

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

# НУКЛЕИНОВЫЕ СТРАННИКИ



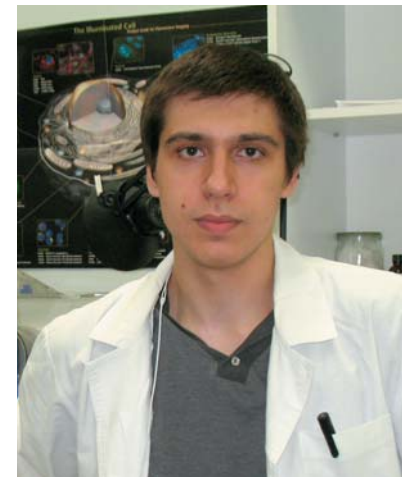
Что представляют собой свободные, т.е. внеклеточные нуклеиновые кислоты? Для обитающих в почве и в морских отложениях бактерий это – источник азота и фосфора, а для инфицированной патогеном клетки – сигнал «опасность!» Но, как было выяснено в последние десятилетия, функции и роль нуклеиновых «странников» 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, ведущий сотрудник лаборатории молекулярной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) до 2022 г., ведущий научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск)



ЗАПОРОЖЧЕНКО Иван Андреевич – аспирант группы клеточной биологии, сотрудник Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) до 2019 г.



ЛАКТИОНОВ Павел Петрович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 250 научных работ и 15 патентов

Нуклеиновые 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.

© Е.Ю. Рыкова, И.А. Запорожченко, П.П. Лактионов, 2024

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).

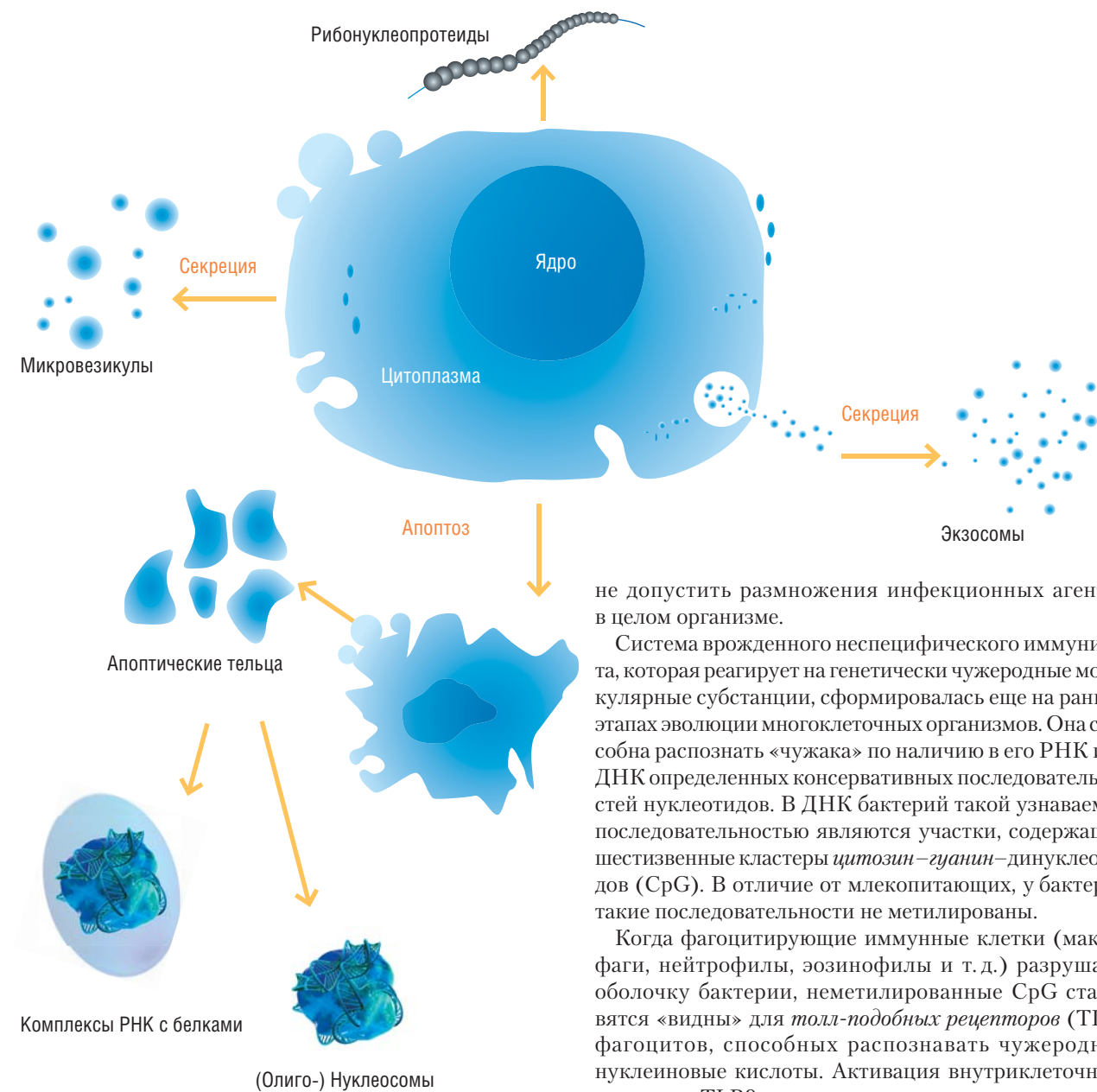
Однако со «съеденными генами» так происходит не всегда. Как показали исследования на лабораторных животных, фрагменты ДНК из переваренной пищи спустя двое суток после кормления могут попадать в кровь и задерживаться в клетках печени и селезенки (Hohlweg *et al.*, 2001). Однако в клетках животных не происходит 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, 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 (CpG). В отличие от млекопитающих, у бактерий такие последовательности не метилированы.

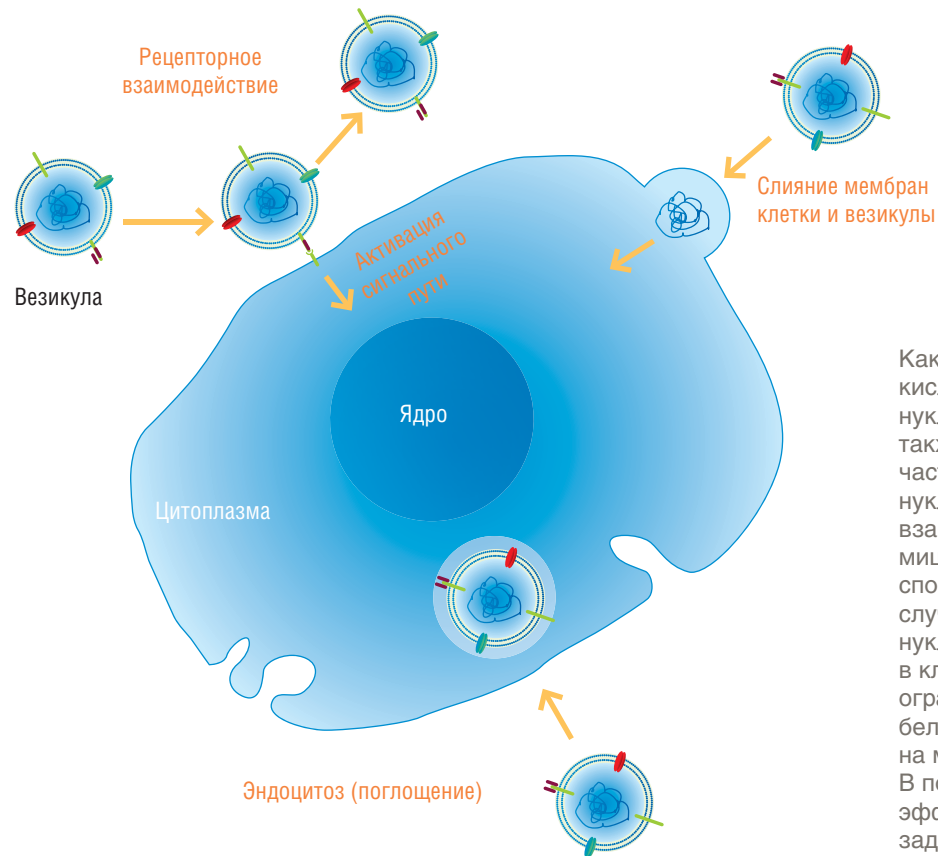
Когда фагоцитирующие иммунные клетки (макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и т. д.) разрушают оболочку бактерии, неметилованные CpG становятся «видны» для *толл-подобных рецепторов* (TLR) фагоцитов, способных распознавать чужеродные нуклеиновые кислоты. Активация внутриклеточного рецептора TLR9 запускает 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 переносятся 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 других же ограничивается взаимодействием белковых рецепторов на мембранах везикулы и клетки. В последнем случае дальнейшие эффекты обуславливаются типом задействованного рецептора

### Своя рубашка ближе к телу

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

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.

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.

### 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.

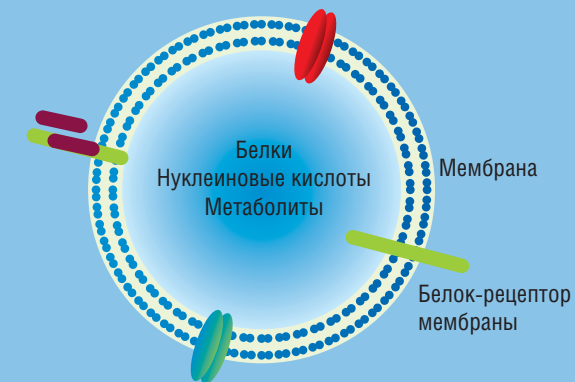
Конечно же, эта гипотеза в том виде, в котором она предложена Дарвином, была впоследствии опровергнута. Надо сказать, что и сам создатель эволюционной теории предложил теорию пангенезиса в качестве временной, требующей доработки и экспериментальной проверки. И уже через три года Ф. Гальтон, двоюродный 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.

Но процесс «взаимопроникновения» идей пошел не сразу. С одной стороны, были открыты секретлируемые 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.

Все изменилось, когда было установлено, что мембранные частицы – микровезикулы и экзосомы, высвобождаемые



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

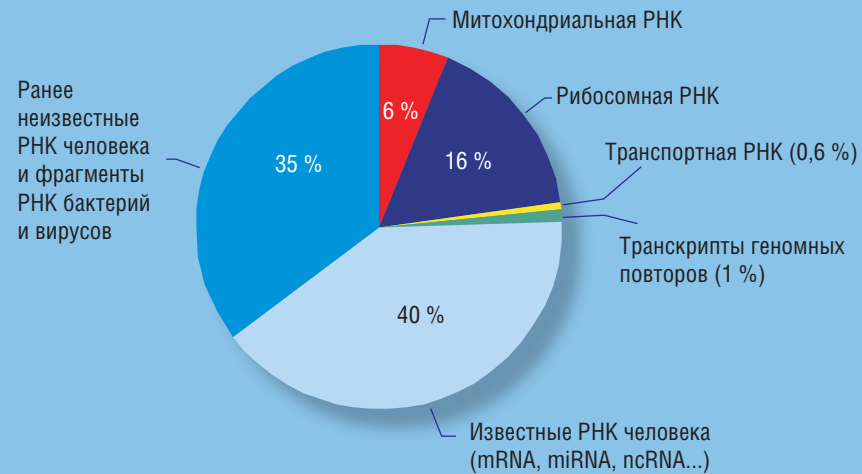
одними и захватываемые другими клетками, – содержат РНК (Valadi *et al.*, 2007). Это означало, что жизнеспособные клетки способны активно обмениваться нуклеиновыми кислотами.

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.

С другой стороны, некодирующие РНК (в том числе и микроРНК) внутри клеток являются, прямо или косвенно, регуляторами едва ли не всех ключевых, жизненно



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

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 (Rykova *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,

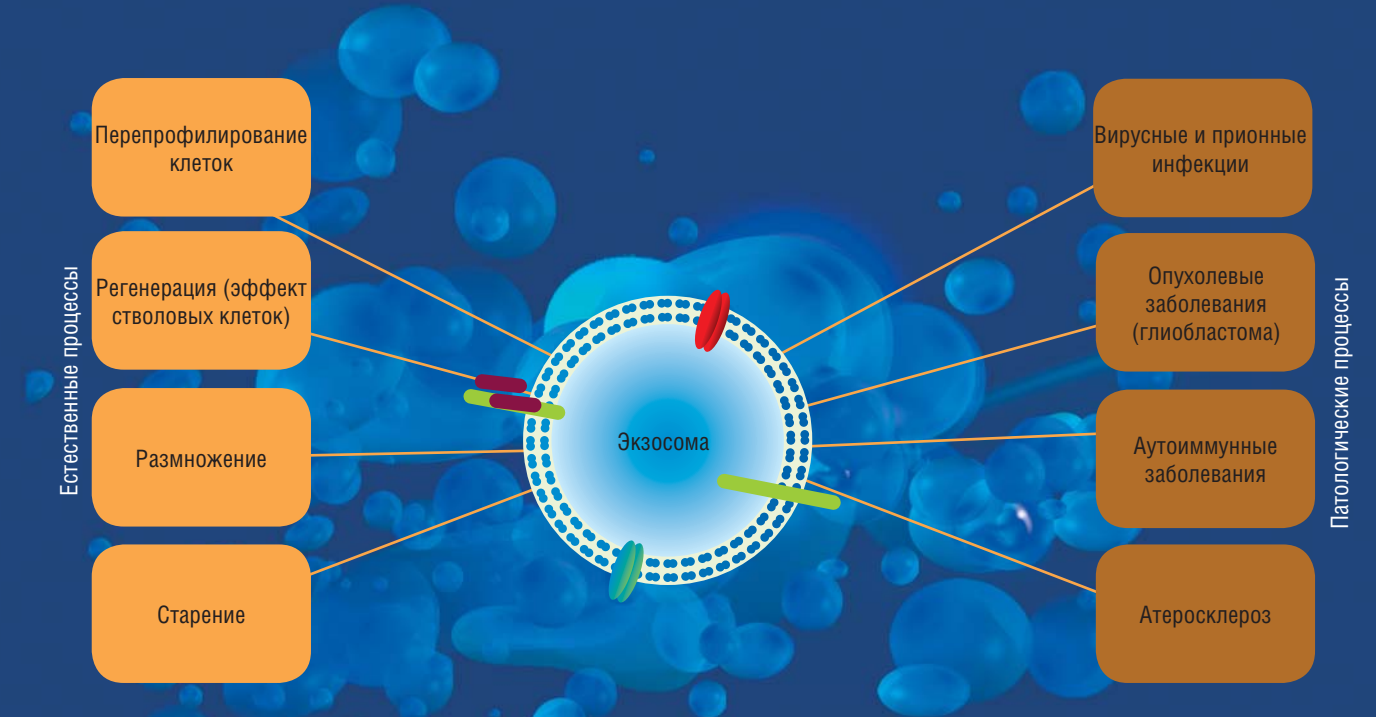
циркулирующих в составе экзосом и микровезикул, так и поиском новых форм регуляторных РНК, в том числе РНК-маркеров онкологических заболеваний.

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 мелкоклеточным 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 планировалось 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

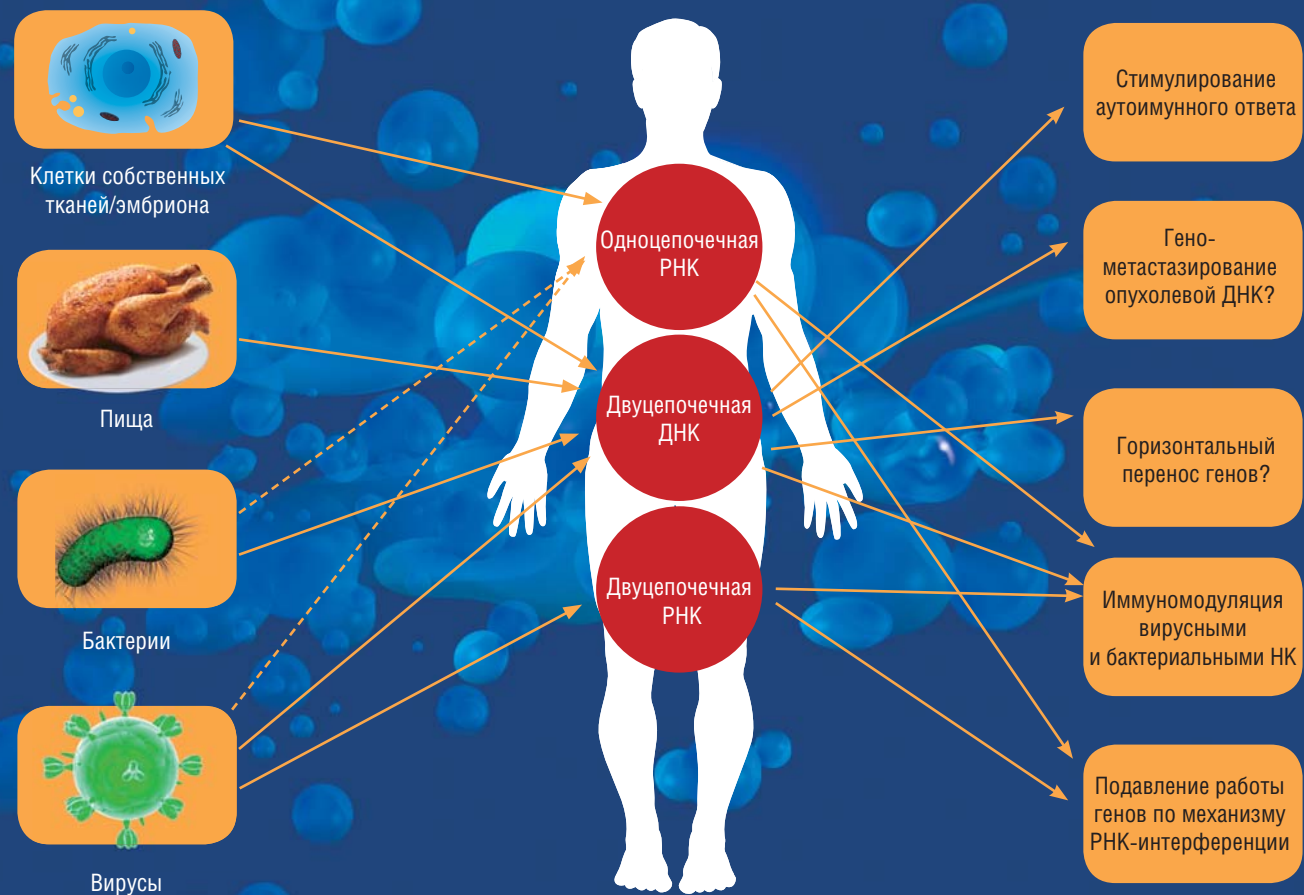
клеток, а затем повторно их секретируют уже в «переваренном» виде.

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 *Caenorhabditis elegans*, интерферирующие РНК распространяются по всему организму за счет транспорта специальным 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 циркулирует 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 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) одноцепочечных или двуцепочечных («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 внеклеточная ДНК непосредственно участвует в развитии патологических процессов. 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.

Все 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.

Тенометастазы, горизонтальный перенос генов, перепрограммирование соседних клеток, даже перенос внеклеточного «генома» в следующие поколения в обход неодарвинистских механизмов наследования – все эти на первый взгляд фантастические явления будут, безусловно, детально изучаться в ближайшие десятилетия 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.

