмы или клеток крови – эритроцитов и лейкоцитов.

Все эти структуры захватываются как близлежащими, так и сравнительно удаленными от секретирующей «родительницы» клетками. Механизмы проникновения нуклеиновых кислот в клетки до сих пор во многом остаются загадкой, так как фосфолипидные клеточные мембраны являются барьером для их пассивной диффузии внутрь клеток. Ключевую роль в этом процессе играет взаимодействие «транспортных средств» – везикул и белковых комплексов, с поверхностными белками самой клетки. (Хотя есть свидетельства, что в некоторых случаях возможно также узнавание и захват «голой» нуклеиновой кислоты.)



На сегодня точно установлено, что нуклеиновые кислоты не «заперты» внутри клеток, и в организме человека по кровотоку циркулируют множество внеклеточных нуклеиновых кислот как экзогенного, так и эндогенного происхождения. В зависимости от происхождения и формы циркуляции они вызывают различные биологические эффекты, которые проявляются на уровне целого организма

## На благо...

Внеклеточные нуклеиновые кислоты, синтезируемые в организме и участвующие в общей циркуляции (особенно это относится к РНК), играют важнейшую сигнальную роль в локальной и отдаленной регуляции развития органов и тканей, обеспечивая слаженную работу клеток в многоклеточных организмах.

Так, в экспериментах по выявлению факторов, регулирующих клеточную дифференцировку и тканевый морфогенез, были открыты РНК-белковые комплексы, названные *ангиотропинами*. РНК этих комплексов представляют собой высокомодифицированные короткие (длиной до 200 нуклеотидов)

последовательности. Взаимодействие таких молекул с белками в присутствии ионов металлов (Сu, Са, Na, К) приводит к образованию комплексов, которые выступают в роли противовоспалительных факторов (цитокинов) и как регуляторы дифференцировки клеток, выстилающих капилляры, при формировании этих структур (Wissler, 2004).

В последние годы огромное внимание уделяется изучению микроРНК – коротких (19–24 нуклеотида) однопочечных или двупочечных («незрелая» форма) молекул, которые участвуют в подавлении экспрессии собственных генов клетки по механизму РНК-интерференции. Еще совсем недавно эту специфическую регуляцию синтеза белков было принято считать явлением локального, внутриклеточного масштаба. Однако в последние годы было показано, что активные интерферирующие микроРНК в значительных концентрациях присутствуют в общей циркуляции вопреки высокой активности внеклеточных ферментов, расщепляющих РНК.

Перенос микроРНК между клетками может способствовать формированию самых разных физиологических эффектов, от регуляции иммунного ответа до миграции клеток. У беременной женщины микроРНК,

секретируемые тканями эмбриона (правда, это фактически чужеродная для организма РНК), могут участвовать в адаптации материнского организма к беременности (Mincheva-Nilsson *et al.*, 2010), а микроРНК материнского молока, в свою очередь, – в развитии иммунной системы ребенка (Kosaka *et al.*, 2010).

Транспортируемые в экзосомах матричные и микроРНК могут защищать клетки от апоптоза и стимулировать их деление. Как оказалось, именно этот факт объясняет благотворные эффекты инъекций стволовых клеток в поврежденные органы. Ранее считалось, что стволовые клетки дают в поврежденных органах начало новой ткани, а оказалось, что все дело в продуцируемых ими экзосомах, которые помогают выживать и размножаться собственным клеткам поврежденной ткани (Biancone *et al.*, 2012).

Как показали эксперименты, «коктейль» из мРНК и/или микроРНК можно использовать для достижения и «обратного» эффекта: с их помощью можно получить индуцированные стволовые клетки из уже дифференцированных клеток (например, фибробластов) (Jayawardena *et al.*, 2012).

## ...и во вред

Однако способ межклеточных взаимодействий путем обмена нуклеиновыми кислотами может быть использован и во вред организму. Так, клетки опухолей (например, глиобластом) активно секретируют экзосомы, содержащие микроРНК, которые влияют на клетки стенок кровеносных сосудов и способствуют успешному распространению метастазов (Skog *et al.*, 2008). (Кстати сказать, аналогичным образом может действовать и экзогенная микроРНК: в геноме вируса Эпштейна-Барра закодированы микроРНК, которые, будучи секретируемыми в составе экзосом зараженной клеткой, проникают в окружающие клетки и нарушают экспрессию цитокина, ответственного за активацию клеточного иммунного ответа (Pegtel *et al.*, 2010)).

И это далеко не единственный пример негативного воздействия внеклеточных нуклеиновых кислот. Так, в ряде случаев в развитии патологических процессов непосредственно участвует внеклеточная ДНК. Наиболее известная болезнь такого типа – *системная красная волчанка*. При этом аутоиммунном заболевании в организме появляются патогенные антитела против собственной ДНК (Rumore *et al.*, 1990). Эти антитела образуют с внеклеточными ДНК комплексы, которые способствуют развитию воспалительных реакций. Считается, что толчком к развитию болезни могут быть нарушения механизмов, регулирующих уровень циркулирующих ДНК, поскольку у многих больных отмечено снижение активности фермента, разрушающего ДНК, и фагоцитов, ее утилизирующих (Napirei *et al.*, 2006).

Поскольку клетки способны захватывать продукты клеточного распада, была выдвинута гипотеза о возможности ракового перерождения клеток вследствие переноса генов из опухолевых клеток, погибших в результате апоптоза. По такому механизму рак мог бы, как инфекционное заболевание, передаваться через кровь от клетки к клетке пораженного организма, формируя отдаленные и соседние метастазы.

В соответствии с этой гипотезой «генометастазов», рак распространяется в организме за счет циркуляции ДНК (или апоптотических телец), а не опухолевых клеток (García-Olmo *et al.*, 2012). И хотя эта гипотеза пока не получила четкого экспериментального доказательства, полностью отвергать ее нет оснований.

**В**се имеющиеся на сегодня данные однозначно свидетельствуют об огромной биологической значимости внеклеточных нуклеиновых кислот. Согласно самым смелым представлениям они являются не просто сигнальными молекулами, а важным действующим звеном механизмов, работающих как на организменном, так и на популяционном и, в конечном итоге, эволюционном уровне.

Генометастазы, горизонтальный перенос генов, перепрограммирование соседних клеток, даже перенос внеклеточного «генома» в следующие поколения в обход неодадарвинистских механизмов наследования – все эти на первый взгляд фантастические явления будут, безусловно, детально изучаться в ближайшее десятилетие наряду со ставшими уже традиционными исследованиями источников, причин и механизмов появления нуклеиновых кислот-«путешественников».

### Литература

Черноловская Е. Л. РНК-интерференция: клин клином... // *НАУКА из первых рук*. 2008. № 1 (19). С. 54–59.

Rykova E. Y. *et al.* Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content // *Expert Opin Biol Ther*. 2012 Suppl 1. P. 141–153.

Vlassov V. V., Pyshnyi D. V., Vorobjev P. E. *Nucleic acids: structures, functions, and applications*. In *Handbook of nucleic acids purification*, Ed. D. Liu, Boca Raton, CRC Press, 2009.

