

# Мутации – это что?

**В. А. Кордюм**

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

kordium@ukr.net

---

*Анализируются представления о мутациях. Приведены литературные данные, не соответствующие существующим концепциям о мутациях. Сформулировано положение о функциональной неоднозначности мутаций и их биологическом значении. Согласно этому положению, мутации в соме выполняют регуляторные функции, являясь, таким образом, нормальной, контролируемой организмом, составляющей биологических процессов. А выходя из-под контроля, мутации в соме приводят к онкогенезу. В зародышевом же пути мутации через каскадные интегральные процессы обеспечивают элиминацию их носителей, выполняя очистительную функцию. А при выходе из-под контроля, не приводя к элиминации их носителей, реализуются в наследственную патологию во всем ее диапазоне – от скрытой формы («мутационный груз») до яркой манифестации.*

*Ключевые слова: мутации, регуляция, сома, зародышевый путь.*

---

Термин «мутации» ввел в обиход более чем 100 лет тому назад (в 1901 г.) де Фриз. Сегодня мутации относятся к тем понятиям, которые знают все. И общее, фундаментальное представление о том, что такое «мутации», у всех очень близкое, соответствующее классическим и общепринятым определениям типа: «Мутации – это внезапно возникающие стойкие изменения генетического аппарата, включающие как переход генов из одного аллельного состояния в другое, так и различные изменения числа и строения хромосом» [1]. Как очевидное, абсолютно понятное, очень наглядное подтверждение тому приводят классические наследственные болезни (табл. 1).

А далее идут уже конкретизации, уточнения, классификации и т. д. типа: «рецессивный аллель

влияет на фенотип, если генотип гомозиготен». Иначе, стало быть, не влияет. И все такое прочее.

Такая простая, логически понятная причинно-следственная связь: «нарушение в геноме (изменение фенотипа) в сочетании с бесчисленными экспериментальными подтверждениями, их воспроизводимостью и, в ряде случаев, прослеженностью всех этапов, всех звеньев цепи от квантовых уровней до внешнего выражения объекта (фенотипа) привела к тому, что любые не то что сомнения, но даже признаки непонимания с искренним удивлением воспринимались как проявления природной тупости, лени, мешающей выучить учебники, и т. д. И это несмотря на то, что не менее надежный, не укладывающийся в общепринятую концепцию, экспериментальный материал начал накапливаться буквально с самого начала изучения мутаций и по-

Таблица 1  
Примеры болезней, ассоциированных с заменами нуклеотидов в кодируемых участках генов [2]

Ген	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Дефект	Источник
Аденозиндезаминаза	G на A	Arg-Gln	Неактивный	Bonthron, 1985
Аденозиндезаминаза	T на G	Leu-Arg	Лабильный	Valerio, 1986
Антитромбин III		Pro-Leu	Неактивный	Bock, 1985
$\alpha_1$ -Антитрипсин	G на A	Glu-Lys	Неактивный	Kidd, 1983
Инсулин	T на C	Phe-Ser	Сайт связывания рецептора (доминантный)	Haneda, 1983
Инсулиновый рецептор	G на T	Arg-Ser	Процессинг предшественника рецептора	Yoshimasa, 1988
Фактор VIII	C на T	Pro-Arg	Неактивный	Levinson, 1987
Фактор IX		Arg-Gln	Процессинг препептида	Bentley, 1986
Фактор IX	G на A	Arg-His	Активация	Noyes, 1983
$\beta$ -Глобин	T на C	Leu-Pro	Образование тетрамера (доминантный)	Kobayashi, 1987
Триозофосфат изомеразы	G на C	Glu-Asp	Лабильный во всех тканях	Daar, 1986
Уропорфириногендекарбоксилаза	G на A	Gly-Glu	Лабильный во всех тканях	de Verneuil, 1986
Альдолаза B	G на C	Ala-Pro	Связывание субстрата	Cross, 1988
$\alpha 2(I)$ Коллаген	C на G	Gly-Arg	Образование спирали (доминантный)	Wenstrup, 1988
HPRT	G на A	Phe-Leu	Стабильный	Davidson, 1988

степенно стал вполне достаточным для нового осмысливания проблемы. Попробуем провести такой анализ.

Начнем с феноменологии. К «преданьям старины глубокой» относятся пенетрантность и экспрессивность. Это когда признак то есть, то его нет, то он более ярко выражен, то менее. Хотя изменения генома имеются во всех подобных случаях. К такой же категории относятся мутации супрессорные. Изменения в геноме имеются и признак, им соответствующий, – тоже, но появилась другая мутация в другом гене и, хотя первая не исчезла, но фенотип вернулся к норме. Опять же, полностью или не полностью. Или «эффект положения», при котором признак зависит от того, в каком участке генома находится один и тот же ген. А уж о «то да, то нет» при рецессивности и говорить не приходится.

Конечно же, принципиальные механизмы такого непрямого, непрямолинейного соотношения ген признак (или в более общей форме генотип фенотип) уже при первом их введении в научный обиход как понятия были предложены, в дальнейшем изучены в деталях, вошли в учебники, стали «общеизвестными». И за этой «общеизвестностью» отошло на задний план самое «на самом деле» существенное во всем мутагенезе: то, что изменения как в индивидуальном гене, так и более крупные геномные (совокупности всей информации), даже

идентичные, с одной стороны («в одних случаях»), не только могут приводить, но и реально повсеместно и непрерывно приводят к идентичным изменениям, а, с другой («в других случаях»), – столь же неукоснительно могут и не приводить к идентичным изменениям фенотипа, а могут стать причиной и иных, совсем не идентичных. И при всей «очевидности» того, почему так происходит, все эти «почему» только конкретизируют явление – локальные, идентичные, близкие, схожие изменения в генотипе могут по-разному влиять на фенотип или вообще не влиять. А когда скороговоркой о таком упоминают, то обязательно все это полностью и безальтернативно сводится к случайностям, вероятностям, неопределенностям. На то они и мутации.

Постепенно здесь начали накапливаться данные, потребовавшие новых допущений. Оказалось, что средние (т. е. жизненно оптимальные) скорости мутирования у разных организмов различаются более чем в 6000 раз, а граничные – на 10 (!) порядков (!!) [3]. Случайностями, такое различие объяснить невозможно ни при каких допущениях. И тогда был сделан очень важный фундаментальный вывод, очень хорошо подтвержденный на всех этапах процесса, – уровень мутаций определяет не спонтанный мутагенез как следствие внешних воздействий со всеми их случайностями, а внутриклеточные процессы. Но далее следовало жесткое ограничение

Таблица 2  
Частота хромосомных аномалий в ооцитах человека [5]

Количество ооцитов	Нормальный хромосомный комплекс	Аномальный хромосомный комплекс				Общий процент аномалий	Источник литературы
		Гипоплоидия	Гиперплоидия	Диплоидия	Структурные аномалии		
44	42	–	2	–	1	4,5	[8]
50	34	14	1	–	1	32	[9]
17	9	6	2	–	–	47	[10]
251	192	33	20	5	1	23,5	[11]
188	153	10	16	–	–	18,6	[12]
316	234		76	6	–	28	[13]
139	124	12	3	–	–	8	[6]
65	31	10	7	14	–	47,7	[7]
100%	76,8%	13,3 %	7,3 %	2,3 %	0,3 %	23,2 %	–

эффективностью, совершенством и т. д. репарации. Опять, в конечном итоге, все свели к случайностям. Пусть не в чистом виде, а через эффективность репарации (эволюционно обусловленную, в результате мутаций, конечно же, случайных, тех или иных генов системы репарации и т. д.).

Следующий блок экспериментальных данных, не укладывающихся в концепцию даже с учетом всех ее модификаций, был получен уже не только в связи с дальнейшим накоплением материала, но в еще большей мере в связи с появлением новых методов исследования. Использование трансгенных мышей с введенными специально для изучения мутагенеза экспериментальными генами привело к следующим обобщенным выводам: 1) скорость мутагенеза в рамках индивидуума тканеспецифична; 2) такая тканеспецифичность не коррелирует со скоростью пролиферации; 3) для каждой ткани характерны свои типы мутаций [4]. Да что там мыши, у человека общий процент хромосомных аномалий (т. е. видимых визуально в микроскопе!) в ооцитах, по данным разных авторов, колеблется от 4,5 до 47,7 % [5]. Это в средних выборках, а не у больных по сравнению со здоровыми (табл. 2).

А в разных генах в различных клетках (тоже в норме) и не в живом вообще, а у человека колебания уровня мутаций достигают четырех порядков. Непосредственное (прямое) определение мутаций в клетках у человека, по данным разных авторов, представлено следующим образом:

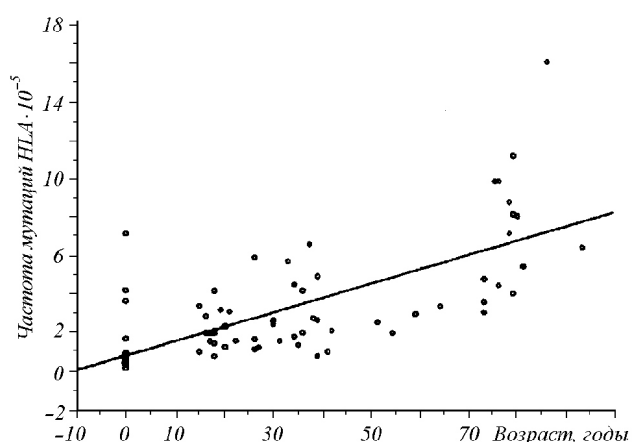


Рис. 1. Частота мутаций по локусу генов главного комплекса гистосовместимости в лимфоцитах здоровых людей разного возраста ( $r = 0,69$ ;  $p < 0,0001$ ) [6]

Глобин (эритроциты)	$10^{-8}$
Лимфоциты HLA-A3	$(2-8) \cdot 10^{-5}$
Лимфоциты HLA-A2	$(2-8) \cdot 10^{-6}$
Клетки тубулярного эпителия почек (по HPRT)	$2 \cdot 10^{-5} - 2,5 \cdot 10^{-4}$

Если же взять разных индивидуумов, то расхождения для них по частоте мутаций одного и того же гена не просто многократные, но могут у 95-летнего не превышать таковые у новорожденного (рис. 1). И все живут, и род людской, мышиный и всех остальных очень даже неплохо пока существует. Связь генотипа с фенотипом получается какая-то странная. То, что она имеется, «видно невооруженным глазом». Но очень уж кривая она выходит. В

таких случаях принято считать, что процессы, определяющие все на молекулярном уровне и далее по цепочке реализуемые в фенотип, после того как будут изучены исчерпывающе, расставят все преобразования, цепи событий на свои места, картина станет совершенно понятной, а неопределенности сегодняшнего дня уйдут в учебники истории. Посмотрим же, что уже известно на молекулярном уровне. Классическая генетика – это путь от фенотипа к генотипу. А молекулярная (в ее вариантах определения функций генов), изучающая этот путь экспериментально – введением или нокаутом генов в противоположном направлении, т. е. от генотипа к фенотипу, получила (уже признанное) наименование «обратная генетика». И дала она материал принципиальной значимости. Оценка накопленного здесь материала (если брать его во всей совокупности, а не изолированно) при попытках согласовать полученное с классической теорией приводит к ярко выраженному интеллектуальному стрессу.

В общем виде собственно мутация как первооснова всех последующих событий – это некое изменение в последовательности оснований одной цепи ДНК, которое по какой-то причине (ее всегда сводят к случайности) не восстановилось до прежнего состояния, а воспроизвело во второй цепи комплементарное основание, соответствующее возникшему изменению. В результате такое изменение теперь уже имеется в обеих цепях. Вариантов подобного события много. Но всегда следствием является то, что устанавливается некое «закрепление изменения». Пока нарушение (любое) существует только в одной цепи ДНК, оно еще «не мутация». Оно активирует соответствующую систему репарации. Исправилось изменение сообразно комплементарности второй цепи – все вернулось на круги своя. Мутации нет. «Исправилось» основание второй цепи комплементарно измененному – мутация реализовалась. И теперь уже для организма это не мутация, а свое, родное, которое надо защищать, сохранять (адекватно изменению), репарировать в случае повреждения (даже если повреждение ведет к возврату в исходное состояние) и т. д. Изменение закрепилось, перейдя из категории нарушения в категорию мутации. Ибо на молекулярном, генетическом, информационном уровне за-

крепленное нарушение принципиально не отличается от всей остальной последовательности оснований. Даже терминологически возврат к норме именуют «обратной мутацией». И только реализация информации на всех последующих этапах цепи процессов от последовательности ДНК к признаку определяет «что есть что». С этого момента начинается неопределенность понятия «мутация». Ибо «что есть что» не есть некий абсолют. Оно, это самое «что есть что», полностью зависит от того, где, в какой момент, в каком сочетании со всем остальным происходит реализация. Все альтернативные процессы в клетке тому подтверждение (альтернативные транскрипция, полиаденилирование, сплайсинг и т. д.). Одна и та же последовательность ДНК в зависимости от того, как она реализуется, по фенотипическому выражению может быть «правильной» (если все в клетке соответствует ее состоянию) или «неправильной», фенотипически не отличимой от мутаций (если ее состоянию не соответствует). И хотя это все происходит не на уровне изменений ДНК, а на уровне ее обслуживания, но само явление неопределенности демонстрирует очень ярко. Посмотрим теперь, что происходит на уровне ДНК. Какие закрепленные изменения в ней есть то, что понимают под термином «мутации»? А как наиболее яркий, близкий нам всем и наиболее изученный пример возьмем человека.

Некоторое время тому назад в медицинской генетике начался своеобразный «кризис жанра». Многие десятилетия все было очень четко и «абсолютно ясно». Имеются наследственные болезни и массовые патологии. К первым относили то, что очень четко наследовалось и имело яркую манифестацию, – талассемия, серповидноклеточная анемия, гемофилия, прогерия у детей – синдром Гетчинсона–Гилфорда, миодистрофия Дюшенна и т. д. Правда, уже и тогда возникали некоторые неопределенности, связанные с разной локализацией реализации патологий (например, при муковисцидозе могут преимущественно поражаться легкие, а может в значительной мере и поджелудочная железа) или разной степенью ее тяжести при мутациях в одном и том же гене. Однако это все объяснялось по классике (разной экспрессивностью и т. д.). Но постепенно количество наследственных заболеваний



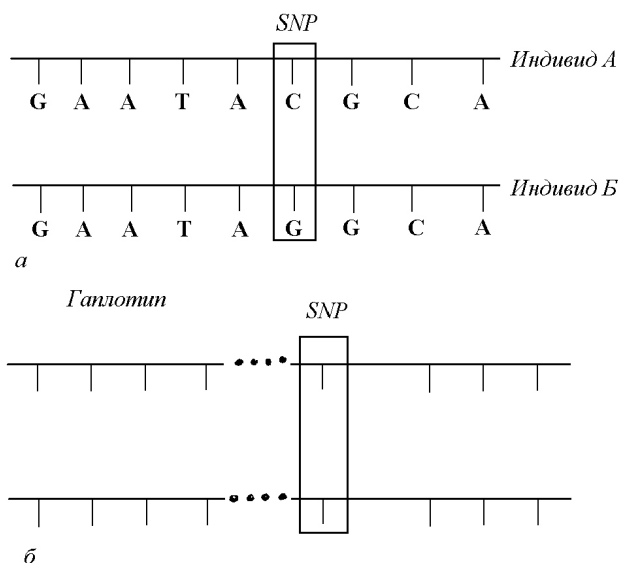


Рис. 2. Иллюстрация того, что является мононуклеотидным полиморфизмом [7]

Таблица 3

Распределение снипов по хромосомам [8]

Хромосомы	Длина, п. н.	Все SNPs	тыс. п. н. на	TSC SNPs	тыс. п. н. на
1	214,066,000	129,931	1,65	75,166	2,85
2	222,889,000	103,664	2,15	76,985	2,90
3	186,938,000	93,140	2,01	63,669	2,94
4	169,035,000	84,426	2,00	65,719	2,57
5	170,954,000	117,882	1,45	63,545	2,69
6	165,022,000	96,317	1,71	53,797	3,07
7	149,414,000	71,752	2,08	42,327	3,53
8	125,148,000	57,834	2,16	42,653	2,93
9	107,440,000	62,013	1,73	43,020	2,50
10	127,894,000	61,298	2,09	42,466	3,01
11	129,193,000	84,663	1,53	47,621	2,71
12	125,198,000	59,245	2,11	38,136	3,28
13	93,711,000	53,093	1,77	35,754	2,62
14	89,344,000	44,112	2,03	29,746	3,00
15	73,467,000	37,814	1,94	26,524	2,77
16	74,037,000	38,735	1,91	23,328	3,17
17	73,367,000	34,621	2,12	19,396	3,78
18	73,078,000	45,135	1,62	27,028	2,70
19	56,044,000	25,676	2,18	11,185	5,01
20	63,317,000	29,478	2,15	17,051	3,71
21	33,824,000	20,916	1,62	9,103	3,72
22	33,786,000	28,410	1,19	11,056	3,06
X	131,245,000	34,842	3,77	20,400	6,43
Y	21,753,000	4,193	5,19	1,784	12,19
RefSeq	15,696,674	14,534	1,08		
Все	2,710,164,000	1,419,190	1,91	887,450	3,05

«Примечание. Длина (п. н.) взята из публикации геномной подборки на 5 сентября 2001 года. Плотность SNPs на каждой хромосоме определяется количеством доступных геномных последовательностей, включенных в геномную подборку, глубина перекрытия взята из TSC прочитанных и клонированных перекрытий, являющихся гетерозиготами.»

росло, начало исчисляться тысячами, а вероятность их проявления (та самая пенетрантность) все более отличалась от жестко детерминированной (или строго определенной вероятностью, как при классических рецессивах). Возникло понятие «предрасположенности». Начали обсуждать проблему «наследственной предрасположенности» и что к ней относить. Опять же в крайних проявлениях все в очередной раз стало «очевидным» и такие крайние проявления приводят как примеры. Но к этому времени техника секвенирования ДНК развилась настолько, что от «генома человека» перешли к геному человечества. И неопределенность приблизилась к абсолютной. Оказалось, что два любых неродственных человека различаются между собой примерно по трем миллионам мононуклеотидных несовпадений, так называемому мононуклеотидному полиморфизму (single nucleotide polymorphisms – SNPs (рис. 2), в русской транскрипции – «снипы»). В целом же, по всему человечеству различия в снипах достигают 10 млн. Но к снипам относят не вообще все мононуклеотидные различия, а только те, число которых составляет не менее 1 % в исследуемой популяции. Если бы исследовали все различия, то между двумя индивидуумами их было бы куда больше трех миллионов, а в человеческой популяции в целом они исчислялись бы миллиардами. Ими насыщены все хромосомы (табл. 3). Но снипы – это уже нечто прочно закрепленное в геномах людей, составляющих популяции как наследственные изменения. Для того чтобы их считать мутациями по классическим определениям, необходимо только влияние на фенотип. Уже даже из общих соображений следует, что поскольку основные наследственные патологии и предрасположенности (рассматриваемые медицинской генетикой как «свои» по отношению к процессу и объекту) вызываются чаще всего изменениями в гене только одного нуклеотида, то, по определению, это все относится к снипам. И тогда медицинская генетика – это некий частный случай геномного полиморфизма. Но в настоящее время (если оценивать статистически) ставят вопрос уже иначе – а может ли вообще «никак» не влиять на организм любая замена любого основания? Это раньше все сводили к заменам синонимическим и несинонимическим. И, ко-

Таблица 4  
Частичный список нарушений, связанных с SNPs [7]

Нарушение	Ген	Источник
Астма	EDN 1 и NOS 1	Immervoll et al., 2001
РОАС	Микоциллин	Colomb et al., 2001
Системный склероз	Фибриллин 1	Tan et al., 2001
Рак легких	MMP-1	Zhu et al., 2001
Аритмии	KCNQ1	Kubota et al., 2001
Идиопатический артрит	MIF	Donn et al., 2001
Кровяное давление	TAF1	Koschinsky et al., 2001
Цирроз желчный	MBL	Matsushita et al., 2001
Диабет 2-го типа	Синтаксин 1 А	Tsunoba et al., 2001
Системная эритематозная волчанка	Пролактин	Stevens et al., 2001
Расстройства приема пищи	Меланокортин	Adan and Vink 2001
Мигрень	Рецептор инсулина	Mc Carthy et al., 2001
Окостенение	Npps	Koshizuka et al., 2002
Рак легких	p53	Biros et al., 2001
Позднее начало PD	tau	Martin et al., 2001

«Примечание. SNPs – полиморфизмы единичных нуклеотидов; РОАС – первичная открытоугольная глаукома; MMP-1 – металлопротеиназа 1 матрикса; EDN 1 – эндотелин 1; NOS 1 – нейрональная синтаза 1 окиси азота; MBL – манноза-связывающий белок; Npps – нуклеотидпирофосфатаза; TAF1 – фибринолизинный ингибитор, активируемый тромбином; KCNQ1 – белок калиевых каналов; MIF – фактор ингибирования макрофагов; PD – болезнь Паркинсона.»

нечно же, несинонимические замены сильнее влияют на фенотип. Но сегодня уже очевидно, что функция генома очень уж во многом определяется пространственной структурой ДНК, от которой зависит узнавание обслуживающих ее белков, РНК–ДНК взаимодействий и т. д. И исходя из таких общих соображений имеются все основания полагать, что мононуклеотидные замены будут вызывать весь спектр влияния на фенотип – от леталей до исчезающе малой величины. Так оно и оказалось при конкретизации «общих соображений». И сегодня практически все массовые патологии соотносят к соответствующим снипам (табл. 4).

Почему это так очень хорошо иллюстрируется на примерах детально изученных белков? В час-

тности, BRCA1 – один из ключевых сигнально-регуляторных внутриклеточных белков. Его молекула содержит 30 сайтов, взаимодействующих почти с 30 различными белками, многие из которых в свою очередь являются регуляторными (рис. 3). Детальная изученность и этого гена, и белка, им кодируемого, обусловлена его связью (вернее, связью мутаций в нем) с очень высоким наследственным предрасположением к раку молочной железы. Связь снипов в BRCA1 с другими нарушениями в организме человека изучена слабо. Поскольку же буквально весь (!) белок (всеми своими аминокислотами), кодируемый геном *BRCA1*, взаимодействует с другими белками, то полиморфизм в нем будет влиять на такие взаимодействия. Но BRCA1 не более чем пример. А влияние снипов универсально и распространяется на все белки – в организме нет ничего, что функционировало бы только «само по себе». Все макромолекулы взаимодействуют, взаимовлияют, взаимоизменяются конформационно и все остальное «взаимо...». Даже для ферментов при детальном изучении их структуры и генов, их кодирующих, выясняется, что снипы, не влияющие на каталитическую активность, могут обуславливать взаимодействие фермента с другими белками [10]; многие синонимические замены в экзонах не совместимы с нормальным процессингом РНК [11] и т. д.

Возникает удивительно интересная в своей необычности ситуация – полная неопределенность любого (даже абстрактно-теоретического) всеобъемлющего, единого и внутренне не противоречивого не то что определения, а даже представления о том, что считать мутацией, а что нет. Для того чтобы белки в сложных и высокодинамичных комплексах, в которых они реально находятся и функционируют в клетках, обеспечивали таким клеткам возможность существования, согласованность взаимодействующих доменов, конформационных переходов, энергетические уровни их пространственного взаимодействия и т. д. должны быть исключительно точными. Пространственные отклонения от некоего идеала (максимально энергетически выгодного для данного конкретного процесса) не могут превышать десятых долей ангстрема, а энергетика – десятых килокалорий на моль. Иначе сложные сис-

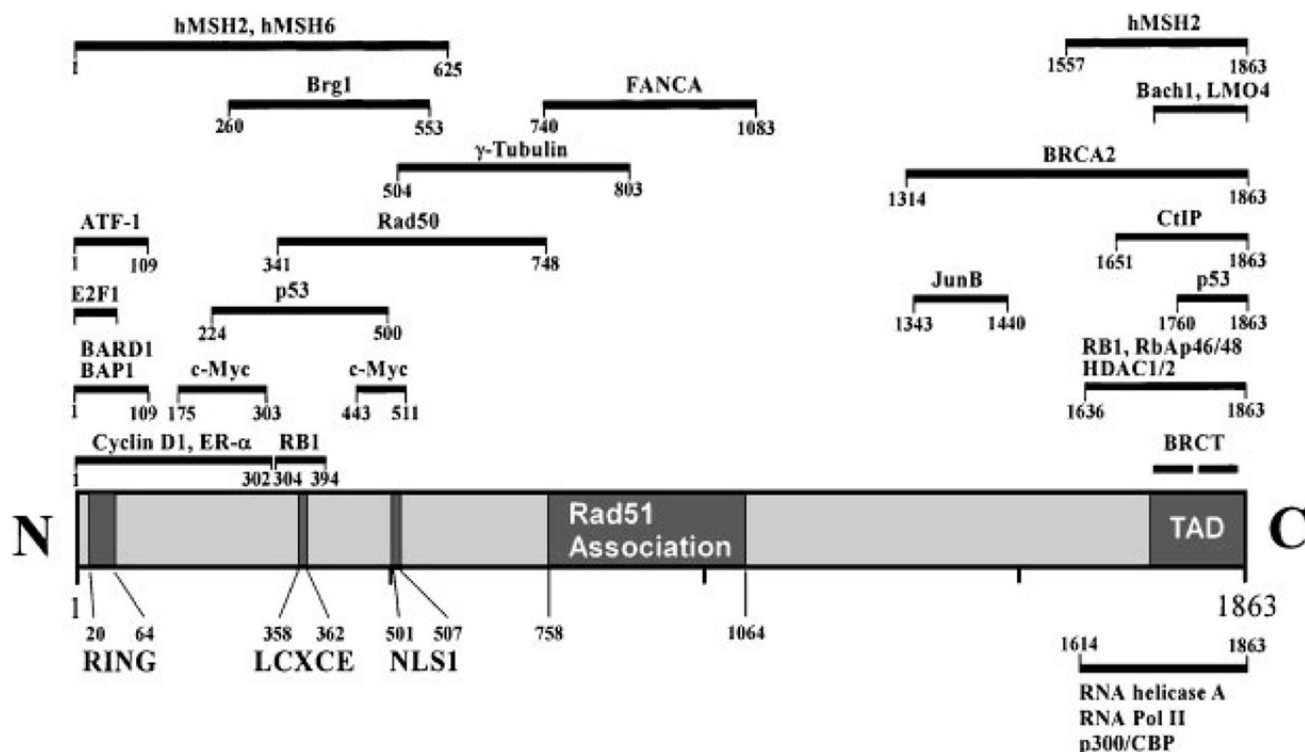


Рис. 3. «Взаимодействие белков BRCA1. Схематическая диаграмма, суммирующая BRCA1 белково-белковые взаимодействия. Сокращения: ATF-1 – активирующий фактор транскрипции 1; BAP1 – BRCA1-связанный белок 1; BARD1 – BRCA1-связанный белок 1 кольцевого домена; BRCT – С-концевой повтор BRCA1; CBP – p265 CREB-связывающий белок; CtIP – белок, взаимодействующий с CtBP (С-концевой связывающий белок); ER- – рецептор эстрогена; HDAC1/2 – деацетилаза гистона 1/2; LCXCE – консенсус связывающего мотива белков семейства RB; NLS1 – первичный сигнал ядерной локализации; RB1 – ретинобластома-1; RbAp46/48 – ретинобластома-ассоциированный белок с молекулярной массой 46/48 кДа; RING – кольцевой домен (цинковый палец); TAD – домен активации транскрипции»[9]

темы очень быстро перестанут правильно функционировать, на чем все и кончится. Для иллюстрации такого взаимодействия можно привести пример из совершенно другой области («категорически не имеющей никакого отношения» к рассматриваемой, но очень наглядной). Если взять два редуктора, изготовленных разными фирмами с одними и теми же внешними параметрами (скорость вращения на входе и выходе, внешние габариты, масса и т. д.), перебрать такую пару каждой фирмы отдельно (т. е. внутри самой себя) и собрать, поменяв между собой шестеренки, то все будет работать нормально. Но если взять разную пару – от разных фирм и точно так же поменять местами шестеренки, то такие перебранные редукторы либо вообще не будут работать, либо будут работать плохо и быстро ломаться. Каждая фирма проектирует чуть-чуть иначе (десятые миллиметра разницы по

осям, конфигурации зубцов и т. д.). Конечно же, молекулы – не шестеренки. Пространственно-энергетические взаимодействия между ними должны быть на многие порядки точнее, чтобы в организме все работало, «как надо». И если в таком мульти-белковом комплексе (любом) один сайт изменен, то по цепочке процессов все дойдет до внешне регистрируемых изменений – фенотипа. Можно говорить о мутациях. Если же изменений много, но все они «взаимоподогнаны», то система будет функционировать вполне успешно. Но если теперь от двух таких организмов, для которых все изменения взаимокompенсированы (но для каждого по-своему), получить потомство, то оно окажется носителем генов, кодирующих белки, в таком измененном наборе непрецизионно взаимодействующие между собой. Такое сплошь и рядом реализуется в жизни, когда у здоровых родителей дети далеки от такого

Таблица 5  
Распределение форм фолата в эритроцитах и статус метилирования ДНК в соответствии с MTHFR C677T генотипом и низкими и высокими значениями фолата эритроцитов [13]

Показатель	Эритроцит с низким фолатом			Эритроцит с высоким фолатом		
	С/С	Т/Т	Р значения	С/С	Т/Т	Р значения
Общий фолат, нмоль/г НВ	0,81±0,20	0,68±0,27	0,003	1,69±0,70	1,48±0,27	N. S.
Метил-тетрагидрофолат эритроцитов, % от общего количества	98,8±5,7	67,3±29,0	<0,0001	99,4±1,1	69,6±30,9	0,002
Статус метилирования геномной ДНК, нг метС/мкг ДНК	64,07 (49,89–81,45)	21,93 (14,73–32,45)	<0,0001	57,97 (45,60–73,55)	57,39 (29,96–109,94)	N. S.

же здоровья. И никакими общепринятыми «рецессивами» объяснить это невозможно – нет у родителей таких «рецессивов». Просто у них иная взаимоподогнанность макромолекул. Но могут быть и куда более тяжелые последствия. В клетке контролируется все, в том числе и степень стабильности мобильных элементов генома, которых много у всех видов эукариотов (в том числе и у человека). При нарушении прецизионности взаимодействий белков, контролирующих активность мобильных элементов, последние активируются, вызывая массовый мутагенез. Такое было продемонстрировано экспериментально. При скрещивании между собой двух стабильных лабораторных линий дрозофилы во втором и третьем (не первом даже!) поколении появились множественные мутации и возникла нестабильность генома [12].

Вот и получается, что мутации – это изменения, которые можно оценивать как мутации только по отношению к непосредственно исходному объекту, с которым сравнивают фенотипы, или внутри контролируемой короткой линии репродукции. Но в короткой цепи поколений хотя бы можно что-то проследить конкретно. А вот в том, что соотносят с категорией «эпигенетика», очень часто ситуация внешним наблюдателем вообще не может быть отличима от полного хаоса. Наиболее ярко (и лучше всего изучено) такое проявляется на уровне ковалентной модификации цитозина – присоединение метильной группы в пятом положении. Точное количественное определение метилцитозина в общем пуле клеточной ДНК (и соответственно отношение метС ко всему цитозину) – методически очень сложная процедура, которая стала доступной совсем недавно. Но когда стала – информация была

получена очень интересная. Если оценивать в среднем, взяв за среднее некоего здорового молодого индивидуума, то в геноме человека «в среднем» метС составляет 16–17 % от всего цитозина [13].

Но если брать крайние значения, то у внешне вполне здоровых, нормальных людей (в зависимости от генотипа, метаболизма фолатов, диеты и т. д.) колебания в содержании метС у разных индивидуумов превышает семикратную величину (табл. 5).

То есть в геноме происходят какие-то совершенно фантастические изменения, а внешне (тот самый «фенотип») на людях это вообще никак не отражается. Вот и получается, что какую область мутаций ни возьми, стоит выйти из отдельных, постоянно приводимых примеров, в которых все, «как надо», как сразу же все становится, «как не надо», – неопределенным, неоднозначным, противоречивым. Что-то здесь не так. Это «не так» по всем своим показателям свидетельствует об одном – в понятия и представления о мутациях свалены в кучу разные явления, которые, с железной логикой коллеги Прокруста, любой ценой укладывают в одно ложе. С такой ситуацией надо кончать, что сегодня уже ясно всем. Вопрос только, как кончать. Для того чтобы понять, «как», разобраться во всех противоречиях, несоответствиях, неоднозначностях и т. д., всего того, что объединяют термином «мутация», надо начать с начала. С самого начала. А для «образца сравнения» возьмем род людской (он и изучен в этом плане лучше других, и в силу очевидных причин всем нам ближе). Таким «самым началом» является первая «точка отсчета» будущего индивидуума (любого) и вся совокупность процессов и событий, которая за этим следует.



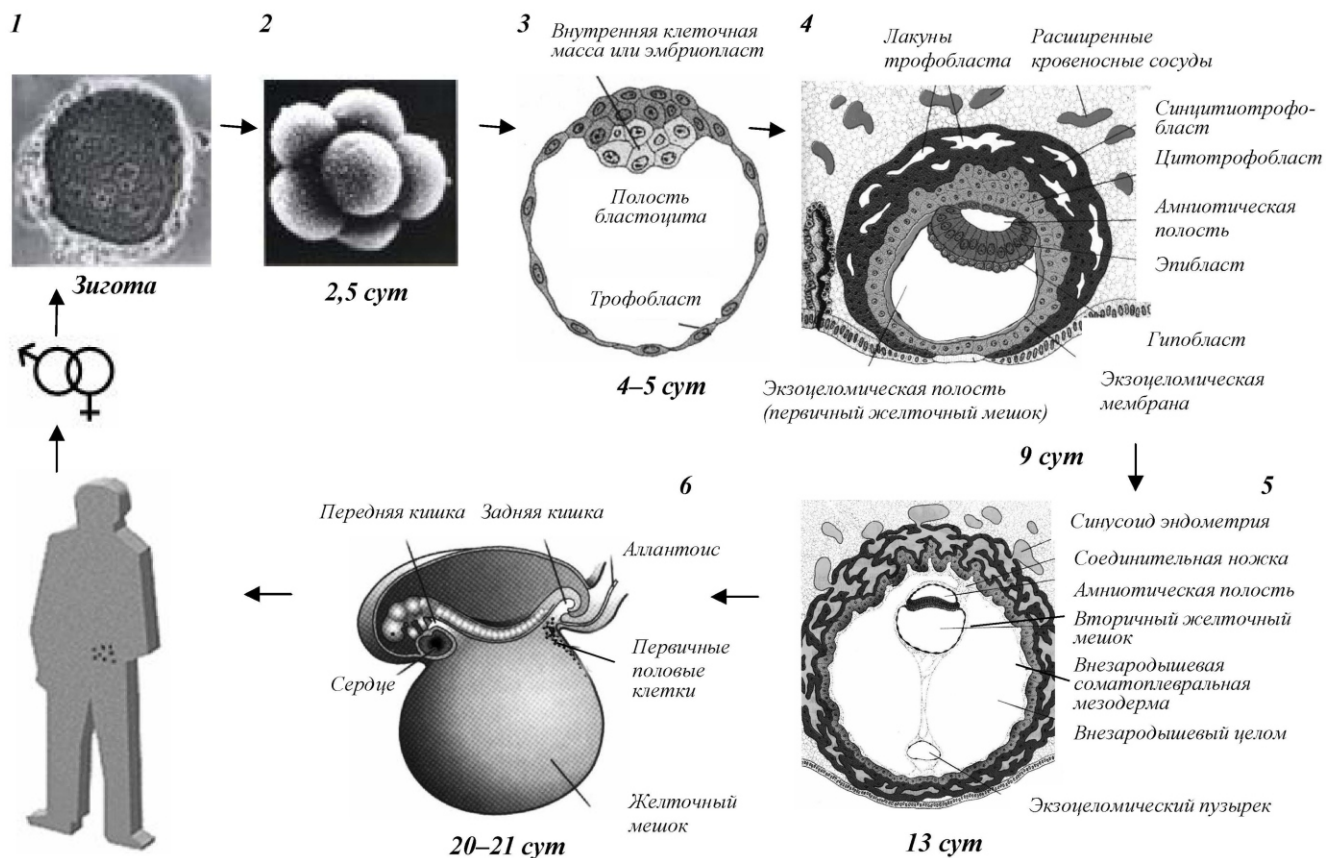


Рис. 4. «Ранние этапы эмбриогенеза человека» (составлено по [14])

Начнем «с себя». Более ста лет тому назад Вейсман сформулировал концепцию зародышевой плазмы. В начале она была не более чем идеей. Но постепенно накапливался экспериментальный материал и сегодня все это в сверхсжатом виде выглядит следующим образом (рис. 4). После оплодотворения зигота начинает делиться. Вначале (первые 2–3 дня) между такими делящимися клетками нет никаких фундаментальных различий. Но затем начинается их дифференцировка и к пятым–шестым суткам только небольшая часть клеток (так называемая «внутренняя клеточная масса» бластоцисты) сохраняет в полной мере свой потенциал превращений «во что угодно» – в любые дифференцированные (или недифференцированные) клетки. В последующие 3–4 дня эта часть клеток (продолжая мультиплицировать) разделяется на две группы. Одна мигрирует во внутреннюю полость бластоцисты и принимает участие в формировании желточного

мешка. Вторая группа начинает формировать будущий эмбрион. Эти процессы развиваются и на 20–21-е сутки: группа клеток, начавшая формировать эмбрион, доводит этот процесс до первых, уже морфологически оформленных элементов, а из группы, участвовавшей в формировании первичного желточного мешка, образуются инициальные половые клетки. Таким образом, предшественники половых клеток человека берут свое начало не от этого человека. И сам человек, и половые клетки этого человека образовались независимо из той последней группы тотипотентных клеток (апикальной части внутренней клеточной массы бластоцисты), которая еще имела полный потенциал дифференциации. Если быть абсолютно последовательным, то наши дети берут начало не от нас. Мы и наши дети – исходно, одновременно разошедшимися клетками будущей (!) сомы («мы») и продолжающегося зародышевого пути («предшественники по-

ловых клеток») берем начало от (до расхождения) внутренней клеточной массы бластоцисты (в свою очередь – производной зиготы), т. е. от наших родителей. По сути процесса – мы и наши дети генетически (!!!) двоюродные братья и сестры. Образовавшись в желточном мешке на 20–21-е сутки инициальные половые клетки колонизируют зародыш (сому по Вейсману). И так – все бесчисленные миллионы лет. Зародышевый путь, только он и никогда не прерываясь, всегда идет «сам в себе» по зародышевому пути, для которого сома – не более чем его, зародышевого пути, временный носитель и распространитель. А неизменность зародышевой плазмы должна быть максимальной (иначе жизнь пойдет в разнос).

Совсем иные функции и судьба сомы. Она должна максимально адаптироваться, приспособливаться, реагировать, подстраиваться и т. д. под условия существования – разные, меняющиеся, сложные, неблагоприятные и все такое прочее. А плата за все это – неизбежный финал через какое-то время. Какое – определяется биологическим временем, необходимым для реализации развития и последующего раунда передачи зародышевой плазмы. При таком всем разном (жизненная задача, цель существования, время существования, условия существования – в окружающем бушующем мире или в защищенной от всего этого соме и т. п.) все процессы, в том числе и мутации, в соме и зародышевой плазме ну никак не могут быть одинаковыми ни по сути, ни по функциональной значимости, ни по задачам, поставленным жизнью как явлением. В то же время, в силу исторически сложившихся представлений, мутации оценивают по событиям, которые произошли (спонтанно или индуцированно) в зародышевом пути, да к тому же оценивают не непосредственно в нем, а через реализацию в соме. И даже когда определяют мутации в соматических клетках, то, как правило, определяют их посредством мультипликации таких клеток в селективных условиях, фактически ничего общего с тем, что имеет место в организме, не имеющих. Сомы – это мы с Вами на протяжении десятков лет жизни в условиях, которые часто ни описать, ни понять, ни оценить, ни даже представить себе невозможно. Так что же происходит в соме с тем, что, понимая

каждый по-своему, именуют одним термином – «мутации»? Для понимания происходящего в соме (т. е. в нас с Вами) начнем с повреждений, возникающих в ДНК, т. е. того, что предшествует мутациям, того, что уже не норма, но еще не мутации в «общепринятом» понимании. Но только – в «общепринятом», потому что по сути процесса и его реализации (пока этот процесс не приведен репарацией к норме или к измененному закрепленному состоянию, то есть «общепринятой мутации») повреждение функционально является мутацией в ее предельном проявлении. Повреждение основания блокирует продвижение РНК-полимеразы и ген перестает считываться. Пока повреждение не устранено – ген не функционирует. Для клетки это фенотипически (но только на уровне клетки) не отличается от мутации, полностью выключающей его, данного гена, проявление. Конечно же, только на время существования повреждения, но зато радикально. Сколько же повреждений возникает в среднем в каждой клетке человека? Это определяется многими факторами, первыми из которых (в цепи всех последних событий) являются реакционноактивные продукты.

Самыми массовыми поражающими факторами среди них являются кислород и его производные. Тот самый кислород, без которого человек может прожить не более нескольких минут. В сутки человек потребляет (в среднем) 640 г (420 л) кислорода [15]. И в результате дыхания в каждой клетке человека (тоже в среднем) ежедневно образуется  $6,5 \cdot 10^{10}$  радикалов кислорода [16]. По количеству (т. е. «по штукам») это во много раз больше, чем содержится в клетке всех оснований нуклеиновых кислот и аминокислот белков вместе взятых, а по массе достигает 0,1 % массы средней клетки. Общая же масса всех реакционноагрессивных продуктов, образуемых в клетке в процессе ее нормальной, абсолютно необходимой ей жизнедеятельности, ежедневно значительно превышает общую массу всех макро- и немикромолекул клетки [17]. И какие бы ультрасуперсамые совершенные системы защиты (т. е. на уровне предупреждения, недопущения) от таких агентов не существовали, какая-то часть их все равно защиту преодолет и вызовет повреждения всего, в том числе и генома. Долгое

время по этому поводу строили разные предположения. Но постепенно методики совершенствовались и начали появляться корректные количественные данные. Самыми изученными в этом плане являются оксидативные повреждения ДНК в клетке. Они достаточно разнообразны и их общее количество составляет от 0,5 до 2 млн повреждений на геном каждой клетки ежедневно [18]. В митохондриях этот уровень существенно (на 1–2 порядка) выше [19]. Но оксидативные повреждения составляют только часть всего пула повреждений ДНК в клетке. Остальные меньше изучены. А по мере изучения их вклад оказывается очень даже весомым. Так, например, депуринизация достигает  $10^4$  на ядерную ДНК каждой клетки ежедневно [20]. Велик вклад и других повреждений. Экстраполируя все это, можно достаточно обоснованно принять уровень повреждений ядерных ДНК каждой клетки  $10^7$  ежедневно. И так – на протяжении всей жизни. А мутации (в их общепринятом понимании) возникают, даже если считать не на все время, а «на деление» и брать быстроделяющиеся клетки (например, клетки крови на пути их образования от исходной стволовой до дифференцированной, поступающей в кровоток), с частотой (очень усредненной)  $10^{-7}$  на ген, то есть (с учетом того, что генов у человека 35–40 тысяч) по крайней мере на 10 порядков (!) реже.

А фактором, от которого зависит количество повреждений, является система защиты от повреждений. Эффективность же систем защиты регулируется и эволюционно, и функционально. И, как показывает сравнение таких систем защиты, оно у разных млекопитающих различается очень сильно. В общем этого можно было и ожидать – у разных эволюционно отдаленных таксонов одинаковым все быть не может. Но достаточно неожиданным (и противоречащим ранним исследованиям) оказалось то, что с возрастом активность систем предотвращения повреждаемости ДНК не меняется (табл. 6).

Это уже может свидетельствовать о том, что фактически мы имеем дело с неким запрограммированным уровнем. Ибо уровень систем предотвращения повреждений определяет и уровень собственно повреждаемости. Здесь необходимо уточнение: количество повреждений и уровень повреж-

Таблица 6  
Влияние возраста на активность основных антиоксидантных ферментов [18]

Ткань	Антиоксидантные ферменты	Активность ферментов, отн. ед. на мг белка	
		Молодые мыши	Старые мыши
Печень	Каталаза	4,65±0,17	4,56±0,09
	Глутатионпероксидаза	7,16±0,60	8,36±0,28
	Mn-супероксид-дисмутаза	11,52±1,32	12,12±0,31
Сердце	CuZn-супероксид-дисмутаза	192,53±20,23	174,28±16,19
	Каталаза	0,42±0,07	0,51±0,02
	Глутатионпероксидаза	0,40±0,06	0,61±0,02
Мозг	Mn-супероксид-дисмутаза	63,08±1,95	68,04±3,69
	CuZn-супероксид-дисмутаза	66,92±0,33	73,20±3,91
	Каталаза	0,29±0,03	0,34±0,06
	Глутатионпероксидаза	0,86±0,12	0,90±0,07
	Mn-супероксид-дисмутаза	13,76±1,02	18,01±1,34
	CuZn-супероксид-дисмутаза	43,31±1,69	46,53±4,75

«П р и м е ч а н и е. Активность различных антиоксидантных ферментов измеряли в экстрактах тканей, взятых у молодых (6–7 месяцев) и старых (26–28 месяцев) самок мышей линии C56B1/6.»

даемости – не одно и то же. Если говорить не о количестве повреждений за единицу времени, а об уровне, т. е. о некоей постоянной величине количества повреждений в ДНК, то это уже будет иное понятие. Повреждение через какое-то время после своего появления устраняется. Устраняет их иная система – не система предотвращения повреждений, а система устранения повреждений (репарация). И уровень повреждений будет представлять собой некую равновесную величину между скоростью повреждаемости и скоростью репарации.

Принципиальным является вопрос, какую именно равновесную величину обеспечат эти противоположно направленные процессы. Будет ли такая равновесная величина временно-точечной, т. е. равновесной только для очень коротких периодов времени, в пределах которых и внешние, и внутриклеточные параметры практически неизменны, а

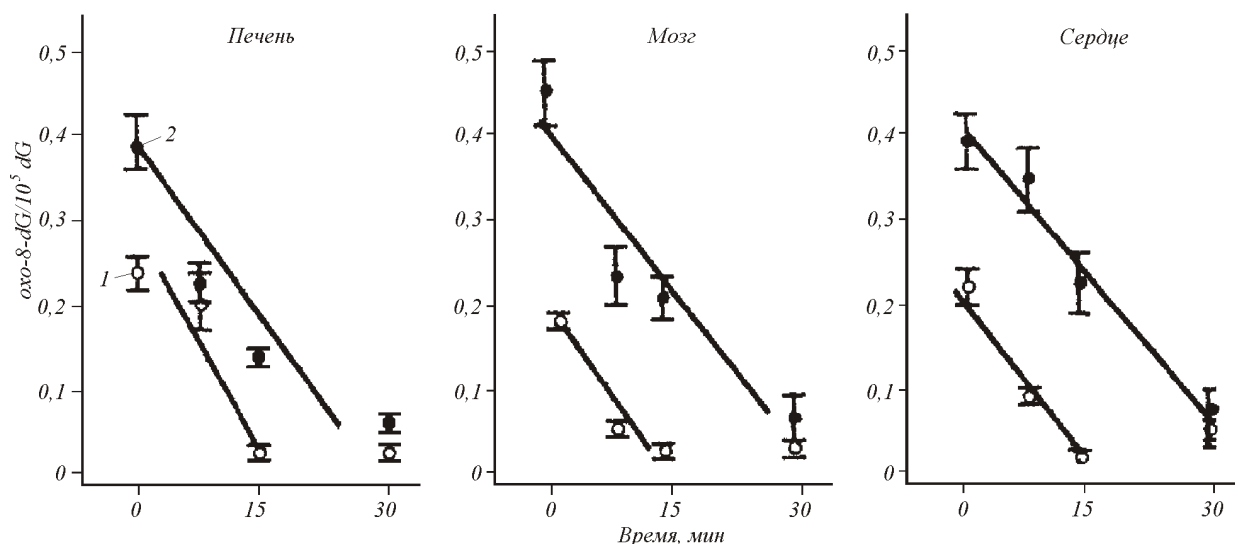


Рис. 5. «Влияние возраста на удаление охo-8-dG из яДНК после острого  $\gamma$ -облучения всего организма. Молодых (1) и старых (2) самок мышей линии C57BL/6 подвергали  $\gamma$ -облучению в дозе 2 Гр; сразу после облучения и через 7, 5, 15 и 30 мин после облучения из печени, мозга и сердца выделяли яДНК. Каждое значение представляет уровень охo-8-dG, вызванный  $\gamma$ -облучением, т. е. уровень охo-8-dG в тканях, не подвергшихся облучению, вычитали из значений уровня охo-8-dG, полученных после облучения. Каждая величина представлена в виде средней величины измерений для шести мышей  $\pm$ SEM. Скорость удаления охo-8-dG из яДНК подсчитывали, используя графическую программу Microsoft Excel, с помощью которой можно с наилучшим соответствием получить прямую, выходящую из точки с максимальным поражением (время 0), проходящую через временные точки до достижения уровнями охo-8-dG/10<sup>5</sup>dG базовой линии. Затем программа Excel создает наклон линии и эти линии представлены на рисунке. Скорости удаления охo-8-dG/10<sup>5</sup>dG составляли 0,113 $\pm$ 0,049 против 0,109 $\pm$ 0,025 охo-8-dG/10<sup>5</sup>dG за 1 мин для печени молодых и старых мышей соответственно; 0,134 $\pm$ 0,033 против 0,086 $\pm$ 0,009 охo-8-dG/10<sup>5</sup>dG за 1 мин для мозга молодых и старых мышей соответственно; 0,118 $\pm$ 0,032 против 0,100 $\pm$ 0,029 охo-8-dG/10<sup>5</sup>dG за 1 мин для сердца молодых и старых мышей соответственно. Скорости удаления охo-8-dG для молодых и старых мышей сравнивали статистически с использованием теста Стьюдента. Для всех трех тканей не получено статистически достоверных различий. Однако уровни охo-8-dG были значительно выше ( $p < 0,001$ ) у старых мышей, чем у молодых, во всех временных точках, за исключением 30-мин точки для всех тканей, и точки, соответствующей 7,5 мин для печени» [18]

при их изменениях (что в жизни происходит почти непрерывно) соответственно меняться? Либо будет равновесной в широком диапазоне внешних условий. Как показано прямыми экспериментами, резкое повышение точечного уровня повреждаемости (что достигалось путем острого  $\gamma$ -облучения) быстро (за считанные минуты) круто-прямолинейно восстанавливается до исходных значений (рис. 5). До исходных!

И протекает это одинаково как у молодых, так и у старых животных. Возникает удивительная ситуация – мощность систем репарации столь велика, что круто-линейно восстанавливает повреждения, вызванные внешним возмущением. Но далее, выводя их на какой-то исходный уровень, репарация замедляет процесс восстановления и «держит уровень». А если попытаться «помочь» клетке снизить уровень повреждений (т. е. их равновесное коли-

чество в геноме)? Казалось бы, клетке от этого должно стать только лучше. В действительности же все происходит «с точностью до плюс–минус наоборот». При введении в нормальную (полноценную) клетку дополнительных генов, кодирующих ферменты репарации, увеличение их количества приводило к отрицательным последствиям. Так, например, сверхэкспрессия ферментов репарации алкил-N-пурингликозилазы или ДНК-полимеразы вызывала нестабильность генома и, как следствие, вела к возникновению нестабильного фенотипа [21]. Так может быть только в одном случае, если для нормального функционирования клеткам нужен определенный уровень повреждений их генетического материала. При всей кажущейся невероятности подобного предположения оно уже может быть обосновано прямыми экспериментами. Первый шаг на этом пути был сделан после того, как



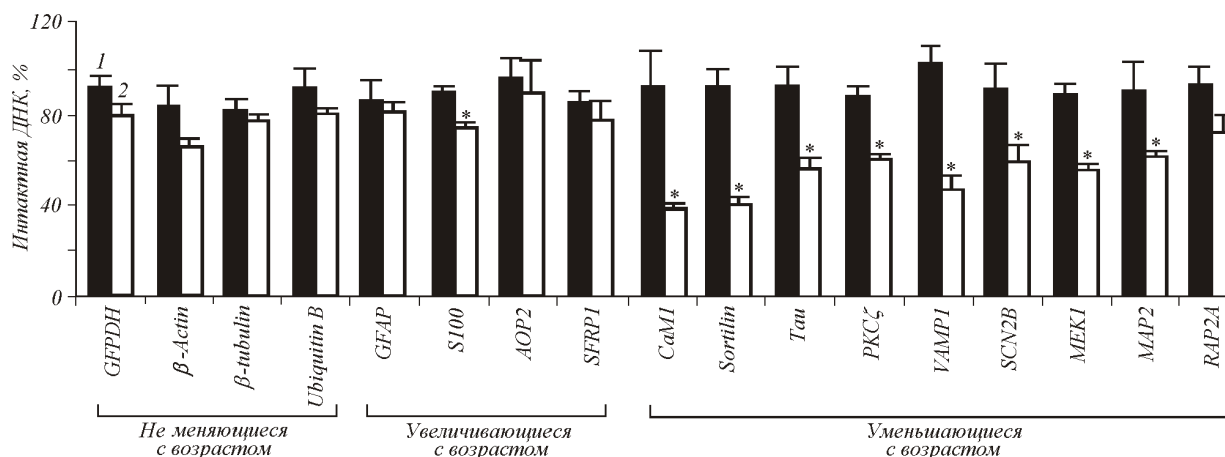


Рис. 6. «Повышенная чувствительность к оксидативным поражениям ДНК промоторов генов, активность которых снижается с возрастом (age-down regulated). Человеческую культуру кортикальных нейронов инкубировали в присутствии или в отсутствие 100 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/20 мкМ FeCl<sub>2</sub> в течение 12 ч, после чего определяли повреждение ДНК промотора. Значения представляют собой средние величины ±s. d., n = 3. Звездочки указывают на p<0,05 относительно необработанных проб; p<0,001 для группы генов с промоторами, активность которых снижается с возрастом по отношению к промоторам генов, активность которых не зависит от возраста, или генов, активность которых с возрастом увеличивается» [22]

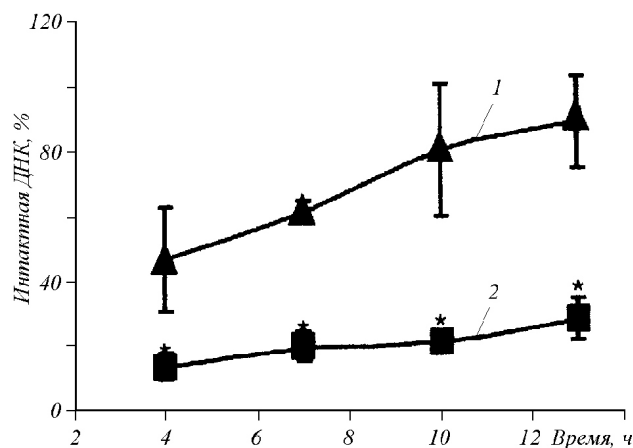


Рис. 7. «Повреждения и репарация ДНК промоторов -тубулина и кальмодулина 1. Репортерные плазмиды, поврежденные *in vitro* с помощью H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, были трансфицированы, после чего в последовательности каждого промотора определяли поврежденную ДНК через увеличивающиеся интервалы времени. Значения выражены относительно неповрежденной трансфицированной репортерной ДНК, и представляют собой средние значения для трех измерений (n = 3) ±s. d. (стандартное отклонение). Звездочки указывают на p<0,05 относительно -тубулина» [22]

стало известно ежесуточное количество возникающих повреждений. Он, этот первый шаг, заключался в признании того, что оксидативные повреждения ДНК являются «нормальным клеточным метаболизмом» [18]. Сложнее оказалось с предположением, какую роль в нормальном клеточном метабо-

лизме играют повреждения генома. Хотя, если быть строго последовательным, то роль повреждений прямо вытекает из их непосредственного действия на экспрессию. При повреждении гена считывание с него останавливается на поврежденном основании. То есть повреждение выключает ген. Выключает временно, до тех пор, пока репарация повреждения не устранил. По своей феноменологии выключение гена – в данном варианте за счет повреждения основания в нем – и последующее (через какое-то время) его включение (репарацией, восстановлением после повреждения) есть не что иное, как регуляция. Поэтому можно предположить, что повреждение оснований имеет какое-то регуляторное значение. Какое и как – вытекает из анализа некоторых экспериментов, проведенных на клетках человека. В клетках мозга (работа выполнена на автосийном материале) имеются возрастозависимые белки. Такая зависимость заключается в том, что количество одних белков с возрастом падает, других – не меняется, третьих – растет. Изучение уровня их нарушений показало, что промоторы этих белков повреждаются и репарируются в строгом соответствии с тем, что «должно быть» при старении (рис. 6). По сути всей цепочки процессов – это регуляция, только очень для нас непривычная. Детальное исследование данного явления показало,

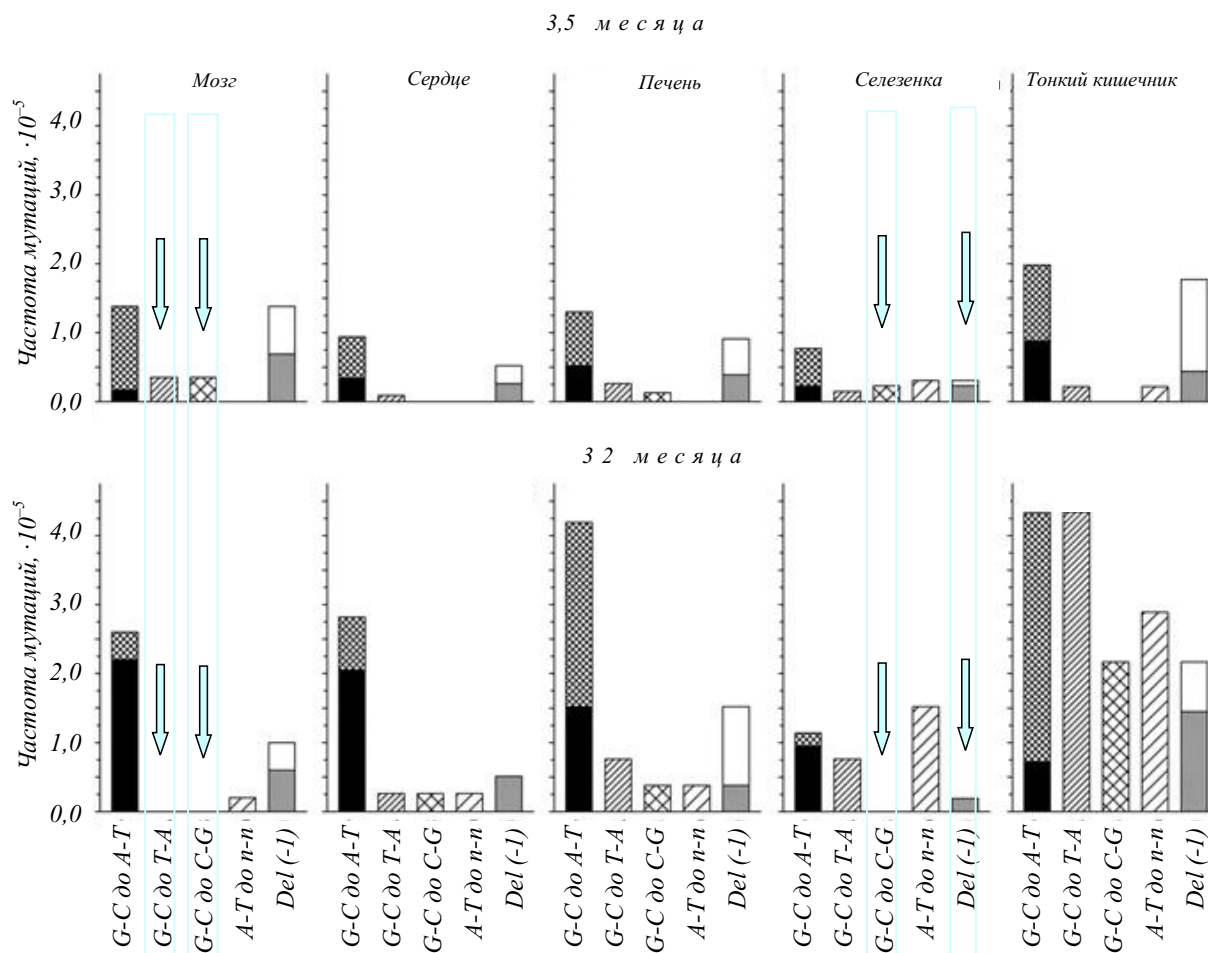


Рис. 8. «Спектр точечных мутаций для репортерного гена *lacZ* в мозге, сердце, печени, селезенке и тонком кишечнике у молодых (3,5 месяца) и старых (32 месяца) мышей. Столбики представляют частоту каждого типа указанных точечных мутаций. Черная область в столбиках G:CA:T указывает на долю каждой мутации, которая произошла в CpG- сайтах, а серые области в Del(-1)-столбиках указывают на частоту каждой мутации, которые произошли в повторяющихся сайтах, например, последовательность трех или более одинаковых нуклеотидов. Были сделаны поправки на повторяющиеся периодически мутации» [23]

что оно обусловлено соответствующими уровнями повреждений ДНК в промоторных зонах и отвечающей такому уровню репарацией (рис. 7). Поскольку же в этом случае промоторы обрабатывали агентом, вызывающим повреждения оснований вне клетки (т. е. в строго одинаковых контролируемых условиях), а затем (опять же одинаково) вводили в идентичные клетки, то разная степень восстановления от повреждений (и, как следствие, разный равновесный уровень поврежденности) зависела от особенностей таких промоторов (первичной последовательности, образуемых пространственных структур и т. д.). Возникает интересная и совершенно новая система регуляции активности генов.

Большинство генов в клетке экспрессируются конститутивно. В них нет сайтов для взаимодействия с регуляторными белками. Но генетически запрограммированная нуклеотидная последовательность предопределяет уровень повреждаемости этих последовательностей. И конститутивные гены оказываются регулируемы, однако по совершенно иному механизму. Так рождаются новые концептуальные представления: повреждаемость генома как естественный массовый механизм регуляции его активности; регуляции через разную повреждаемость, обусловленную разной первичной последовательностью. Посмотрим теперь, что происходит на уровне реализованных мутаций, т. е. изменений,

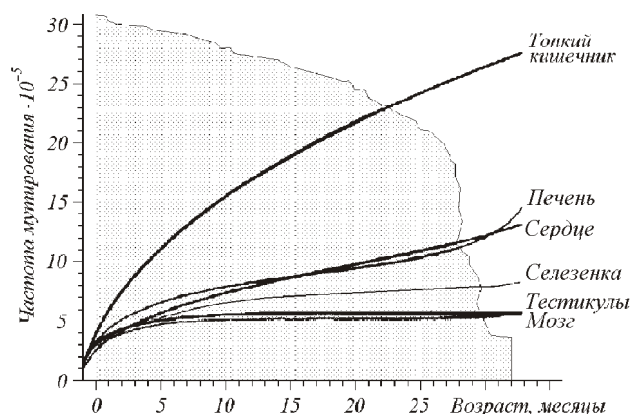


Рис. 9. «Частота спонтанных мутаций в *lacZ* с возрастом в мозге, тестикулах, селезенке, сердце, печени и тонком кишечнике у трансгенных мышей линии 60 (Dolly et al., 2000; Martin et al., 2001; Giese et al., 2002). Линии представляют собой «нарисованные вручную» кривые, соответствующие средним значениям частоты мутаций в различных возрастных группах. Область, выделенная серым фоном, представляет кривую выживания мышей, соответствующую 100 % при рождении и стремящуюся к 50 % при возрасте 26,5 месяцев» [24]

закрепленных в геноме соматических клеток. Изменений первичной последовательности ДНК, т. е. на роль мутаций в соме – в нас с Вами. И первое, на чем стоит остановиться, так это на том, что в соме существует особое явление – динамизм мутаций. Динамизм, суть которого состоит в том, что мутации (закрепленные, классические) не только появляются, но и исчезают, элиминируют. Путей такой элиминации два. Первый из них хорошо известен и определяется элиминацией клеток, в которых имеется мутация. Для этого мутация должна активировать процессы, вызывающие элиминацию клетки, ее несущую. А для реализации элиминации существуют апоптоз, иммунный надзор, аутофагия и т. д. Здесь все, вроде бы, понятно. Хотя количественная сторона такого самоочищения от мутаций столь высока, что должна служить предметом особого рассмотрения. За жизнь человека общая масса элиминирующихся в его теле клеток превышает «стабильную» (т. е. условно-средние 70 кг – средняя масса тела «среднего» человека), а фактически некую равновесную массу его тела в сотни раз [17]. Но это – особая тема. В «общем же виде» здесь все, в основном, «ясно».

Необычен второй путь элиминации мутаций. На этом пути убираются мутации из клеток с сохране-

нием последних. Это хорошо видно на конкретном примере [23]. Исследовали содержание разного типа мутаций в исчерпывающе охарактеризованной последовательности у трансгенных мышей в разных тканях. В эксперименте использовали молодых (фактически юных) мышей 3,5-месячного возраста (к этому времени все ткани и органы у них были уже полностью сформированы) и старых (фактически дряхлых) 32-месячных (видовой срок жизни мышей составляет 3 года). Детальное изучение спектра мутаций показало, что в мозгу (т. е. там, где клеточное замещение минимальное, а без повреждений вообще символическое) из четырех обнаруженных в 3,5-месячном возрасте типов мутаций две к 32-месячному возрасту полностью исчезли. В селезенке (в ней клеточное обновление имеет место в обычном объеме) исчез один тип мутаций (рис. 8). Результатом такого очищения от мутаций является то, что в ряде тканей роста мутаций с возрастом либо вообще не происходит, либо он незначителен (рис. 9).

Таким образом, как уровень повреждений, так и уровень закрепленных мутаций (т. е. мутаций, безоговорочно классических по всем представлениям) поддерживается в организме (соме) на нужном ему (организму) уровне. Нужном! Ибо сдвиг равновесия в любую сторону (т. е. вывод на иной, как более высокий, так и на более низкий уровень) оказывается вредным и ведет к тяжелым последствиям. Как указывалось выше, это уже показано экспериментально. В саму же репарацию, т. е. сумму процессов, определяющих уровень мутаций, в той или иной мере вовлечена чуть ли не основная часть всего генома. Так, у бактерий их вклад составляет 30 % всего генома, превышая по абсолютному количеству 1000 генов [25]. У млекопитающих это все намного совершеннее (и, как можно думать, намного разнообразнее).

В случае точечных мутаций (типа нуклеотидных замен) их регуляторная функция пока неизвестна (и, справедливости ради, надо отметить, что ее никогда и не изучали). Можно выделить только нечто особое – таутомерные переходы. Таутомерные изменения оснований не репарируются. Вообще никак и никогда. Они регулируются состоянием ДНК: пространственной структурой, зависящей от

первичной последовательности, взаимодействиями ДНК с белками, мелкими молекулами и т. д. Почему-то на это не обращают внимания – в клетке непрерывно существует форма мутагенеза, регулируемая клеткой. Зато на уровне более крупных изменений экспериментального материала накопилось уже много и их регуляторное значение проявляется удивительно ярко. Настолько ярко, что не заметить его невозможно. Но, описывая, его прячут за иной терминологией (как-будто от этого меняется суть). Первой в этом направлении (т. е. регуляторной роли мутаций) была описана диминуция хроматина у аскарид – строго функциональная и прецизионная элиминация части генетического материала в соме после разделения зародышевой линии на новое свое же продолжение (зародышевую линию) и ее тупиковое ответвление – сому. Затем диминуция была открыта и у других организмов, да к тому же в еще большем объеме, чем у аскарид. Так, у некоторых реснитчатых простейших в отдельных случаях имеет место элиминация до 95 % генома по отношению к полностью сохраняемому в зародышевой линии [26].

Диминуция – самая надежная форма регуляции. Чего нет, то уже ни при каких условиях не может проявиться, активироваться, несанкционированно реализоваться и т. д. И специальных систем для регуляции (полного выключения и удерживания в таком выключенном состоянии) не надо – очевидная экономия, особенно в сложных сигнальных цепях. Но до абсолюта это доведено только у млекопитающих (в том числе и человека). Только у них имеет место стопроцентная элиминация генома. Это происходит при эритропоэзе. На определенных этапах дифференцировки у предшественников эритроцитов ядро полностью выбрасывается из клетки. С одной стороны, так достигается экономия пространства, необходимого для материала, обеспечивающего перенос кислорода. С другой, – массовая и самая крупная непрерывно образуемая и исчезающая клеточная популяция, потенциально максимально повреждаемая (перенос кислорода, т. е. его непрерывное поглощение, запасание и выдача), при наличии в ней ядра несла бы невероятную сверхугрозу также массовой, непрерывной, всеобъемлющей малигнизации. Никакой бы мощности иммунного

надзора для этого уже не хватило бы. Здесь – регуляция еще и антионкогенная (и в этом смысле – абсолютная).

Следующим открытием стали пуфы двукрылых. В основном в клетках слюнных желез на хромосомах образуются утолщения. Они перемежаются участками обычных размеров и представляют собой многократно (в крайних проявлениях более чем тысячекратно) амплифицированные гены, функция которых должна быть усилена. В этих случаях регуляция активности генов достигается их соответствующим умножением. Образование пуфов как вид регуляции стало веским поводом для новых исследований. Именно по появлению нового пуфа у дрозофилы после помещения ее в условия резко повышенной температуры были открыты белки теплового шока (после которых пошли шапероны). В клетках млекопитающих амплификация была обнаружена под действием токсических веществ (начало положил метотрексат) как ответная реакция, ведущая к увеличению продукции защитных белков. Но в клетках млекопитающих постоянно имеет место и «спонтанная» амплификация разных генов. Вообще термин «спонтанно» не является синонимом «хаотически» или «ни с того ни с сего». Спонтанно – это тогда, когда мы не знаем причины. Не знаем, а не ее нет как таковой. Непосредственно в организме млекопитающих исследовать амплификацию методически пока не умеют. А вот в культуре клеток определяют. И оказывается она совсем не пренебрежимо мала и не статистически одинакова для разных генов. Так, для двух генов человека фоновые различия уровней амплификации между разными линиями клеток были более чем в 170 раз по одному гену и втрое – по другому, а между этими генами в пределах одной и той же линии клеток в 120 раз для одной пары и приблизительно в 4,5 раза – для другой (табл. 7).

Амплификация – типичное «крупное изменение генома с явным фенотипическим проявлением». По классическим определениям – это мутации, но функции их регуляторные.

Особый класс мутаций обеспечивается комбинированным амплификационно-рекомбинационным механизмом. Самым первым (по времени его обнаружения) является магнификация. Повторы



Таблица 7

Частота генной амплификации в контроле или *mCAD*\*-экспрессии *HCT116* и *L929* клеток [27]

Препарат селектив/тип клеток	Доза облучения	PALA** селекция (амплификация <i>cad</i> гена)				MTX*** селекция (амплификация <i>dhfr</i> гена)			
		PE, %	LD <sub>50</sub> , μM	Общее количество селектированных клеток, ·10 <sup>6</sup>	PALA <sup>r</sup> частота ·10 <sup>-3</sup>	PE, %	LD <sub>50</sub> , μM	Общее количество селектированных клеток, ·10 <sup>6</sup>	MTX <sup>r</sup> частота ·10 <sup>-3</sup>
HCT 116/контроль	Нет	45,3	31,4	4,5	5,54	42,0	17,5	15,6	0,046
HCT 116/ <i>mCAD</i>	Нет	64,7	15,0	1,5	27,4	41,0	13,3	15,6	0,25
HCT 116/контроль	3 Gy	59,3	31,4	2,4	8,50	13,4	17,5	14,3	0,21
HCT 116/ <i>mCAD</i>	3 Gy	66,0	15,0	0,6	41,7	18,0	13,3	11,5	1,01
L929/контроль	Нет	47,3	21,3	20	0,032	47,3	31,0	10	0,15
L929/ <i>mCAD</i>	Нет	55,5	9,9	3	21,3	55,5	16,7	12	0,81
L929/контроль	4.5 Gy	22,8	21,3	4,8	3,66	22,8	31,0	4,8	10,5
L929/ <i>mCAD</i>	4.5 Gy	11,8	9,9	2,4	81,6	11,8	16,7	3	37,4

«П р и м е ч а н и е. PE – эффективность клонирования; LD<sub>50</sub> – доза при 50 %-м росте клеток в присутствии ингибитора; PALA<sup>r</sup> – PALA-устойчивые клоны; MTX<sup>r</sup> – MTX-устойчивые клоны.»

(любые) склонны (в силу своей идентичности по первичной последовательности) к рекомбинационному выщеплению и, как одно из следствий, – к потерям. Рибосомные гены в геноме многокопийны. Из-за этого их количество может в поколениях уменьшаться. В таких случаях, как это было обнаружено вначале у дрожофилы, включается механизм их восстановления в клетках зародышевой линии. На определенном этапе часть оставшихся генов рибосомной ДНК санкционированно выщепляется из хромосомы, амплифицируется в таком автономном состоянии, а потом опять интегрирует в хромосому (по гомологии туда, где и должна быть). Так в генеративной линии восстанавливается число необходимых генов.

Но принципиально подобный механизм лежит в основе качественно иного явления – образования новых (отсутствующих в зародышевой линии и, стало быть, в половых клетках тоже) генов и «генов по требованию».

Хорошо известным примером образования в соме новых генов, которых нет в зародышевой линии и которые в нее после своего образования в соме не инкорпорируют, являются гены антител.

Благодаря специальному механизму – так называемой V(D)j-рекомбинации в линии В-лимфоци-

тов может происходить (и реально происходит) практически бесконечное по своему разнообразию образование новых генов, кодирующих антитела к различным антигенам. Этим генов нет в зародышевой линии, они возникают в соме *de novo*. А при необходимости включается еще один механизм – клональной селекции и клетки, в которых имеется такой новый ген, быстро мультиплицируют. Это хороший показатель того, что в организме небольшая частота возникновения мутаций не может служить возражением против их функциональной нагрузки. Гены антител – яркий пример образования в соме (и не вообще, а строго там, где надо) новых, нужных генов в любом количестве, которых нет (и быть не может) в геноме зародышевой линии. Но антитела – далеко не только элемент иммунной защиты. Открытие абзимов – каталитических антител – показывает, что их функции могут быть куда шире. При этом такие каталитические антитела могут быть как угодно сложными. Например, ДНК-гидролизующие антитела к нативной ДНК (они обнаружены в сыворотке крови больных красной системной волчанкой) являются металлозависимыми (т. е. комплексно функционирующими) эндонуклеазами [28]. Поскольку же V(D)j-рекомбинация, как уже признано, распространяется на со-

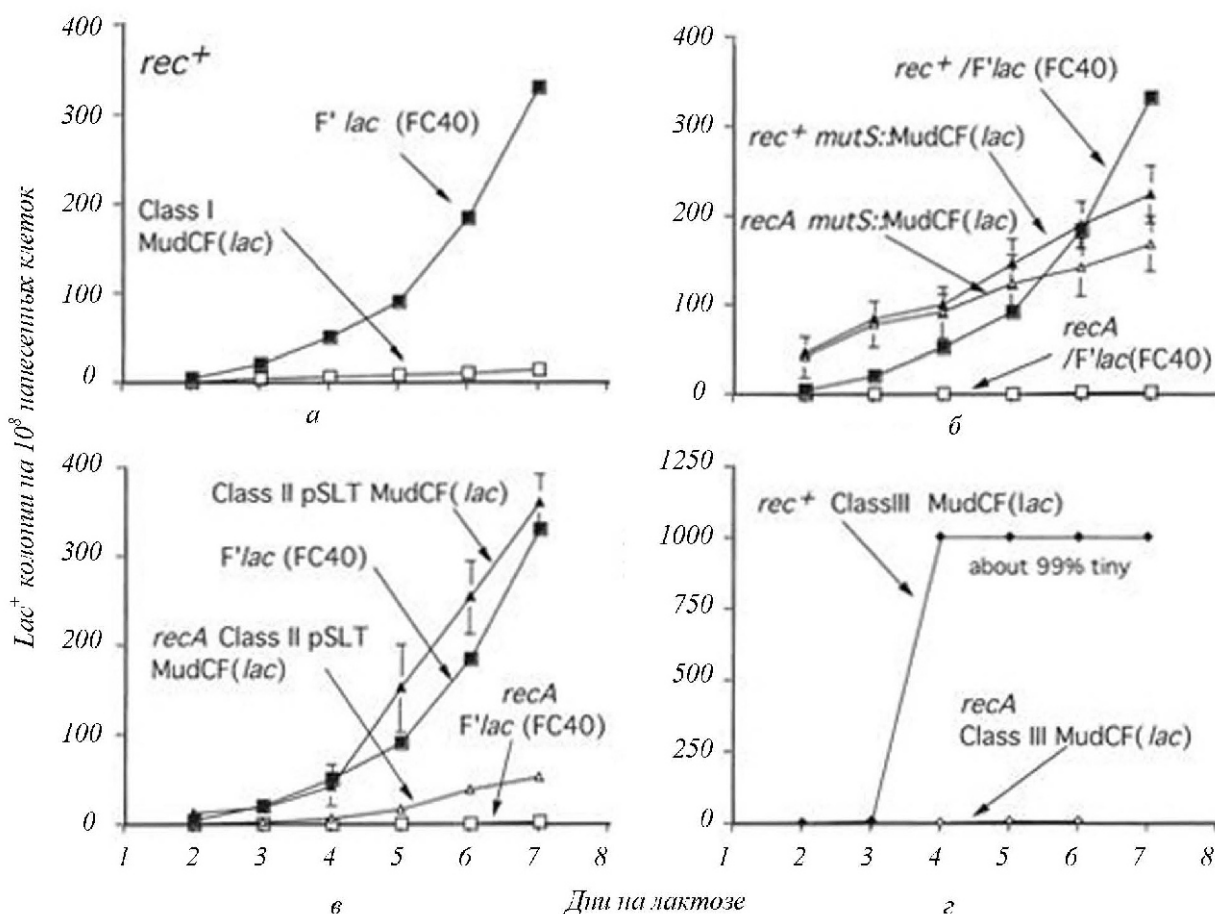


Рис. 10. «Реверсия *lac* оперона при инсерциях MudCF в нескольких различных положениях: а – типичная инсерция MudCF класса I (заштрихованные квадраты – TT18302 (*rec*<sup>+</sup>/*F*'*lac*); пустые квадраты – TT20853 (*rec*<sup>+</sup>, *oadB10*::MudCF)); б – А *mutS177*::MudCF инсерция (заштрихованные квадраты – TT18302 (*rec*<sup>+</sup>/*F*'*lac*); пустые квадраты – TT18306 (*rec*<sup>+</sup>/*F*'*lac*); заштрихованные треугольники – TT20864 (*rec*<sup>+</sup>, *mutS*::MudCF); пустые треугольники, TT23007 (*rec*<sup>-</sup>, *mutS*::MudCF)); в – типичная инсерция класса II (заштрихованные квадраты – TT18302 (*rec*<sup>+</sup>/*F*'*lac*); пустые квадраты – TT18306 (*rec*<sup>-</sup>/*F*'*lac*); заштрихованные треугольники TT20009 (*rec*<sup>+</sup>/*pSLT* MudCF); пустые треугольники – TT23011 (*rec*<sup>-</sup>, *pSLT* MudCF)); г – типичная инсерция класса III (пустые треугольники – TT22996 (*rec*<sup>+</sup>, *dbpA*::MudCF); заштрихованные треугольники – TT23014 (*rec*<sup>+</sup>, *dbpA*::MudCF))» [31]

бытия, происходящие не только в иммунной системе, и, кроме нее, имеются другие системы рекомбинации, то открытие образования новых генов в some вообще логично считать только делом времени.

Другим примером (правда, еще не описанным у млекопитающих) служит появление «генов строго по требованию», т. е. то, что еще со времен Ламарка дискутируется как проблема «наследования приобретенных признаков». В 1988–1991 гг. авторы работ [29, 30] описали первый достоверно-воспроизводимый пример появления признака (свойства) «по потребности» с дальнейшим его стабильным наследованием. В этих опытах было показано, что обратные мутации в мутантном гене -галактозида-

зы при содержании имеющих такие мутации клеток в среде, где единственным источником питания была лактоза, происходят намного чаще, чем в среднем геномнотатистическом. Эта частота также выше, чем в данном гене (т. е. в том же мутантном гене -галактозидазы с возвратом к полноценности), по сравнению с имеющей место при выращивании на богатых питательных субстратах. Детальное изучение этого явления показало, что его эффективность зависит от степени «комплектности» механизмов амплификации и рекомбинации (рис. 10).

Для максимальной эффективности подобных событий ген должен быть фланкирован повторами (в идеале – находиться на транспозуемом элемен-

Таблица 8

Три типа развитых регуляторных геномных реорганизаций и таксоны, в которых это имеет место [33]

Категория	Тип реорганизации	Таксон
1	Широкий круг реорганизаций	Animals: Nematodes, Copepods, Hagfish, Foraminifera, Ciliates
2	Целевая реорганизация	Иммунальная система позвоночных Антигены трипаносом Тип спаривания дрожжей
3	рДНК – особый случай	Animals, Entamoeba, Euglenids, Dictyostelids and mucromycetes Ciliates

те), а клетка – содержать белки, обеспечивающие как амплификацию ДНК, так и ее рекомбинацию [31]. При таком сочетании вероятность «нужной» мутации повышается тысячекратно. Не вообще общий уровень мутаций, а именно данной, необходимой клетки. Механизм подобной предпочтительности пока не очень понятен. В общем виде он сводится к активации амплификации и рекомбинации. Пока такое наиболее детально изучено у бактерий. Но все необходимые для этого элементы у эукариотов вообще и у человека особенно представлены несоизмеримо лучше, чаще и обильнее, чем у бактерий. Геном эукариотов состоит, в основном, из повторов и разных потенциально (а при определенных условиях реально) подвижных элементов. И принципиально важным для рассматриваемой концепции является то, что вариантов повторов в геноме очень много (по числу элементов повторов, их общему количеству, т. е. длине повторов) и все они (все!) на многие порядки отличаются от случайного распределения [32]. Именно такими они поддерживаются отбором, именно такими они должны быть для выполнения своей функции. А самая яркая, самая очевидная, самая распространенная функция повторов – обеспечение рекомбинационных событий и участие в них. Более того, у человека практически все его гены фланкированы повторами (в основном *Alu*).

И регуляторную роль реорганизации генома (хотя пока еще и весьма ограниченную) уже признают фактически для всего живого мира (табл. 8).

Но очень показательно при этом, что, отмечая такую роль, не замечают совершенно очевидного – все это осуществляется на уровне сомы, а не в зародышевом пути.

Уникальным механизмом (пока еще практически совершенно не изученным), который может выполнять одновременно и регуляторные функции, и создавать качественно новую информацию, являются мутации со сдвигом рамки считывания (+1, +2, т. е. вставки одного или двух дополнительных нуклеотидов, или -1, -2, т. е. убирающие один или два нуклеотида). На уровне РНК образование новой информации хорошо известно и уже неплохо изучено. Это обусловлено тем, что по первичной последовательности синтезированная РНК на этапе, уже пригодном для выполнения ее функции (по крайней мере у эукариотов), неадекватна своей матрице – гену, с которого шла транскрипция. Кроме хорошо известного сплайсинга, при котором информация, считанная с гена, «собирается» по фрагментам и при разных вариантах альтернативности обеспечивает синтез фактически разных белков, существуют еще сдвиг рамки считывания (за счет проскальзывания РНК-полимеразы) и редактирование. Но это все признается для РНК. А для ДНК здесь пока полное неприятие. На уровне генома начинают признавать (и то – очень осторожно) только регуляторную роль мутаций со сдвигом рамки считывания. Так, у микоплазмы обнаружен антиген адгезии, который переключается с частотой  $10^{-3}$ – $10^{-4}$  по фазовариабельному принципу (т. е. в обе стороны: экспрессируется не экспрессируется). Реализуется такое переключение за счет сдвига рамки считывания. При этом может образовываться стоп-кодон или возникать новая рамка считывания, т. е. фактически считывается РНК, которая должна транслироваться в новый белок [34, 35].

Регулируется не только преодоление мутации со сдвигом рамок считывания, но и образование таких мутаций. Так, в геноме эубактерий описана особая восьмичленная последовательность (CGCGCGCG), являющаяся горячей точкой мутации – 2 сдвига рамки считывания. А обеспечивает такой 2-сдвиг (перескакиванием через восьмой гуанин горячей точки) специальный холоэнзим ДНК-полимеразы III, т. е. специально для этой цели

закодированный в геноме (и регулируемый) белок [36].

У эукариотов такая система регуляции (т. е. со сдвигом рамки считывания и его преодоление) приобретает значительно более сложный характер. У дрожжей описана сложная система регуляции метаболических процессов с участием генов группы *SVF* за счет коррекции мутации со сдвигом рамки считывания. Ген *SVF13* кодирует транскрипционный фактор *Mbx1p*. Но в этом гене обнаруживается мутация +1 рамки считывания. Одновременно происходит синтез супрессора, обеспечивающего проскользывание +1 основания. В результате уровень транскрипции, обусловленный *Mbx1p* фактором, зависит от уровня синтеза супрессора мутации со сдвигом рамки считывания [37]. Сам же процесс регуляции может быть сложным и комплексным. Так, у дрожжей одним из ключевых регуляторов такого процесса являются MMR белки. При любой форме выключения их активности (функциональной или мутационной) идет рост мутаций со сдвигом рамки считывания. Он происходит на восьмичленных горячих точках. У этих организмов 25 % всех генов содержат восьмичленные поли-А или поли-Т тракты. И такие тракты в геноме высокостабильны (т. е. не выщепляются). Но имеются и высоколабильные поли-G или поли-C тракты, на которых мутации происходят с особо высокой активностью. Интенсивность этих процессов продемонстрирована на реверсе *lys<sup>-</sup>* в *lys<sup>+</sup>*. При наличии в *lys<sup>-</sup>* гене таких трактов и содержании в геноме инактивирующей *Rsh2* мутации частота восстановления *lys<sup>+</sup>* возрастает в сто тысяч раз [38].

Регуляторная роль мутаций со сдвигом рамки считывания в отличие от точечных мутаций с заменой оснований может быть достаточно логично объяснена тем, что сдвиг возникает предпочтительно (или даже исключительно) на неких горячих точках, т. е. определенных последовательностях (а не вообще вероятностно где угодно), вследствие чего может быть осуществлен в строго заданной для такой функции точке гена. А преодоление сдвига рамки обусловлено специальными белками, также закодированными в геноме. Поэтому и сами сдвиги рамок, и их преодоление, и вероятность такового – процессы регулируемые. И в таких процессах сдвиг

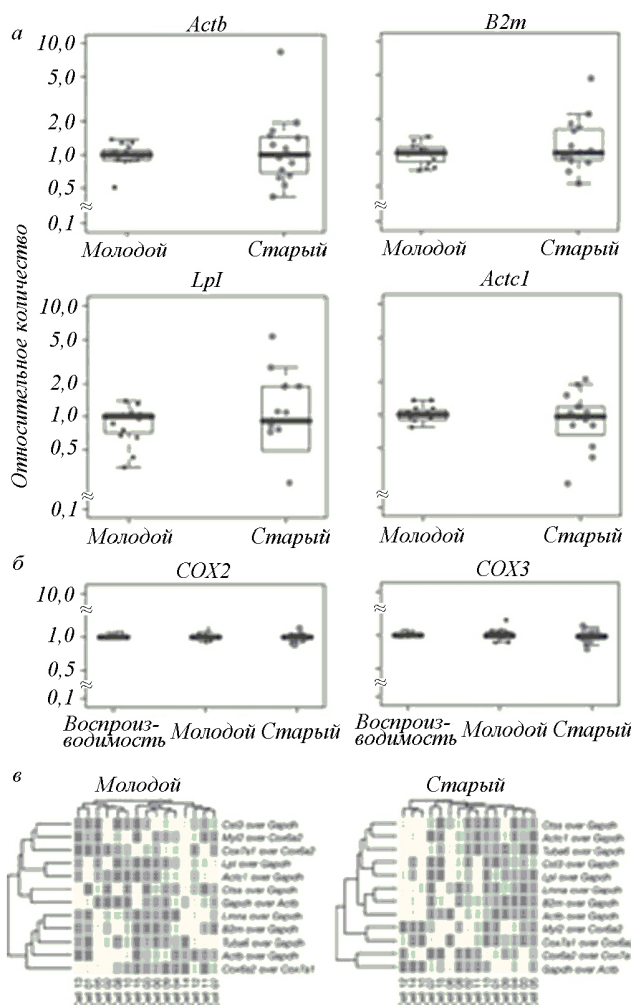


Рис. 11. «Повышенная изменчивость от клетки к клетке экспрессии генов среди кардиомиоцитов из сердца старой мыши по сравнению с молодой: а – примеры, показывающие статистически достоверные различия от клетки к клетке в экспрессии четырех генов (*Actb*, *B2m*, *Lpl* and *Actc1*; стандартизованы по *Gapdh*); б – экспрессия митохондриальных генов цитохром-с-оксидазы (стандартизованы по *COX1*) в тех же клетках не показали статистически значимого увеличения при случайной выборке (из одного эталона анализировали 10 повторов для старых и молодых клеток для определения ошибки РТ-ПЦР); в – репрезентативные карты одной молодой и одной старой мыши выявили значительные различия образцов (оцененные для каждого гена) клеток, что свидетельствует о случайности наблюдаемых различий от клетки к клетке» [39]

рамки является не более чем одним из элементов регуляции.

Возможным возражением при рассмотрении мутаций в клетках сомы как элементов регуляции является относительная редкость подобных событий. Ну  $10^{-5}$ , пусть даже  $10^{-3}$  – так ведь это в одной





Рис. 12. «Иллюстрация различных фенотипов окраса свиньи, связанных с аллелем  $E^P$  локуса Extension/MC1R: *a* – поколение  $F_2$  – гибрид дикого кабана и свиньи большой белой породы (животные слева направо: 1 – ( $E^P/E^P$ ), имеет красный окрас с черными пятнами, близкое по фенотипу, характерному для свиней Lingirod (не показано); 2 – белое за счет присутствия доминантной белой аллели; 3 – гетерозиготное ( $E^+/E^P$ ), имеет окрас дикого типа, но с черным пятном на правой нижней стороне, что свидетельствует о соматической реверси; 4 – ( $E^P/E^P$ ), белое с черными пятнами, окрас, близкий к фенотипу, наблюдаемому у свиней Pietrain (не показано)); *б* – Tamworth; *в* – Cloucester Old Spot; *г* – Berkshire (фото копировано А. Christian и М. Rothschild, Iowa State University)»[40]

клетке на сто тысяч или на тысячу. А регуляция белками всех мишеней – стопроцентная. И чисто арифметически это, конечно же, так. Только ведь нельзя всю регуляцию сводить к арифметике. Белковая регуляция, которая и очень разнообразная, и количественно разная для различных клеток (в том числе рядом расположенных) неодинаковая (рис. 11). Соседние клетки функционально не идентичны! Таким образом, по своей регуляции клетки даже одной ткани гетерогенны. Но даже если исходить только из частоты мутаций, то  $10^{-5}$ – $10^{-3}$  для сомы – величина гигантская. Каждый человек «состоит» из  $5 \cdot 10^{13}$  клеток. А как показывают строго количественные данные, мутантная клетка при любой вероятности ее появления может дать клон вообще любого размера, примером чему является клональная селекция лимфоцитов, несущих

требуемое организму антитело. И так – для всех тканей и органов. Только на это обращают внимание лишь тогда, когда «не видеть» уже просто невозможно. Ну, например, в some разные виды мутаций по разным генам приводят у свиней к появлению пятен (рис. 12). Каждое пятно – это мутация в одном гене одной клетки. А далее – мультипликация до размеров пятна. В результате образуется то, что невозможно не увидеть, – пятна разного цвета. Их и изучили детально. Только ведь мутации появлением пятен не ограничены. По всем тем генам, где это нужно организму, соответствующие мутации будут происходить тоже. А вот этого уже можно и не видеть. Его и не видят.

Наконец о метилировании. Пожалуй, наиболее показательны в этом плане работы, выполненные на монозиготных близнецах. И фактически, и по

механизму происхождения монозиготные близнецы являются клонами. И, как у любых клонов, геномы у них полностью идентичны. Идентичны во всем, в том числе и по метилированию. Но когда разработали удивительно красивую методику, позволяющую идентифицировать метилирование генома у каждого близнеца индивидуально, т. е. различать особенности одного по отношению к другому, то результат оказался очень неожиданным. В раннем возрасте у близнецов условия жизни были «близнецовыми» и картина метилирования экспериментально показывала идентичность. Но далее условия их жизни разделились и метилирование одинаковых от рождения геномов стало различаться весьма значительно [41]. Такое может быть только в случае, если метилирование является регуляцией тонкой настройки всего генома. Настройки к реальному окружению реальной жизни. Классической регуляции – через сигнальные пути и белковые регуляторы – подвержена только часть (и весьма ограниченная) всего генома. А остальная, как считают, работает в конститутивном режиме. Так оно и есть, когда экспериментально определяют диапазон уровня экспрессии при разных воздействиях в реальном масштабе времени обычного эксперимента. Конститутивно работающие гены быстро свою экспрессию не меняют и менять не должны. Но при длительных изменениях условий существования не может не происходить общей тонкой перенастройки. Общей, взаимосогласованной! После нее конститутивные гены будут опять работать в узком диапазоне изменений уровня их экспрессии (организм слишком сложная система, чтобы все, везде и сразу менять по поводу каждого, как правило, быстротечного изменения какого-то внешнего фактора). А вот при новом стационарном уровне жизни перенастройка необходима.

«Мутационный кризис», т. е. понимание того, что представления о мутациях требуют пересмотра, вплотную подводит к проблеме переосмысления основных концепций биологии. За изучением отдельных процессов и событий мы перестали видеть жизнь как явление! А жизнь как явление уникальна. Она основана (именно основана) на абсолютно запредельных разрушительных процессах. Столь непередаваемо мощных и стремительных, что ника-

кое неживое их не выдержало бы. А они, эти разрушительные процессы, являются основой жизни, без которых жизнь не может существовать: дыхание (все виды превращения кислорода), перекиси и радикалы, высокоэнергетические промежуточные продукты ферментативных цепей, перенос энергии между макромолекулами и внутри их, ферментативные (т. е. высококаталитические) реакции, функционально направленные на разрушение, деградацию всего, в том числе и собственного материала клетки (протеазы, нуклеазы, липазы и т. д.), и так во всем. Жизнь, если ее рассматривать с позиции происходящих в ней событий – это непрерывный, самоуправляемый метаболически-информационный взрыв. Только такие процессы дают энергию, достаточную для жизни. Для всего строительного метаболизма и всех форм защиты от всего, что только есть на Земле (и достигающее Землю из космоса тоже). А для того чтобы все это постоянно (и обязательно) работающее взрывоподобно-разрушительное хозяйство за считанные секунды не разнесло бы клетку в мелкие молекулярные клочья, оно, это «все», организовано нужным образом в пространстве и времени со строжайшим соподчинением эффективнейшему управлению. По своей структурной и функциональной организации самая простая клетка – абсолютно недостижимая в обозримом будущем мечта для всех вместе взятых нанотехнологий. И мутации надо рассматривать в контексте всех этих процессов, а не как просто случайные события. Первым этапом на пути к таким новым представлениям о мутациях является оценка роли, вклада, значения и т. д. мутаций в разных континуумах жизни, в которых мутации по своей роли, вкладам, значению и т. п. являются сходными (некие «континуумы мутационной общности»). В контексте рассматриваемых выше материалов первыми (наиболее изученными, а для нас и наиболее актуальными) являются континуум мутационной общности зародышевой плазмы (зародышевый путь, линия) и континуум мутационной общности сомы позвоночных.

Зародышевый путь – это классика представлений о мутациях. Именно на мутациях в зародышевом пути (через реализацию в соме, но во всех ее клетках как производной зародышевой линии) бы-

ли созданы все существующие представления о законах наследования: менделевское наследование, рецессивы и доминанты, пенетрантность и экспрессивность и т. д. А далее уже по готовым, устоявшимся и общепринятым положениям (прекрасно оправдавшим себя на практике), изученным и проверенным только в генеративных линиях, по мере появления методических возможностей анализа сомы – все это в чистом виде было на нее, сом, и экстраполировано, перенесено, обобщено и т. д. Ситуация такого абсолютно неадекватного переноса усугублялась еще и тем, что хотя мутации возникали и закреплялись в зародышевой линии, реализовывались они в соме! Обобщение при этом выглядело настолько очевидным, что сомнениям просто не оставалось места. Мучительно тяжело пробивала себе путь реальность – мутация в зародышевом пути приводит к последующему обязательному воспроизведению, мультипликации во всех клетках, потомках такой исходно-первоначальной инициальной мутировавшей клетки зародышевого пути. Мутация зародышевой клетки, если она дала начало сом, гарантирует «свою» мутацию во всех клетках сом. Всех! И генотип зародышевой линии (!! ) реализуется в фенотип сомы (!!!). Этим все предопределено – мутация происходит в зародышевом пути, но далее, ежели она закрепляется, неукоснительно передается в «своей» зародышевой линии и реализуется в соме. В зародышевой линии передается, а в соме реализуется. Но при всем при этом функциональная задача зародышевой линии – максимальный (теоретически приближающийся к абсолютному) информационный консерватизм. По своим функциям в зародышевой плазме мутаций быть не должно категорически. Иначе она, зародышевая плазма, свои функции не выполняет и подлежит элиминации как вся линия. Происходит такое за счет несоответствия сом, возникшей из такой зародышевой линии, несущей ее в себе, внешним условиям. За счет несоответствия зародышевой линии (несовместимости) сом, в которой она содержится, т. е. условиям внутренним. Конкуренентоспособности «проявителя» ее функциональной пригодности – сом по отношению к другим зародышевым линиям в других сомах и т. д. Поэтому в зародышевой линии все направлено на избав-

ление от мутаций любой ценой – как «внутренней» (за счет систем защиты, репарации, максимального снижения биохимической активности с получением максимума необходимого от окружающих клеток сомы и т. д.), так и «внешней» (путем элиминации в «самой себе», генеративной сфере клеток – носителей мутаций). А для этого – каким-то пока совершенно непонятным способом мутации каскадно абсолютизируются в нарушения клеток зародышевой линии, несовместимые с дальнейшим существованием (выполнением функции) тех клеток зародышевой линии, которые мутации (инициальные, вызывающие цепную реакцию усиления) имеют. Только этим можно объяснить невероятную при попытке любого иного объяснения реальность. Заключительная стадия каждого единичного функционального цикла зародышевой плазмы результирует путь от зрелых половых клеток через весь последующий эмбриогенез опять до зрелых половых клеток. И каждый раз в конце такого пути как абсолютное число, так и процент зрелых половых клеток с несовместимыми с жизнеспособностью и/или выполнением функции крупными хромосомными нарушениями за пределами непомерно велики. Так, для ооцитов человека, по данным разных лабораторий, в разных популяциях среди внешне здоровых женщин хромосомные аномалии колебались от 4,5 до 47,7 % (табл. 2), а выведенное по кариотипам 1120 ооцитов среднее составляло 35 % [42]. Для сперматозоидов эти величины были в самых благополучных выборках от единиц до десятков процентов [43–45]. В неблагоприятных же популяциях эти величины стремительно растут, приближаясь к 100 %. И такая ситуация – массовая элиминация чего-то, что для зародышевой линии является критерием по ее, зародышевой линии, меркам неприемлемым, наблюдается непрерывно на всех этапах зародышевого пути. В женском зародышевом пути у семимесячного плода в результате мультипликации зародышевых половых клеток их количество увеличивается до  $(6-7)10^6$ . А затем начинается элиминация и до стадии овуляции остается не более 400, т. е. элиминирует 99,994 % [46, 47]. С учетом постнатальных процессов в мужской зародышевой линии элиминация еще выше. Вот и получается, что если оценивать число мутаций по общепринятым

методам, то у клеток полового пути их обнаруживается больше, чем в соме, а элиминация их такая, что будь она такой же в соме, от нее (сомы) не осталось бы даже рожек да ножек (несколько тысячных процента хватило бы в лучшем случае на отшелушившуюся чешуйку кожи). Но именно благодаря такой бескомпромиссности жизнь на Земле не прерывается уже 4 млрд лет, а вид (в его весьма стабильном статусе) существует, в среднем, несколько миллионов лет.

Совсем иные задачи (и все, включая мутации, ему, этому «иному», подчинено) у сомы. В отличие от зародышевой плазмы, линия которой потенциально бесконечна, линия сомы – это всегда тупик в виде организма, особи, индивида, т. е. потенциально ограниченное видовым сроком жизни терминальное «нечто», функциональной задачей которого является только (только!) хранение и перенос зародышевой линии. Так определено «природой». И кто бы, сколько бы и как бы с этим не соглашался, для жизни как явления это не имеет никакого значения. Ну не соглашается кто-то, ну и что? Жить он стал от этого дольше? Нет, не стал. Не выполнил свою функцию, определенную ему жизнью как явлением? Так элиминирует его, конкретно его и только его линия зародышевой плазмы (что также жизнью предусмотрено). Вместе с ним (и в нем). Только сейчас начинают работать над тем, чтобы «несогласия» претворить во что-то осязаемое. И один из элементов такого претворения – понимание особенностей, различий, механизмов всего, что происходит в соме и зародышевом пути. Мутации – один из элементов такого понимания.

В соме в соответствии с ее, сомы, задачами мутации и по своему происхождению, и по своей реализации, и по своим функциям радикально, концептуально, принципиально и т. д. отличаются от того, что есть и присуще зародышевому пути. В соме – это различные варианты регуляции (всего!), включая информационное разнообразие. Рекомбинация и сдвиг рамки считывания – это гениальное решение жизни как явления. По своим потенциальным возможностям – это почти бесконечное увеличение объема информации сомы при неизменном объеме информации зародышевой плазмы. Пока такое в литературе вообще не рассматривается. А ведь уже

обратили внимание на то, что у простенькой нематоды геном по количеству генов больше, чем у насекомого (дрозофилы). А у человека он всего в каких-то 2–3 раза крупнее, чем у мухи. Как такое может быть? Один из вариантов – появление в соме новых генов. Для зародышевой плазмы – чем генов меньше, тем лучше (легче сохранять их стабильность). Гены в ней почти все, кроме генов домашнего хозяйства, молчат. Для сомы же надо реагировать на все внешнее и внутреннее. В геноме закодированы возможности увеличения объема информации. Закодирована не вообще вся информация, а возможности ее увеличения, создания новой.

Кроме потенциальных возможностей рекомбинаций и мутаций со сдвигом рамки считывания, гены могут результировать через обратную транскрипцию (функция РНК-зависимой ДНК-полимеразы) все альтернативные варианты генной экспрессии (в том числе альтернативный сплайсинг, транскрипционный сдвиг рамки и редактирование). Результировать в отдельных (и различных) клетках разных тканей, разных органов. И после выполнения требуемых функций клетки с такими новыми генами элиминируют. Массово, так же, как это происходит в эмбриогенезе. В соме элиминация клеток – процесс массовый и постоянный. Возможностей же для реверссинтеза в соме более чем достаточного. Только одни *L1*-элементы, кодирующие белок с последовательностью, консенсусноподобной известным обратным транскриптазам, присутствуют в избытке у всех млекопитающих [48, 49], у человека их количество близко к числу его структурных генов [50]. В принципе (при наличии необходимых последовательностей) такому же (т. е. переносить не только интроны) могут способствовать хоминг-эндонуклеазы [51]. А косвенным свидетельством того, что вновь образуемые гены действительно появляются, служит блокирование эмбрионального развития введением антител, инактивирующих ревертазу [52]. Тонкая же настройка всего генома его метилированием «под необходимое» обеспечивает то, что вообще «на все случаи жизни» в готовом виде в геноме не может быть закодировано ни при каких допущениях. Для зародышевого пути ничего подобного либо вообще быть не может (образование новых генов за счет рекомбинации,



ресинтеза или сдвига рамки считывания, диминуция, регуляторные мутации), либо оно несет совершенно иную функциональную нагрузку (магнификация, очистительная цепная мутационная реакция, переключение метилированием программ развития). Согласно же классическим представлениям, мутации определяют по их закреплению в зародышевом пути (называя это обобщенно-универсально «генотипом») через реализацию в соме (тот самый второй обобщенно-универсальный термин «фенотип»). А далее – уже все по «общепринятому». Это либо наследственные болезни (если у человека), либо «эволюционное значение». А то, что хотя и определяют как изменения генома соматических клеток (которые, однако не передаются через половую репродукцию), называют эпигенетикой. Что угодно – только бы не уйти от канонов.

Надо менять мутационную парадигму. Заново, с учетом уровня всего объема данных и знаний рассмотреть, что такое мутация. Де Фриз был великим естествоиспытателем. Но с момента введения им понятия «мутации» прошло более 100 лет. За последние 100 лет наукой вообще и биологией в том числе получено экспериментальных данных, создано новых методов и технологий, разработано концепций и теорий и т. д., и т. п. во много раз больше, чем за всю предыдущую историю человечества.

И сегодня уже можно говорить о том, что мутации, хотя и являются следствием естественных процессов (как, впрочем, и все остальное в живом), но приспособлены жизнью для выполнения нужных ей задач и несут функциональные нагрузки. Для разных групп живого такие задачи будут разные. И рассматривать их надо не «вообще», а предметно. И не как «стохастические события». В живом все случайное высокоорганизовано.

У позвоночных (как одного из наиболее хорошо изученных мутационных континуумов) можно выделить три линии, три континуума мутационной общности: 1) мутации и мутагенез в зародышевой плазме; 2) мутации и мутагенез в соме; 3) мутации и мутагенез в искусственных, неприродных системах (культурах клеток, клеточных линиях, клеточных популяциях *in vitro* и т. д.).

Для каждой из них должны быть созданы свои представления, теории, методы исследования, тех-

нологии использования. Уж очень странно выглядит современная «классика». Например, на культуру иммортализованной линии клеток капают разными веществами и по возникающим мутациям определяют «защитный эффект» или «мутационный спектр» разных препаратов для человека. В культуре клеток поведение и реакция клеток одни, в соме (куда будут вводить «перспективный препарат») функция мутаций другая (и их «подавление» в тканях и органах может привести куда угодно), а в зародышевой линии все вообще иначе (если будут помехи цепным мутационным очистительным процессам, то это может дать обратный эффект – каких-то классов мутаций станет больше, но их, поскольку они не приводят к летальным или ярким фенотипическим проявлениям, экспериментатор сразу и не увидит). И так со всем.

Попробуем теперь сделать некое абсолютно неканоническое резюме. Мутации – это ковалентные изменения генома, дополняющие традиционную регуляцию (основанную на белково-нуклеиновых взаимодействиях) – высоколабильную, регуляцией более консервативной. В первом приближении можно выделить пять уровней регуляции ковалентными изменениями генома («мутациями»): 1) повреждение оснований; 2) метилирование оснований; 3) точечные мутации (всех типов); 4) реорганизация генома; 5) создание новых генов. Общепринятые представления о мутациях основаны на событиях в зародышевом пути через реализацию в соме. Но в соме и зародышевом пути регуляция и реализация событий разные. И понятие для них, что такое «мутация», одинаковым быть не может. А все культуры клеток вне организма живут вообще своей особой «внеорганизменной» жизнью, ни на что природное не похожей (и что это такое «на самом деле» даже не анализировалось).

В зародышевой плазме в ряду поколений мутации – это предмет генетики (науки о наследственности и наследовании). А в соме мутации – это предмет регуляции. И попытка свести все в очередной раз к наследственности и наследованию, т. е. к генетике, добавляя приставки «эпи-», не более чем дань традиции. Конечно же, есть и эпигенетика – наследственность каким-то образом совмещается, соприкасается, взаимодействует и т. д. с регуляци-

ей. Но сводить регуляцию (даже если она пока непривычна для нас и определяется ковалентными изменениями генома в соме) к генетике (в ее современном, пока еще традиционном понимании) невозможно. Уже невозможно.

Для зародышевой плазмы (непрерывной, «сквозьиндивидуумной» линии жизни) мутация, на что-то влияющая, – это не только изменение в гене. Это еще и потенциальная опасность слабых, «почти» не меняющих функции изменений, на уровне мононуклеотидного полиморфизма мутаций. Некий сигнал того, что репарационная система в данной клетке зародышевой линии с такой мутацией не справилась, пропустила ее (а в других – справилась, в них мутаций нет, хотя уровень повреждаемости везде статистически одинаковый). А раз не справилась – значит, потенциально опасна, может не справиться и с другими мутациями. И такая клетка из зародышевой линии (по функциям зародышевой линии) должна элиминировать. Включается каскад изменений, приводящий на выходе, в очередном делении к крупным, несовместимым с дальнейшим существованием хромосомным нарушениям. Репарация, ее регуляция и реализация очень масштабны. Даже у бактерий в репарацию вовлечена треть всех генов, а для деления, кариокинеза, цитогенеза – почти все. Так что включать для проверок «на соответствие» есть что. И получается, что в половых клетках человека в норме (!) от единиц процента до десятков процентов гамет анеуплоидны. Это – санкционированные очистительные мутации, вызвавшие каскад очищения. А те, которые по какой-то причине его не вызвали и прошли в репродукцию, – мутации несанкционированные. Они – источник того самого полиморфизма, включая наследственные болезни.

В соме мутации выполняют регуляторные функции, направленные на обеспечение существования сомы. Это – «санкционированные мутации». А выходя из-под контроля, мутации в соме вызывают патологию – онкогенез. Это – «несанкционированные мутации». В зародышевом пути мутации выполняют «очистительные» функции, направленные на обеспечение неизменности зародышевой плазмы в непрерывной линии жизни. А выходя из-под контроля, мутации в зародышевой плазме

вызывают ее патологическую неполноценность, несовместимую с непрерывностью существования жизни – наследственные болезни.

Мутации в соме и зародышевом пути разные по происхождению, составу, задачам, значению, функциям, последствиям. Общим для них является только то, что мутации – столь же необходимый атрибут жизни, как и дыхание, энергетический метаболизм, биосинтез. Поэтому с мутациями «вообще» как таковыми – бороться концептуально безнадежно-проигрышно. Как и всем в живом, мутациями нужно управлять. Не бороться, а управлять. Мы никак не можем смириться с тем, что являемся терминальным состоянием в виде самоуправляемого сообществом клеточных популяций, несущих, охраняющих, питающих и т. д. непрерывную линию зародышевой плазмы. А придется, если, конечно, хотим понять, как выходить из терминала.

*V. A. Kordium*

Mutations: what are they?

Summary

*The conceptions of mutations are analyzed. The literature data that are not consistent with the existent ideas about mutations are presented. The statement about physiological ambiguity of mutations and their biological role is formulated, according to which the mutations in soma perform a regulatory role, therefore, they are a normal component of biological processes, controlled by an organism. Once uncontrolled, mutations in soma lead to oncogenesis. As for a germ route, mutations provide the elimination of their carriers through cascade integral processes, thus realizing the function of purification. Being out of control and not resulting in elimination of their carriers, the mutations are realized into the whole range of hereditary pathologies – from a latency form («mutational load») to a bright manifestation.*

*Keywords: mutations, regulation, soma, germ route.*

*В. А. Кордюм*

Мутації – це що?

Резюме

*Проналізовано уявлення про мутації. Наведено літературні дані, які не відповідають існуючим концепціям мутації. Сформульовано положення стосовно функціональної неоднозначності мутацій та їхнього біологічного значення. Згідно з цим положенням, мутації у сомі виконують регуляторні функції, являючи собою, таким чином, нормальну, контрольовану організмом, складову біологічних процесів. А при виході з-під контролю мутації в сомі призводять до онкогенезу. У зародковому ж шляху мутації через каскадні інтегральні процеси забезпечують елімінацію їхніх носіїв, виконуючи очищувальну функцію. А при виході з-під контролю, не спричинюючи елімінації їхніх носіїв, реалізуються у спадкову патологію в*

уському її діапазоні – від прихованої форми («мутаційний вантаж») до ярскравої маніфестації.

Ключові слова: мутації, регуляція, сома, зародковий шлях.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гершензон С. М. Основы современной генетики.–Киев: Наук. думка, 1979.– 508 с.
2. Mohrenweiser H. W., Jones I. M. Review at the molecular characteristics at gene mutations at the germline and somatic cells at the human // *Mutat. Res.*–1990.–P. 87–108.
3. Drake J. W. Mutation: major evolutionary trends // 18<sup>th</sup> Symp. Nucl. Acids Chem. (Sendai, Oct. 29–31, 1991).–Oxford etc., 1991.–P. 159–160.
4. Ono T., Lehara Y., Saito Y., Ikehata H. Mutation theory of aging, assessed in transgenic mice and knock-out mice // *Mech. Ageing and Develop.*–2002.–**123**.–P. 1543–1552.
5. Слозина Н. М., Геронова Е. Г. Хромосомные аномалии гамет человека и внутриутробный отбор. Исследования женских гамет // *Цитология и генетика.*–1992.–**26**, № 6.–С. 58–63.
6. Morley A. A., Turner D. R. The contribution at exogenous and endogenous mutagens to *in vivo* mutations // *Mutat. Res.*–1998.–**428**.–P. 11–15.
7. Shastry B. S. SNP alleles in human disease and evolution // *J. Hum. Genet.*–2002.–**47**.–P. 561–566.
8. The International SNP Map Working Group. A map at human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms // *Nature.*–2001.–**40**.–P. 928–933.
9. Rosen E. M., Fan S., Pestell R. G., Goldberg I. D. BRCA1 gene in breast cancer // *J. Cell. Physiol.*–2003.–**196**.–P. 19–41.
10. Hasin Y., Avidan N., Bercovich D., Korczyn A., Silman I., Beckmann J. S., Sussman J. J. A paradigm for single nucleotide polymorphism analysis: The case of the acetylcholinesterase gene // *Hum. Mutat.*–2004.–**24**.–P. 408–416.
11. Pagani F., Raponi M., Baralle F. B. Synonymous mutations in CFTR exon 12 affect splicing and are not natural in evolution // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*–2005.–**102**.–P. 6368–6372.
12. Хатынова М. А., Буфф Е. М., Могила В. А., Набировкин С. Д., Симонова О. Б., Герасимова Т. И. Индукция мутагенеза в результате некоторых генетических скрещиваний // *Генетика.*–1992.–**28**, № 3.–С. 56–67.
13. Eriso S., Choi S.-W., Girelli D., Mason I., Dolnikowski G. G., Bagley P. J., Olivieri O., Jacques P. F., Rosenberg I. H., Carrocher R., Selhub J. A common mutation in the 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*– 2002.–**99**.–P. 5606–5611.
14. Садлер Т. В. Медична ембріологія за Лангманом.–Львів: Наутилус, 2002.–550 с.
15. Мишин В. П., Бознарев В. В., Чурюканов В. В. Кислород // Большая мед. Энциклопедия.–М.: Сов. Энциклопедия, 1979.–Т. 10.– С. 325–326.
16. Fraga C. G., Shigenaga M. K., Park J.-W., Degan P., Ames B. N. Oxidative damage to DNA during aging: 8-Hydroxy-2'-deoxy- guanosine in rat organ DNA and urine // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1990.–**87**.–P. 4533–4537.
17. Кордюм В. А.. Наша «шагреновая кожа» – это наша проблема. Нам ее и решать.–Киев: Логос, 2006.–245 с.
18. Hamilton M. S., Remmen H. V., Drake J. A., Kang H., Guo Z.M., Kewitt K., WalFrter C. A., Richardson A. Does oxidative damage to DNA increase with age? // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* –2001.–**98**.–P. 10469–10474.
19. Richter Ch., Park J.-W., Ames B. N. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*–1988.–**85**.–P. 6465–6467.
20. Loeb L. A., Cheng K. C. Errors in DNA synthesis: A source of spontaneous mutations // *Mutat. Res. Rev. Genet. Toxicol.*–1990.– P. 297–304.
21. Frosina G. Overexpression of enzymes that repair endogenous damage to DNA // *Eur. J. Biochem.*–2000.–**267**.–P. 2135–2149.
22. Lu T., Pan Y., Kao S.-Y., Li C., Kohane I., Chan J., Yankner B. A. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain // *Nature.*–2004.–**429**.–P. 883–891.
23. Dolle M. E., Snyder W. K., Dunson D. B., Vijg J. Mutational fingerprints of aging // *Nucl. Acids Res.*–2002.–**30**–P. 545–549.
24. Vijg J., Dolle M. E. T. Large genome rearrangements as a primary cause at aging // *Mech. Caging and Develop.*–2002.–**213**.–P. 907–915.
25. Khil P. P., Camerino-Otero R. D. Over 1000 genes are involved in the DNA damage response of *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.*–**44**.– P. 89–105.
26. Jahn C. L., Klobutcher L. A. Genome remodeling in ciliated protozoa.–Palo Alto, 2002.–520 p.
27. Yan B., Wang H., Peng Y., Hu Y., Zhang X., Chen Q., Bedtard J. S., Dewhirst M. W., Li C.-Y. A unique role at the DNA fragmentation factor in maintaining genomic stability // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*–2006.–**103**.– P. 1504–1509.
28. Неэзорова Т. А., Винтер В. Г. Исследование ДНК-гидролизующей активности антител к ДНК // Уч. зап. Казан. гос. ун-та.–2005.–Т. 147, ч. 2.–С. 136–148.
29. Cairns J., Overbough J., Miller S. The origin of mutants // *Nature.*–1988.–**335**.–P. 142–145.
30. Cairns J., Foster P. L. Adaptive reversion of a frameshift mutation in *Escherichia coli* // *Genetics.*–1991.–**128**.–P. 695–701.
31. Slechta E. S., Harold J., Andersson D. I., Roth J. R. The effect at genomic position on reversion at a lac frameshift mutation (lac LZ33) during non-lethal selection (adaptive mutation) // *Mol. Microbiol.*–2002.–**44**.–P. 1017–1032.
32. Metzgar D., Bytot J., Wills C. Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA // *Genome Res.*–2000.–**10**.–P. 72–80.
33. Zufall R. A., Robinson T., Katz L. A. Evolution of developmentally regulated genome rearrangements in eukaryotes // *J. Exp. Zool. B.*–2005.–**304**.–P. 448–455.
34. Zhang Q., Wise K. S. Localized reversible frameshift mutation in an adhesion gene confers a phase-variable adherence phenotype in mycoplasma // *Mol. Microbiol.*–1997.–**25**.–P. 859–869.
35. Theiss P., Wise K. S. Localized frameshift mutation generates selective, high-frequency phase variation at a surface lipoprotein encoded by a mycoplasma ABC transporter operon // *J. Bacteriol.*–1997.–**179**.– P. 4013–4022.
36. Matsui K., Yamada M., Imai M., Yamamoto K., Nohmi T. Specificity of replicative and SOS-inducible DNA polymerases in frameshift mutagenesis: Mutability at *Salmonella typhimurium* strains overexpressing SOS-inducible DNA polymerases to 30 chemical mutagens // *DNA Repair.*–2006.–**5**.–P. 465–478.

37. Hendrick J. L., Wilson P. J., Edelman I. I., Sandbaken M.G., Ursic D., Culbertson M. R. Yeast frameshift suppressor mutations is the genes coding for transcription factor MbH1p and ribosomal protein S3: Evidence for autoregulation at S3 synthesis // *Genetics*.—2001.—**157**.— P. 1141–1158.
38. Harfe B. D., Jinks-Robertson S. Sequence composition and context effects on the generation and repair at frameshift intermediates in mononucleotide runs in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*.—2000.—**156**.— P. 571–578.
39. Bahar R., Hartmann C. H., Rodriguez K.A., Denny A., Busuttill B.A., Dolle M. E. T., Calder R. M., Chisholm G. B., Pollack B. H., Klein C. A., Vijg J. Increased cell-to-cell variation in gene expression in ageing mouse heart // *Nature*.—2006.—**441**.—P. 1011–1014.
40. Kijas J., M. H., Moller M., Plastow G., Andersson L. A Frameshift mutation in MC1R and a high frequency at somatic reversions cause black spotting in pigs // *Genetics*.—2001.—**158**.—P. 779–785.
41. Froga M. F., Ballestar E., Paz M. F. Epigenetic differences arise during the lifetime at monozygotic twins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—2005.—**102**.— P. 10604–10609.
42. Zenzes M. T., Casper R. F. Cytogenetics of human oocytes, zygotes, and embryos after *in vitro* fertilization // *Hum. Genet*.—1992.—**88**.— P. 367–375.
43. Tempiado C., Benet J., Genesca A., Navarro J., Cabalin M. R., Miro R., Egozcue J. Human sperm chromosomes // *Yum. Re- prod*.—1988.—**3**.—P. 133–138.
44. Pellestor F., Jel B. Étude cytogénétique du sperme humain // *M/S: Med. Sci*.—1989.—**5**.—P. 244–251.
45. Benkhalifa M., Malet P. Menezo Y., Janny L., Boucher D. Cytogenetic analysis of human gametes to embryos: Abstr. 6 Int. Conf. Early Prenat. Diagn. Genet. Diseases from Gametes to Embryo // *Prenat. Diagn*.—1992.—**12**, Suppl.—P. 50.
46. Тенпермен Дж., Тенпермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы.—М.: Мир, 1989.—656 с.
47. Фільченков О. О., Стойка Р. С. Апонтоз і рак. Від теорії до практики.—Тернопіль: Укрмедкнига, 2005.—524 с.
48. Swergold G. D. Identification, characterization, and cell specificity of a human LINE-1 promoter // *Mol. and Cell. Biol*.—1990.—**10**.— P. 6718–6729.
49. Mathias S. L., Scott A. F., Kazazian (Jr.) H. H., Boeke I. J. D., Gabriel A. Reverse transcriptase encoded by a human transposable element // *Sci. Mag*.—1991.—**254**.— P. 1808–1810.
50. Woods-Samuels P., Wong C., Mathias S. L., Scott A. F., Kazazian H. H., Antonarakis S. E. Characterization of a nondeleterious L1 insertion in an intron of the human factor VIII gene and further evidence of open reading frames in functional L1 elements // *Genomics*.—1989.—**4**.—P. 290–296.
51. Haugen P., Bhattacharya D. The spread of LAGLIDADG homing endonuclease genes in rDNA // *Nucl. Acids Res*.—2004.—**32**.— P. 2049–2059.
52. Pittoggi C., Sciamanna I., Mattei E., Beraldi R., Lobascio A. M., Mai A., Quaglia M. G., Lorenzini R., Spadafora C. Role of endogenous reverse transcriptase in murine early embryo development // *Mol. Reprod. and Develop*.—2003.—**66**.— P. 225–236.

УДК 577.21+575.857  
Надійшла до редакції 18.04.07