

ПРОБЛЕМА РАЗМЕРА ГЕНОМОВ ЭУКАРИОТ

© 2007 г. Л. И. ПАТРУШЕВ*, И. Г. МИНКЕВИЧ**

**Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина
и Ю.А.Овчинникова РАН, Москва*

***Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К.Скрябина РАН, г. Пущино Московской обл.*

I. Введение. II. Эукариотический геном: структурный аспект.
III. Динамичный геном. IV. Размеры генома эукариот. V. На пути
к объяснению загадки C. VI. Альтруистичная ДНК. VII. Заклю-
чение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Термин «геном» был предложен Г. Винклером в 1920 г. для описания совокупности генов, заключенных в гаплоидном наборе хромосом одного биологического вида [1]. Уже в то время подчеркивалось, что понятие генома в отличие от генотипа является характеристикой вида в целом, а не отдельной особи. Интенсивное исследование геномов в течение последних пятидесяти лет заметно изменило представления об их строении и функционировании. С установлением полной первичной структуры генома человека, а также целого ряда животных, растений и микроорганизмов человечество вступило в «постгеномную эру». Сегодня термином «геном» обозначают совокуп-

Принятые сокращения: 5-mC – 5-метилцитозин; AP-сайты – апуриновые сайты; dNTP – дезоксирибонуклеозидтрифосфат; LINE – long interspersed elements; LTR – long terminal repeat; PARP – полимераза поли(ADP-рибозы); SINE – short interspersed elements; SNP – single nucleotide polymorphism; кДНК – комплементарная ДНК; АФК – активные формы кислорода; кодир. – кодирующий; некодир. – некодирующий; нм – нанометры; НП – нуклеотидные последовательности, нт – нуклеотид; п.н. – пары нуклеотидов; рДНК – рибосомная ДНК, РНП – рибонуклеопротеин; мкм – микрометры; м.п.н. – миллионы пар нуклеотидов; пг – пикограммы; п.н. – пары нуклеотидов; т.п.н. – тысячи пар нуклеотидов; УФ-свет – ультрафиолетовый свет.

Адрес для корреспонденции: patrush@mail.ibch.ru

ность ДНК гаплоидного набора хромосом, которые заключены в отдельной клетке зародышевой линии многоклеточного организма. При этом необходимо учитывать и генетический потенциал ДНК всех внехромосомных генетических элементов организма, которые также стабильно наследуются из поколения в поколение по материнской линии, контролируют функции ядерного генома и определяют многие фенотипические признаки [2]. Тесное переплетение функций генов, локализованных как в ядрах, так и в органеллах клеток, позволяет, на наш взгляд, рассматривать их геномы как единую систему, как составляющие полный геном живого организма.

Непостоянство первичной структуры генома явилось одним из интригующих открытий этого направления исследований. Оказалось, что геном не является статическим местом хранения и первых этапов реализации генетической информации, но его структура высоко динамична. У человека обнаружено громадное число аллельных вариантов геномных последовательностей нуклеотидов (НП) (10–15 млн. SNP), структурных полиморфизмов: делеций, вставок, инверсий, транслокаций, вариантов по числу копий геномных НП (copy number variations – CNV) а также возможность запрограммированных структурных перестроек генома в онтогенезе [3]. То же самое характерно и для других исследованных организмов. Недавно была сформулирована концепция пангенома для бактерий, в соответствии с которой геном некоторых видов бактерий представлен основным геномом, НП которого обнаруживаются у всех без исключения бактериальных штаммов данного вида, а также его внушительной необязательной частью с генами, характерными для конкретных изолятов бактерий [4, 5]. Предпринимаются попытки распространить понятие пангенома на мир растений [6], и может оказаться, что организация генов в виде пангенома является широко распространенным феноменом. Одним из первых в нашей стране на проблему непостоянства генома обратил внимание Р.Б. Хесин, который внес значительный вклад в разработку этой проблемы [7, 8].

Весьма наглядно филогенетическое непостоянство генома находит свое отражение в том, что суммарное содержание ДНК в гаплоидном наборе хромосом (в ядре гамет) разных эукариотических видов, обозначаемое латинским символом «С» (размер их генома), различается более, чем в 200 000 раз [9–12]. У позвоночных одними из самых больших геномов обладают хвостатые амфибии и двоякодышащие рыбы – по ~120 пг¹ ДНК. (Для сравнения – размер генома

* – 1 пг ДНК соответствует ~1000 м.п.н.

человека составляет 3,5 пг.) У наземных растений гигантские геномы обнаруживают представители лилейных (*Fritillaria assyriaca* – ~127 пг). Несоответствие между размером генома и фенотипической сложностью организма, который им обладает, получило название «парадокса С» (C-value paradox) [13]. При этом основная масса ДНК больших геномов эукариот представлена НП, не кодирующими белки и РНК. В частности, доля кодирующих (кодир.) частей генов в геноме человека составляют лишь ~3% [14].

Хотя суммарный размер генома эукариот не коррелирует с их фенотипической сложностью, эволюционный переход от про- к эукариотам и далее – от одноклеточных к многоклеточным организмам сопровождается увеличением общего количества генов в их геномах [15]. При этом большие различия в фенотипической сложности высших эукариот, имеющих приблизительно одинаковое (~10⁴) число (*N*) генов («парадокс N» – N-value paradox [16]), в настоящее время пытаются объяснить уникальной комбинаторикой объединения универсальных экзонов их генов (и доменов белков) в филогенезе и во время экспрессии генов [17]. Такого рода данные снимают парадоксальность с вышеупомянутого феномена и переводят его в разряд нерешенных проблем, а именно – проблемы функциональной значимости некодирующих (некодир.) НП. В соответствии с этим в современной англоязычной литературе происходит замена термина «парадокс С» на термин «загадка С» (C-value enigma) [18]. Причины, определяющие размер генома конкретных биологических видов, а также функции большинства некодир. НП эукариот в настоящее время не известны.

Целью данного обзора является рассмотрение загадки С в контексте современных данных о структуре и механизмах функционирования эукариотического генома и его постоянных взаимоотношений с внутриклеточной средой: нуклеоплазмой и цитоплазмой клеток. В заключение представлена оригинальная модель, которая открывает новый путь решения данной проблемы, имеющей общебиологическое значение.

II. ЭУКАРИОТИЧЕСКИЙ ГЕНОМ: СТРУКТУРНЫЙ АСПЕКТ

В исследованиях генома, как и любого другого макромолекулярного комплекса живого организма, можно выделить два аспекта: структурный и функциональный. Структурная организация генома на всех уровнях, которые будут кратко нами рассмотрены, обеспечивают выполне-

ние основных функций, связанных с хранением, защитой, воспроизведением и реализацией генетической информации, заключенной в геномных НП. Размер эукариотического генома – основной предмет обсуждения в нашем обзоре – определяется протяженностью его отдельных НП, из которых складываются гены и межгенные области генома. Исчерпывающую информацию о конкретных НП геномов, которая представляет застывший слепок функционирующего динамичного генома, можно извлечь из современных баз данных. Сравнение между собой НП целых геномов методами современной геномики позволяет обнаруживать следы их постоянного изменения и делать выводы о молекулярных механизмах, лежащих в основе таких процессов.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НУКЛЕОТИДОВ ГЕНОМА

Раннее изучение НП эукариотического генома проводилось на основе анализа особенностей кинетики реассоциации коротких фрагментов (до 500 п.н.) геномной ДНК после ее денатурации с последующим медленным отжигом при понижении температуры реакционной смеси [19]. Этот метод дал первые представления о большой сложности первичной структуры таких геномов. Полное секвенирование геномов нескольких эукариотических видов позволило в последнее время составить более определенное представление об особенностях их первичной структуры.

Часто повторяющиеся последовательности

Сателлиты. Сателлитные НП, содержание которых в геноме эукариот может достигать 5–50% от суммарного количества ДНК, представляют собой очень длинные (в несколько сотен т.п.н.) участки ДНК с тандемно («голова к хвосту») повторяющимися короткими блоками (5–200 п.н.) [20]. Свое название данные НП получили на основании того, что при анализе суммарной эукариотической ДНК центрифугированием в градиенте плотности CsCl они сопровождали основной пик оптической плотности в виде плеча (спутника, сателлита). Именно гомогенный нуклеотидный состав фракции сателлитных ДНК, определяемый наличием в ней многочисленных коротких повторов, изменял ее плавучую плотность, что легко обнаруживалось при центрифугировании. Данные НП как правило характерны для конститутивного (постоянно присутствующего) нетранскрибируемого гетерохроматина. Типичным представителем такой ДНК в геноме человека являются α -сателлиты. Эти НП общей длиной 10^5 – 10^6 п.н. составлены основной повторяющейся единицей

длиной в 171 п.н., локализованы преимущественно в центромерных участках каждой хромосомы и содержат сайты связывания белков, ассоциированных с центромерами.

β - и γ -Сателлитные НП человека общей длиной до 0,25–0,5 м.п.н., построены из GC-богатых повторов длиной в 68 п.н. и 220 п.н., соответственно. Они характерны для теломерных (концевых) и некоторых перицентромерных (расположенных вблизи центромер) участков хромосом. В геноме человека обнаружены и другие представители этих НП, в частности, семейство с основной повторяющейся единицей из 48 п.н., и семейство Sn5 [21].

Микросателлиты. Высокополиморфные микросателлитные ДНК, составленные тандемными повторами длиной 1–4 п.н., организованы в блоки до 200 п.н., которые рассеяны по геному. В отличие от сателлитной и минисателлитной ДНК, микросателлиты, как правило, транскрибируются. В геномах животных часто присутствуют гомополимерные микросателлиты типа $(A)_n/(T)_n$, которые могут представлять собой остатки ретротранспозонов. Напротив, гомополимеры типа $(G)_n/(C)_n$ у животных крайне редки. Динуклеотидные минисателлиты типа CA/GT или CT/GA встречаются в геноме животных наиболее часто, в среднем, через каждые 20–50 т.п.н. В их геномах высоко представлены и AT-богатые повторы, которые особенно характерны для центромерных участков хромосом. Три- и тетрануклеотидные микросателлиты у животных встречаются редко. Длина микросателлитов и их общее количество в геноме коррелирует с размером генома [22].

Минисателлиты. Минисателлитные ДНК построены из повторяющихся НП длиной в 5–50 п.н., формируют блоки промежуточных размеров (до 10^4 п.н.) и локализованы в разных участках хромосом. У человека известны два основных типа минисателлитных НП. К первому типу относят гипервариабельные минисателлиты с основной повторяющейся единицей 5'-GGGCAGGANG-3', где N – любой нуклеотид (нт). Такие НП локализованы в ~1000 участках генома, а длина их блоков высокополиморфна у разных индивидуумов. Данные НП рассматриваются в качестве предпочтительных участков гомологичной рекомбинации. Теломерные НП с повторяющейся единицей у человека 5'-TTAGGG-3' составляют второе семейство минисателлитов. (Длина блоков таких повторов – 10–15 т.п.н.).

Макросателлиты. Как и следует из названия, макросателлитные НП ДНК характеризуются большим размером повторяющейся единицы (> 1 т.п.н.). Они обнаружены, в частности, в W-хромосомах птиц, в геноме кошек и человека [23].

Умеренно повторяющиеся последовательности

Умеренно повторяющиеся НП генома эукариот представлены генными семействами и многочисленными мобильными генетическими элементами (транспозонами). Поскольку нативные транспозоны также содержат конкретные гены, обеспечивающие их выживаемость в геноме, разделение умеренно повторяющихся НП на две вышеупомянутые группы условно и подчеркивает тот факт, что функциональная значимость транспозонов для эукариотического генома в настоящее время не вполне понятна [24–27].

Мобильные генетические элементы представляют собой НП ДНК, способные изменять свое положение в геноме, то есть совершать акты транспозиции. Хотя официально признанная классификация транспозонов в настоящее время отсутствует, на основании молекулярных механизмов, используемых мобильными генетическими элементами для перемещения в геноме, их разделяют на два больших класса: 1) ретроэлементы и 2) ДНК-транспозоны.

ДНК-транспозоны типичны для генома бактерий и достаточно широко представлены в геномах эукариот. Их транспозиция осуществляется, как правило, по механизму вырезания и вставки (cut and paste) с участием транспозазы – хорошо изученного фермента класса рекомбиназ [28]. Реализация данного механизма приводит к дупликации (удвоению) короткой НП в сайте интеграции транспозона. При этом новое место интеграции мобильного элемента, как правило, находится недалеко от старого, и, в соответствии с этим, процесс перемещения ДНК-транспозонов получил название «локальных прыжков» (local hopping) [29].

Ретроэлементы, в отличие от ДНК-транспозонов, используют для своей мобилизации механизмы, в которых важную роль играет обратная транскрипция – синтез ДНК на матрице РНК обратной транскриптазой. На основании особенностей структуры и механизмов репликации ретроэлементы, в свою очередь, разделяют на две большие группы: 1) LTR*-содержащие ретроэлементы, включающие ретротранспозоны и эндогенные ретровирусы [30], 2) ретроэлементы, не содержащие LTR, составленные из длинных (LINE**) и коротких (SINE) диспергированных элементов (обзоры [31, 32]). У этих мобильных генетических элементов реализация акта транспозиции требует транскрипции их геномной НП, обратной транскрипции

* – LTR – long terminal repeats.

** – LINE – long interspersed elements, SINE – short interspersed elements.

образовавшейся мРНК и интеграции кДНК в новый генетический локус (механизм «копирования и вставки» – *copy and paste*).

Ретротранспозоны по своей структуре и механизмам репликации напоминают экзогенные ретровирусы. Особенностью их структуры является наличие на концах длинных концевых повторов (LTR), которые содержат НП, участвующие в регуляции их транскрипции. Кроме того ретротранспозоны обладают генами, обеспечивающими их репликацию, и не содержат генов белков капсида, которые имеются в геноме ретровирусов.

LINE-элементы, иначе называемые длинными ретропозонами, обладают теми же генами, что и ретротранспозоны, однако в отличие от них не имеют LTR. Тем не менее у них имеются промоторы РНК-полимеразы II, которая осуществляет транскрипцию соответствующих генов. Поскольку ретротранспозоны и LINE-элементы обладают всем необходимым для перемещения в геноме, их называют автономными транспозонами.

SINE-элементы (короткие ретропозоны) не являются автономными и для своей транспозиции требуют наличия белковых продуктов экспрессии генов автономных транспозонов. Вблизи 5'-конца они содержат внутренний промотор РНК-полимеразы III, которая осуществляет их транскрипцию.

Следует подчеркнуть, что в результате каждого акта транспозиции ретроэлемента его исходная НП остается в геноме на старом месте, а соответствующая копия появляется в новом генетическом локусе. Таким образом количество копий транспозона в геноме удваивается. Это является одним из мощных механизмов увеличения размера эукариотического генома, что имеет особо важное отношение к основной обсуждаемой проблеме.

В табл. суммированы данные о содержании мобильных генетических элементов в геномах организмов основных таксономических групп. Столь высокая представленность транспозонов свидетельствует об их ключевой роли в эволюции эукариотического генома. С другой стороны, повсеместная распространенность транспозонов позволяет рассматривать их вместе с Л.Е. Оргелом и Ф. Криком, а также Г.П. Георгиевым не как молекулярных паразитов, но в качестве геномных эндосимбионтов [33, 34]. К сожалению, до настоящего времени остается открытым вопрос о преимуществах, которые геном, клетка и организм в целом получают от такого симбиоза.

Генные семейства состоят из многих генов, для которых характерна высокая гомология кодир. (а в ряде случаев и некодир., интронных) НП. Предполагается, что в основе их происхождения лежат дубликации

Таблица
**Содержание транспозонов и генов в зависимости
от размера генома [24, 369]**

Биологический вид	Название	Размер генома, (пг)	% TEs	Количество генов
<i>Fritillaria assyriaca</i>	Лилия	127,4	95–99	
<i>Rana esculenta</i>	Лягушка	5,6–8,0	77	
<i>Homo sapiens</i>	Человек	3,5	45	23 000
<i>Xenopus laevis</i>	Лягушка	3,5	37	
<i>Mus musculus</i>	Мышь	3,4	40	35 000
<i>Zea mays</i>	Кукуруза	2,5	60	
<i>Gallus domesticus</i>	Курица	1,25	27	20 000
<i>Tetraodon nigroviridis</i>	Рыба	0,51	0,14	22 000
<i>Takifugu rubripes</i>	Рыба	0,4	2	31 000
<i>Anopheles gambiae</i>	Малярийный комар	0,28	16	14 000
<i>Drosophila melanogaster</i>	Плодовая мушка	0,18	15–22	14 039
<i>Ciona intestinalis</i>	Асцидия	0,16	10	15 500
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Арабидопсис	0,16	14	26 000
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Червь	0,1	12	20 060
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Дрожжи	0,012	3–5	6 680
<i>Escherichia coli</i>	Бактерия	0,0046	0,3	4 500

генов-предшественников или целых генетических локусов. В совокупности гены, объединенные общностью происхождения через дубликации генов-предшественников, называют парологами [35]. Гены с идентичными НП, организованные в виде кластеров или рассеянные по геному, обеспечивают повышенные потребности клеток в продуктах их экспрессии. К таким генам у эукариот относятся, в частности, гистоновые гены, а также гены рРНК, тРНК и небольших ядерных (ня)РНК. Кроме того, функционирование генов мультигенных семейств контролирует формирование систем распознавания различных сигналов. В этой связи самое большое из известных генных семейств позвоночных животных составлено генами и псевдогенами (см. ниже) обонятельных рецепторов. У человека и мыши их число составляет 800 и 1400, соответственно, причем псевдогены составляют соответственно 60% и 25%. Большими семействами представлены гены главного комплекса гистосовместимости и варибельных частей иммуноглобулинов.

Уникальные последовательности

Содержание уникальных НП, встречающихся только один раз в геноме эукариот, варьирует у разных организмов и составляет от 15 до 98% всей ДНК. Хотя во фракцию уникальных НП попадают многие структурные гены, большая их часть является некодирующей. Хорошо известным примером уникальных НП являются интроны, общий размер которых, как правило, превышает суммарный размер экзонов соответствующих генов. Интроном называют транскрибируемый участок гена, последовательность которого отсутствует в зрелой РНК и удаляется из предшественника РНК разными механизмами. Зрелая РНК составлена последовательностями экзонов гена.

Эзоны и интроны. Мозаичная экзон-интронная структура генов обнаружена у представителей большинства таксономических групп современных биологических видов [36]. В соответствии с современной классификацией интроны разделяют на четыре основных класса, которые различаются по механизмам удаления из предшественников мРНК [37]. Обладание интронами 4-го класса, вырезаемыми из молекул РНК под действием сплайсинга (иногда их называют сплайсинговыми или сплайсомными интронами), является исключительной прерогативой эукариотических организмов.

Плотность интронов в эукариотических геномах (количество интронов на один ген) у разных видов эукариот различается более чем в 1000 раз [38]. В частности, в геноме человека, наиболее богатом интронами, обнаружено ~140 000 интронов (8,4 интрона/ген), тогда как геном микроспоридии *Encelalitozoon cuniculi* содержит всего 13 интронов (0,0065 интрона/ген). Более того, как и в случае размеров эукариотических геномов в целом, отсутствует корреляция между плотностью интронов, их локализацией в геноме и филогенетическими характеристиками биологических видов.

Отмечено, что у человека гены «домашнего хозяйства», то есть экспрессирующиеся в клетках большинства тканей, имеют меньшую длину в кодир. и некодир. частях, чем гены «роскоши» специализированных тканей, что несвойственно, например, *Arabidopsis thaliana* и *Drosophila melanogaster* [39]. Причины компактности генов «домашнего хозяйства», среди которых безинтронными являются, в частности, гистоновые гены и большая часть генов рецепторов, сопряженных с G-белками [40], остается неизвестной.

Псевдогены представляют еще один класс уникальных НП эукариотического генома. Псевдогенами называют НП ДНК, которые являются чаще всего неактивными копиями исходных генов, измененных мутациями [41]. Одна из разновидностей таких НП

составлена процессированными псевдогенами, в которых отсутствуют интроны гена-предшественника. Предполагается, что процессированные псевдогены возникают путем интеграции в геном кДНК, образовавшейся в результате обратной транскрипции соответствующей мРНК, претерпевшей полный сплайсинг. При этом встраивание кДНК могут обеспечивать гены автономных ретротранспозонов. Содержание псевдогенов у представителей разных таксономических групп значительно различается. Больше всего псевдогенов найдено у человека (3600–19000), причем они рассеяны по всему геному, и их число в отдельных хромосомах коррелирует с размером последних [42].

В отличие от бактерий, псевдогены которых подвергаются быстрой дегенерации, эукариотам свойственно меньшее давление отбора, направленное на элиминацию псевдогенов. Вопрос о роли псевдогенов в геноме является предметом дискуссий. В некоторых случаях продемонстрирована их функциональная значимость (см. обзор [41]). Имеются указания на возможное участие антисмысловых РНК псевдогенов в регуляции транскрипции. Предполагается участие псевдогенов в иммунном ответе человека и животных, причем для птиц это уже доказано. Псевдогены необходимы для формирования генов обонятельных рецепторов человека. Многие псевдогены эукариот высоко консервативны и активно транскрибируются, а некоторые могут быть активированы точковыми мутациями.

*Мозаичность генома теплокровных животных по GC-составу:
изохоры*

Присутствие в эукариотическом геноме дискретных, протяженных (сотни т.п.н.), высокогомогенных по GC-составу участков, называемых изохорами, по-видимому, является одним из фундаментальных принципов его организации на уровне первичной структуры [43]. Изохоры разделяют на несколько «легких» и «тяжелых» семейств (перечислены в порядке возрастания содержания GC): L1, L2, H1, H2 и H3 (L – light, H – heavy). Бэндинг метафазных хромосом (поперечная исчерченность после окрашивания) хорошо коррелирует с количественным и качественным содержанием в них изохор, относящихся к определенным семействам [44].

Установлено, что НП, принадлежащие к вышеупомянутым семействам, различаются не только по GC-составу, но и по другим структурно-функциональным характеристикам. В геноме человека наиболее GC-богатые изохоры имеют самую высокую плотность расположения генов («сердцевина генома» – «genome core»), а для изохор с небольшим содержанием GC, характерна низкая концентрация генов

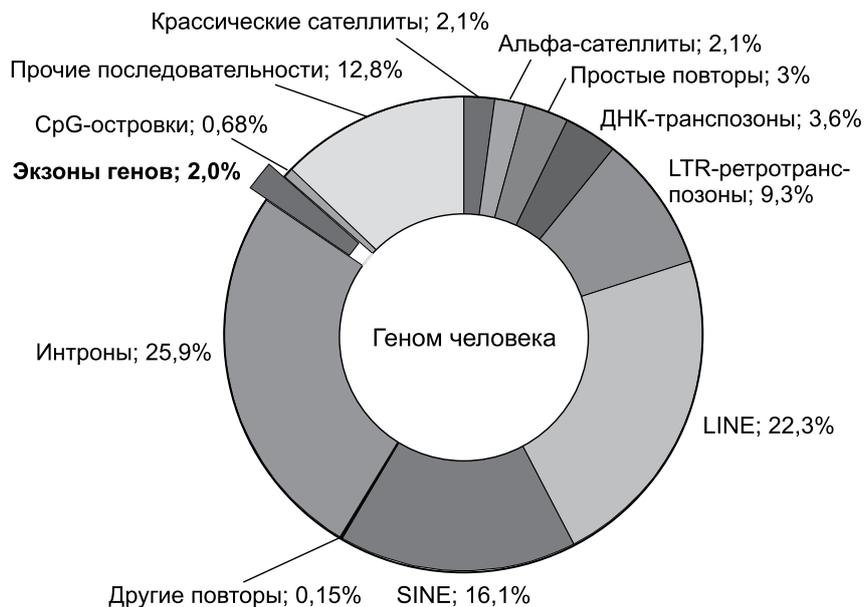


Рис. 1. Содержание различных нуклеотидных последовательностей (НП) в геноме человека [370]. НП, кодирующие белки (~20 000 генов), занимают менее 1,5% генома.

(«геномная пустыня» – «genome desert») [45, 46]. GC-богатые изохоры рано реплицируются в клеточном цикле, а GC-бедные – поздно [47]. Наиболее GC-богатые изохоры расположены чаще всего в теломерных зонах метафазных хромосом, а для наименее GC-богатых изохор характерна иная локализация [48, 49]. При этом GC-богатые изохоры менее плотно упакованы в хроматиновых фибриллах, чем GC-бедные [48, 50]. Все это указывает на наличие отчетливой взаимосвязи между функциональной компартиментализацией интерфазных ядер и структурной организацией эукариотического генома, то есть его первичной структурой.

Кодирующие и некодирующие последовательности

Проведенный нами анализ особенностей первичной структуры эукариотического генома позволяет, в соответствии с давней традицией, разделить его на две неравнозначные в функциональном отношении и неравные по размеру части, а именно, на кодир. и некодир. НП. На рис. 1 представлен долевой вклад НП разных классов в общий размер генома человека, из которого видно, что гены занимают лишь незначительную его часть.

Традиционно под кодир. НП понимают участки геномной ДНК, которые заключают в себе информацию о первичной структуре белков и нуклеиновых кислот, реализуемую в процессе их экспрессии. Однако под это определение попадают и НП генов мобильных генетических элементов, которые, как уже упоминалось выше, могут составлять большую часть НП генома. Более того, современные исследования эукариотического транскриптома с использованием биочиповых технологий показывают, что в больших геномах эукариот может транскрибироваться до 1/3 всех НП [51, 52].

В современных исследованиях крупномасштабное секвенирование геномов и сравнительный анализ их первичных структур способствует идентификации генов в вышеупомянутом смысле. Постепенно происходит изменение критериев, на основании которых оценивают функциональность НП, и во главу угла начинают ставить их эволюционную консервативность, отражающую наличие давления естественного отбора, направленного на поддержание их структуры, а следовательно и функции [53]. В частности установлено, что протяженные консервативные участки геномов распространяются за пределы генов. Сравнение геномов мыши и человека показало, что в последнем ~5% НП находится под давлением отбора, из которых только 1/3 принадлежит генам, кодирующим белки [54].

Очевидно, что наши представления о «кодир. и некодир.» НП будут меняться. Есть основание полагать, что в настоящее время недостаточное внимание уделяется экспериментальному изучению роли «некодир.» НП в пространственной укладке экзонов генов и целых генетических локусов в интерфазных ядрах. В частности, осуществляя скелетную функцию (см. ниже и [9]), некодир. НП могли бы формировать уникальные внутриядерные микрокомпартменты, оказывающие влияние на экспрессию находящихся в них генов и их защищенность от химических мутагенов. В этом случае «некодир.» НП могли бы заключать в себе код, транслируемый интерфазным ядром в пространственную структуру генома. Пока же в данной работе под кодир. НП мы подразумеваем НП геномной ДНК, не входящие в состав транспозонов, которые заключают в себе информацию о белках и РНК с известными или предполагаемыми функциями.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА

Геномная ДНК всех эукариотических организмов, суммарная длина которой для одной копии генома может достигать нескольких метров, находится в составе высокоупорядоченного нуклеопротеинового комплекса, называемого *хроматином* [55–57]. Это позволяет ей

помещаться, воспроизводиться и сохранять функциональную активность в ядрах, диаметр которых не превышает нескольких мкм. Соответственно, белки, обеспечивающие пространственную укладку ДНК в индивидуальных хромосомах, можно рассматривать в качестве своеобразных ДНК-шаперонов [58].

Морфологические особенности интерфазного ядра

Ядро клетки представляет собой внутриклеточную органеллу, в которой происходят основные процессы, связанные с хранением, преобразованием, реализацией, воспроизведением и поддержанием целостности генетической информации, заключенной в молекулах ДНК. Современные данные укрепили представление об интерфазном ядре, как высокоупорядоченной цитогенетической системе [59, 60]. Объем ядер соматических клеток животных составляет ~600–1500 мкм³.

Ядерная оболочка, формирующая интерфейс между ядерными и цитоплазматическими компартментами, играет основную роль в поддержании внутри ядра уникальных биохимических условий, необходимых для функционирования генетического аппарата клеток. Она построена из внешней и внутренней ядерных мембран, которые пронизывают 10^3 – 10^4 ядерных поровых комплексов, обеспечивающих транспорт в обоих направлениях высоко- и низкомолекулярных соединений, необходимых для функционирования ядра и/или являющихся продуктами его жизнедеятельности. Наружная мембрана взаимодействует с рибосомами и является частью шероховатого эндоплазматического ретикулаума клетки. Внутренняя мембрана осуществляет контакты с хроматином и маркирована специфическими мембранными белками [61]. Обе мембраны соединены друг с другом на границе каждого ядерного порового комплекса. Со стороны нуклеоплазмы к внутренней мембране прилегает *ядерная ламина*, которая представляет собой тонкий слой (~20 нм) гидрофобных белков. С ними могут специфически взаимодействовать петли хроматина. Хотя ламина является составной частью ядерного матрикса, для нее характерен особый состав белков, среди которых в наибольшей степени представлены и охарактеризованы белки семейства ламин А и В [61]. Мутации в их генах сопровождаются глобальными пространственными перестройками гетерохроматина, изменениями в транскрипции, репликации ДНК, цитоскелете и выживаемости клеток, а также развитием тяжелых ламинопатий у человека.

Ядерный матрикс является вторым (после хроматина) компонентом ядра, содержащим нуклеиновые кислоты [62]. Его обычно обнаруживают в ядре в виде сетчатой, фибриллярной, РНП-содержащей

структуры после удаления мембран (неионными детергентами), хроматина (инкубацией ядра с ДНКазой) и гипертонической солевой экстракции гистонов и фрагментов ДНК. Коровая часть ядерного матрикса представлена ветвящимися филаментами диаметром 10 нм, состав и молекулярная структура которых в настоящее время не вполне понятны. Филаменты внутреннего ядерного матрикса ассоциированы с ядерной ламиной и участвуют, в частности, в прикреплении к ней оснований петель хроматиновых фибрилл диаметром 30 нм [63]. Обнаружены НП ДНК длиной 150–200 п.н., обеспечивающие такое взаимодействие, которые обозначают как MAR/SAR-НП (matrix-/scaffold-attachment regions).

Ядрышко является наиболее хорошо изученным ядерным субкомпартментом, который обеспечивает, главным образом, биогенез рРНК и рибосомных 40S и 60S субчастиц и, как правило, обнаруживается у всех эукариот. В ядрышках метаболически активных соматических клеток животных и растений одновременно протекают сотни биохимических процессов [64, 65]. Среди «неканонических» функций ядрышек отмечают их участие в контроле вирусной инфекции, процессинге неядрышковых РНК или РНП, влияние на функции теломеразы и старение клеток, участие в регуляции клеточного цикла, экспрессии опухолевых супрессоров и онкогенов, передачи сигналов и др. Большинство ядрышковых белков задерживается в нем не более 1 мин., а само ядрышко существует в стационарном состоянии в виде особого внутриядерного компартмента благодаря более прочному взаимодействию некоторых белков с рДНК, формирующих внутриядрышковое пространство для протекания биохимических процессов. По-видимому, такое состояние характерно и для других нижеперечисленных внутриядерных субкомпартментов, обнаруживаемых на морфологическом уровне [60, 66].

Другие субкомпартменты ядра. В ядре присутствуют многочисленные тельца (bodies), которые не являются фиксированными внутриядерными компартментами, но отражают активность генома в интерфазе, и их существование в ядре часто не превышает нескольких мин. Для субкомпартментов характерно высокое содержание специфических белков, участвующих в разнообразных генетических процессах, что позволяет считать их местами сборки характерных макромолекулярных комплексов и их последующего функционирования. *Тельца Кахаля* (Cajal bodies) представляют собой гетерогенный набор структур, различающихся по молекулярному составу и биологическим функциям, основной из которых является биогенез малых ядерных и ядрышковых РНП (snRNP и snoRNP), а

также РНК теломеразы (hTR) [67]. Близкую функцию, по-видимому, выполняют так называемые *свернутые тельца* (coiled bodies) [68]. *PML-тельца* содержат белок промиелоцитарного лейкоза (PML) и являются местом активной репликации и транскрипции вирусных геномов в зараженных клетках [69]. *OPT-домены* (Oct1/PTF/transcription domains), обогащенные факторами транскрипции, маркируют места локализации «фабрик транскрипции» (подробнее см. стр. 316). Так называемые *спеклы* (speckles) являются местом аккумуляции белков, участвующих в сплайсинге пре-мРНК. Недавно в ядрах клеток растений обнаружено несколько новых доменов [66].

Эухроматин и гетерохроматин

Начиная с работы Е. Хайтца 1928 г., в интерфазном ядре различают хроматин двух типов – эухроматин и гетерохроматин. В составе гетерохроматина геномная ДНК сильно конденсирована и как правило (но не всегда) не транскрибируется. В отличие от этого, эухроматические участки генома организованы менее компактно и чаще, хотя и не во всех известных случаях, заняты активно экспрессирующимися генами [70].

Одной из фундаментальных особенностей гетерохроматина является его регулируемая способность обратимо распространяться на протяженные соседние эухроматиновые участки генома, что часто сопровождается переходом эухроматина в гетерохроматин (гетерохроматизацией эухроматина) и подавлением транскрипции расположенных в нем генов (феномен эпигенетического сайленсинга генов) [71]. Для гетерохроматина характерно наличие гипоацетилированных и метилированных гистонов. При этом характер их метилирования позволяет различать необратимо сформированный (конститутивный) гетерохроматин от «факультативного». Последний может быть деконденсирован, что часто сопровождается активацией транскрипции [72]. Гетерохроматизация специфических участков генома инициируется некодир. двухцепочечными (ds) или короткими интерферирующими (si) РНК, координированной работой гистоновых деацетилаз и метилтрансфераз, а также последовательным включением в состав хроматина специфических белков. Это приводит к изменениям пространственной структуры хроматина и в конце концов к подавлению транскрипции (и экспрессии) соответствующих генов [55, 73]. Такая на первый взгляд независимая от первичной структуры ДНК регуляция транскрипции путем изменения пространственной структуры хроматина является типично эукариотическим механизмом регуляции экспрессии генов, а также рекомбинации и репарации ДНК у эукариот.

Кроме участков ДНК, содержащих гены, основными объектами гетерохроматизации в геноме являются повторяющиеся НП ДНК хромосом, такие как сателлитные ДНК и мобильные генетические элементы. Имеются указания на то, что в ряде случаев гетерохроматизация необходима и для активации генов [74]. Мутации, подавляющие формирование гетерохроматина, изменяют внутреннюю пространственную структуру ядер, что сопровождается нарушением регулируемого в онтогенезе взаимодействия генетических локусов через их *cis*-действующие регуляторные элементы (см. ниже) [75, 76].

Уровни компактизации геномной ДНК в составе хроматина

Компактизация эукариотической ДНК в интерфазных ядрах контролируется, по крайней мере, на трех уровнях межмолекулярных взаимодействий, обеспечивающих пространственную организацию хроматина. К ним относятся внутринуклеосомные взаимодействия (1), межнуклеосомные (2) и взаимодействия нуклеосом со структурными белками хроматина (3). Все три уровня взаимодействий, функционально связанные друг с другом, прежде всего обеспечивают регулирующую транскрипцию генов [77].

Нуклеосома является фундаментальной структурной повторяющейся единицей хроматина. Так называемая *кóровая* (основная) ее часть построена из четырех гистоновых белков (двух димеров H2A–H2B и тетрамера (H3)₂–(H4)₂), а молекула ДНК обернута двумя витками вокруг этого белкового октамера. Каждая нуклеосома содержит ~165 п.н. ДНК, причем данный параметр зависит от вида организма и типа клеток. В составе хроматина нуклеосомы следуют друг за другом и разделены короткими участками так называемой линкерной ДНК длиной ~10–80 п.н. Включение ДНК в состав нуклеосом сопровождается уменьшением ее линейного размера (компактизацией) в ~5–10 раз [78]. В последнее время с помощью рентгеноструктурного анализа с разрешением <2 Å определена пространственная структура *кóровой* частицы нуклеосом, реконструированной *in vitro* (рис. 2, см. стр. 310) [79].

Ковалентные модификации гистонов играют важную роль в регуляции транскрипции (благодаря изменению структуры хроматина), метаболизме гистонов и опосредованно оказывают влияние на большое число клеточных процессов, включая клеточный цикл. Среди таких модификаций обнаружены их обратимое ацетилирование по остаткам Lys, фосфорилирование (Lys, Ser), метилирование (Arg), поли(ADP)-рибозилирование (Glu), убиквитинилирование и сумоилирование (Lys) [28, 80, 81]. Кроме того, в составе нуклеосом обнару-

жены структурные варианты гистонов, которые являются маркерами специфических НП и состояний ДНК генома [82, 83].

В настоящее время не исключается, что первичная структура генома может заключать в себе нуклеосомный код – информацию, привязывающую процесс образования нуклеосом к определенным НП (так называемое позиционирование нуклеосом), которые периодически повторяются вдоль протяженных участков ДНК. Предполагается, что наличие такого кода могло бы существенно облегчать хромосомам выполнение своих специфических функций, а именно: контроль транскрипции путем взаимодействия белковых факторов с регуляторными НП, и массивную перестройку самих нуклеосомных структур [84, 85]. Позиционирование нуклеосом вдоль молекул ДНК может определять и фундаментальные особенности ее вторичной структуры – так называемые сайты перегиба ДНК (bend sites), которые обнаруживают в среднем через каждые 4 нуклеосомы [86]. Наличие сайтов перегиба коррелирует с правилами сегментации эукариотического генома, в соответствии с которыми геном может быть описан в виде следующих друг за другом блоков НП длиной в ~350 п.н. (две нуклеосомы). Такие блоки могли возникнуть в результате комбинаторного слияния коротких НП на ранних этапах развития жизни [87].

Еще один уровень периодичности в эукариотической геномной ДНК, который потенциально может оказывать влияние на структуру хроматина, представлен участками, в которых двойная спираль ДНК дестабилизируется, что облегчает ее плавление в этих местах (так называемые UE-элементы – unpairing elements – встречаются каждые ~3 т.п.н.) [88]. UE-элементы и их кластеры, названные BUR-участками (base unpairing regions), маркируют места взаимодействия ДНК со специфическими белками, которые обеспечивают сворачивание нуклеосомной нити в структуры высшего порядка.

Фибриллярная структура хроматина. В присутствии линкерного гистона H1 и/или ионов двухвалентных металлов нуклеосомная нить претерпевает дальнейшую компактизацию с образованием структуры, ранее известной под названием соленоида – компактной фибриллы диаметром ~30 нм (рис. 2А). С целью уточнения структуры «соленоида» недавно была определена с разрешением в 9 Å пространственная структура реконструированного участка хроматина, содержащего 4 нуклеосомы [89] (рис. 2В). Из полученных данных следует, что в тетрануклеосоме отдельные нуклеосомы попарно взаимодействуют друг с другом, а линкерные НП ДНК пересекаются в виде зигзага. Последнее наблюдение может указывать на то, что

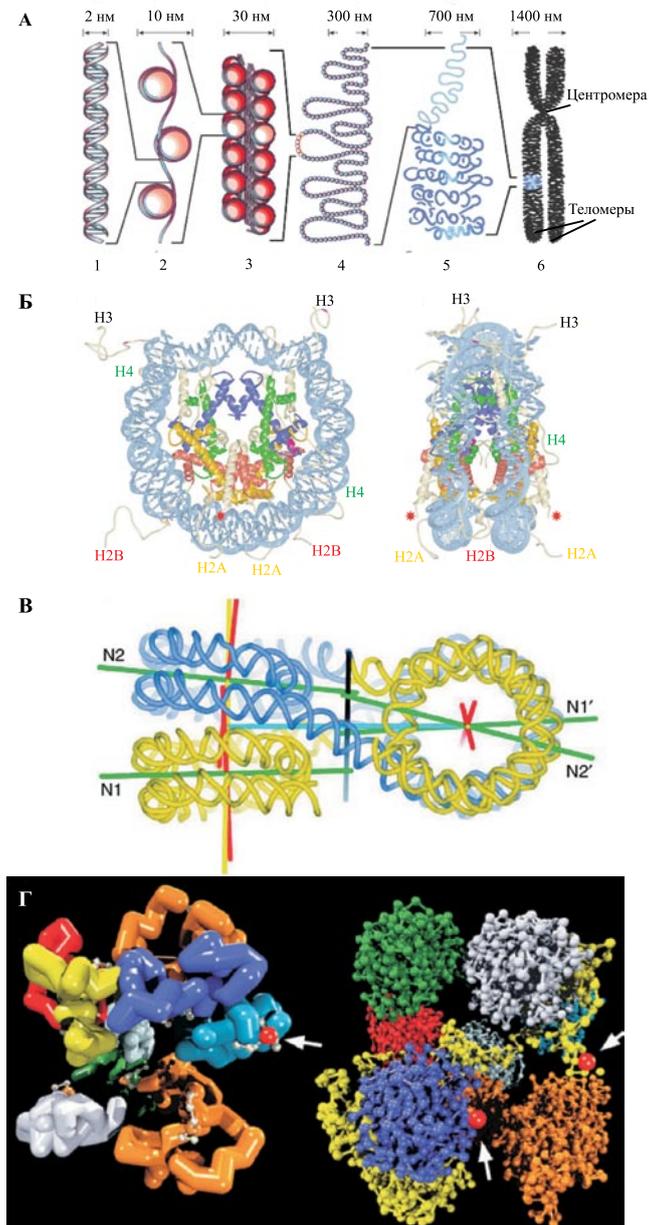


Рис. 2. Уровни компактизации ДНК в составе хроматина (А), пространственная структура коровой частицы нуклеосомы, (окончание подписи к рис. см сл. стр.)

полученная с помощью рентгеноструктурного анализа с разрешением 2Å [371] (Б), пространственная структура тетраплексома, формирующей фибриллу хроматина диаметром 30 нм (В), и гипотетическая ультраструктура домена хроматина длиной в 1 м.п.н.

А. 1 – двойная спираль ДНК; 2 – нуклеосомная фибрилла; 3 – соленоид; 4 – петли хроматина; 5 – участок хромосомной территории; 6 – метафазная хромосома. Вверху указаны размеры соответствующих элементов хроматина; на метафазной хромосоме обозначены только две из четырех теломер.

Б (слева). Вид нуклеосомы спереди; гистоны H2A, H2B, H3 и H4 окрашены соответственно желтым, красным, синим и зеленым цветом, белые – их выступающие концевые части, ДНК окрашена голубым; красными звездочками обозначены сайты убиквитинирования гистона H4 у дрожжей. (Справа) – Вид того же комплекса сбоку после поворота на 90° вокруг вертикальной оси.

В. В тетраплексоме «соленоида» отдельные нуклеосомы попарно лежат друг на друге (N1, N2 и N1', N2'), образуя две стопки; две концевых нуклеосомы окрашены в желтый цвет, а две центральных – в голубой, линкерная ДНК перекрещивается между ними. Прямыми линиями обозначены оси симметрии нуклеосомной нити (зеленые), ее сверхспирализации (красные), стопок нуклеосом (желтые), а также (предполагаемая) всей фибриллы диаметром 30 нм (черная).

Г. Слева показано, что домен хромосомной территории построен из 10 субдоменов (петель) длиной ~100 т.п.н. (окрашены разным цветом), в них зигзагообразные цилиндры изображают нить хроматина диаметром 30 нм, которые время от времени прерываются деспирализованными нитями нуклеосом (белые точки) диаметром 10 нм. Справа каждый из 10 субдоменов длиной в 100 т.п.н. представлен зигзагообразной цепью нуклеосом, в которой каждая нуклеосома представлена отдельной точкой; большинство субдоменов изображено в закрытой конфигурации, за исключением субдомена, окрашенного в желтый цвет, проникающего в межхроматиновые компартменты; красные точки изображают белковые комплексы (ядерные тельца), участвующие в транскрипции или сплайсинге (на них указывают стрелки).

распространенное представление о цилиндрической форме фибриллы хроматина диаметром 30 нм является упрощением. Гистон H1 и некоторые другие белки стабилизируют структуру нуклеосом, предотвращают их перемещение (скольжение) вдоль ДНК и участвуют в формировании и поддержании пространственной структуры хроматина высшего порядка [89, 90].

Подавляющее большинство хроматина интерфазных ядер находится в высоко конденсированном состоянии (уровень конденсации в ~10 раз выше, чем у фибрилл хроматина диаметром 10 и 30 нм) [91–93]. При этом межхроматиновое пространство, в котором не обнаруживается ДНК, занимает примерно половину объема ядра.

Для дальнейшего обсуждения важно подчеркнуть, что ДНК в составе хроматина расположена *снаружи* коровой частицы гистонового октамера, а, следовательно, доступна действию низкомолеку-

лярных реакционноспособных химических соединений, например, химических мутагенов. В целом же внутриядерная структура хроматина в интерфазных ядрах высокодинамична и далека от кристаллической, выявляемой с помощью рентгеноструктурного анализа в упрощенных модельных системах [94].

Хромосомные территории

Отдельные хромосомы занимают в интерфазных ядрах более или менее четко разграниченные области – так называемые хромосомные территории. Предположение об этом было впервые высказано К. Раблом и Т. Бовери на рубеже XIX и XX веков (см. обзоры [95, 96]). В настоящее время факт наличия хромосомных территорий доказан экспериментально.

Модели хромосомных территорий. В модели *межхромосомных доменов* (interchromosome domain (ICD) model) хромосомные территории, представленные высококонденсированным хроматином, отделены друг от друга системой каналов, получивших название межхромосомных доменов [97, 98]. Транскрибируемые гены локализованы на периферии хромосомных территорий в деконденсированном состоянии в межхромосомном пространстве (доменах), ответвления которых могут глубоко проникать в хромосомные территории, образуя межхроматиновые компартменты (*модель межхроматиновых компартментов* – interchromatin compartment (CT-IC) model) [99]. Последние берут начало от ядерных пор и ветвятся внутри хромосомных территорий, формируя сеть каналов, оканчивающихся у доменов хроматина, которые заключают в себе ~1,0 м.п.н. ДНК (рис. 2Г). Эти домены, в свою очередь, могут состоять из гипотетических петельных (SL – small loop) субдоменов длиной в ~100 т.п.н., соединенных белками в центре вышеупомянутого домена размером в 1 м.п.н. с образованием розетки из SL-доменов (*модель многопетельных субкомпартментов* – multiloop subcompartment (MLS) model).

Следующие друг за другом и различные на протяжении всей интерфазы домены хроматина размером в 1 м.п.н. со сферической укладкой SL-петель хроматина, которые обеспечивают конденсацию ДНК более чем в 300 раз, предполагаются в качестве одного из основных высших уровней компактизации хроматина в хромосомных территориях [100]. Кроме того, в настоящее время разрабатывается *модель хромосомных территорий, построенных из гигантских петель* (CT-GL model) – хроматиновых фибрилл длиной в несколько м.п.н. [101, 102].

В моделях хромосомных территорий подчеркивается важная организующая роль ядерного матрикса [95, 96, 103]. По некоторым оценкам геном млекопитающих в интерфазных ядрах может быть организован в виде ~60 000 петель хроматина, прикрепленных к ядерному матриксу MAR/SAR-НП. Средний размер таких петель составляет ~70 т.п.н. [88].

Внутриядерное расположение хромосомных территорий. Расположение хроматина и хромосомных территорий в интерфазных ядрах упорядочено и эволюционно консервативно у животных и растений. В частности, хроматин, ДНК которого реплицируется в ранней S-фазе клеточного цикла, локализуется преимущественно внутри ядер, тогда как поздно реплицирующийся хроматин ассоциирован с периферией ядер и ядрышком [104, 105–107]. Изохоры в интерфазных ядрах некоторых позвоночных животных также распределяются неслучайно. У человека, свиней и кур наиболее GC-богатые НП располагаются ближе к центру ядра, а ДНК с низким содержанием GC-пар – преимущественно на периферии ядер [48, 50, 108]. Кроме того, в клетках большинства тканей с ядрами сферической формы бедные генами области хромосомных территорий, центромерные участки хромосом и интеркалярный гетерохроматин (присутствующий в виде вкраплений в эухроматиновые участки генома) имеют тенденцию располагаться на периферии интерфазных ядер вблизи ядерной ламины. Хромосомы с высоким содержанием генов, а также их обогащенные генами участки и активно транскрибируемые области чаще располагаются ближе к центральной части ядра, хотя положение последних в меньшей степени детерминировано в пространстве нуклеоплазмы [99, 109–113]. Такое расположение хромосом устанавливается на ранней стадии клеточного цикла и поддерживается на всем его протяжении [99, 111]. При этом специфически изменяется пространственное положение химерных хромосомных территорий, образовавшихся в результате объединения участков разных хромосом под действием мутаций или генно-инженерными методами [105, 111, 114–118]. Имеются данные о том, что в некоторых тканях, в частности в фибробластах человека и других приматов, у которых ядро имеет форму эллипсоида вращения, такое упорядоченное от периферии к центру расположение хромосомных территорий больше коррелирует с размером хромосом, а не с содержанием в них генов [113, 119, 120].

В 1885 г. К. Рабл, обнаружив в клетках саламандр полярное расположение центромер и теломер в анафазе митоза вблизи поверхности ядер (конфигурация Рабла), предположил, что такой же порядок

расположения этих участков хромосом сохраняется и в интерфазных ядрах (цит. по [121]). Это действительно нашло подтверждение у растений и некоторых животных (например дрозофилы) [122, 123]. Однако для большинства животных более характерно радиальное позиционирование хромосом с преимущественным расположением одних хромосомных территорий по периферии ядер, а других – ближе к центру (обзор [121]).

Наконец еще одним типом детерминированности положения хромосомных территорий в интерфазных ядрах является их неслучайное взаиморасположение. Данная модель локализации хромосом была разработана с учетом обнаруженных характерных паттернов (митотических «розеток») метафазных хромосом человека на метафазных пластинках, в которых порядок хромосом (их расположение относительно друг-друга) хорошо воспроизводится [124, 125]. Впрочем, на этот счет имеются и противоположные данные [126].

Отмеченные выше эволюционно консервативные черты архитектуры хроматина в интерфазных ядрах указывают на их функциональное значение для биологических видов. Большинство данных такого рода не кажется удивительным и объясняется необходимостью координированной регуляции экспрессии эукариотических генов путем их взаимодействия друг с другом, а также нашей моделью (см. ниже).

Активно транскрибируемые гены не всегда концентрируются во внешних частях хромосомных территорий, а рассеяны по ним. Следовательно, хромосомные территории проницаемы для субстратов, регуляторных белков и продуктов их транскрипции, а значит и для химических агентов, повреждающих ДНК [93, 122, 127]. В ряде случаев для экспрессирующихся генов характерно отдаление их в составе петель хроматина от хромосомной территории, которой они принадлежат [128, 129].

Быстрые перемещения хроматина на расстояния, сопоставимые с размерами хромосомных территорий, отмечены лишь в первой трети G1-фазы клеточного цикла (обзоры [130, 131]). В остальных фазах клеточного цикла перемещения ограничиваются небольшими ядерными субдоменами, размер которых зависит от типа клеток и состояния их дифференцировки.

Хотя в целом положение хромосомных территорий и их частей внутри ядра динамично, их общее расположение, возможно, генетически детерминировано. В самом деле, из общих соображений трудно себе представить, что в процессе деконденсации метафазных хромосом в интерфазе клеточного цикла полностью утрачиваются связи, существовавшие между соседними участками хроматина в конденсированной хромосоме и наоборот. С учетом

этого специфические паттерны окрашивания (бэндинг) хромосом можно рассматривать как отражение упорядоченной и генетически детерминированной пространственной структуры хромосомных территорий [132–134].

Структурные аналогии с организацией белков. Рассмотренная иерархия пространственной укладки хроматина позволяет провести аналогию между особенностями структуры хроматина и известными уровнями структурной организации белков [57]. Под этим углом зрения *первичная структура* хроматина формируется в конкретной хромосоме из НП нуклеосом в нуклеосомной фибрилле диаметром 10 нм. Его *вторичная структура* представлена более компактной фибриллой диаметром 30 нм. Последняя, в свою очередь, формирует домены хроматина в виде петель, розеток и сильно конденсированного хроматина, что можно рассматривать как прототип его *третичной структуры*. Организованные подобным образом хромосомы представлены внутри интерфазного ядра взаимодействующими друг с другом хромосомными территориями, которые в совокупности формируют *четвертичную структуру* эукариотических ядер. При этом перестройки хроматина под действием регуляторных факторов напоминают механизмы аллостерической регуляции ферментативной активности. Тем не менее, высокий динамизм и сложный, изменяющийся во времени состав хроматиновых макромолекулярных комплексов ограничивает практическое применение такого рода аналогий.

Генетические локусы в интерфазном ядре

Положение генов внутри ядра влияет на их активность. При исследовании связи перемещений хроматина с экспрессией генов было отмечено движение целого ряда активируемых генетических локусов животных от периферии ядер к их центрам [131, 135]. При этом перемещения оказались ассоциированными с ядерным актином и миозином [136]. Данные такого рода укрепляют представление о ядерной периферии, как неактивном в транскрипционном отношении компартменте. Тем не менее, транскрипционный статус локуса, по-видимому, не определяется лишь его положением по отношению к периферии ядра и формируется вследствие других более специфических регуляторных воздействий (см. ссылки в обзорах [131, 137]). Широкое использование данной стратегии радиальных перемещений хроматина для регуляции совокупной транскрипции (транскриптома) в крупных ядрах животных и растений подвергается сомнению. У этих организмов большее значение, по-видимому, имеет положение

локусов относительно протяженных компартментов конститутивного гетерохроматина или регуляторных НП, часто удаленных от генов в молекуле ДНК на значительные расстояния.

Гены нередко переходят в репрессированное состояние (один из механизмов реализации феномена сайленсинга) в результате перемещения в окрестности гетерохроматизированных участков интерфазного ядра [55, 71, 75, 138–142]. Важность динамических межхромосомных взаимодействий была продемонстрирована недавно и для инициации инактивации X-хромосом у мышей [143, 144].

Для регулируемой экспрессии эукариотических генов в интерфазе клеточного цикла важно не только их положение относительно гетерохроматина, но и положение относительно друг-друга (обзор [145]). Упорядоченное пространственное сближение генетических локусов, расположенных на разных хромосомах и их взаимное влияние на транскрипцию, хорошо известно [146, 147]. Пространственное сближение *in cis* и *in trans* активируемых генов с удаленными ядерными компартментами, обогащенными РНК-полимеразой II и необходимыми факторами транскрипции по-видимому часто используется для активации эукариотических генов [131, 148-150]. Эта недавно появившаяся концепция получила название «транскрипционного узла» (active chromatin hub), или «транскрипционной фабрики» (transcription factory). Предполагается, что такого рода организация эукариотической транскрипции особенно характерна для повсеместно экспрессирующихся генов «домашнего хозяйства».

Эпигенетическая регуляция пространственного расположения генетических локусов. Отмеченное выше сближение генов, основанное на выпетливании протяженных НП, содержащих регулируемые гены, в том числе и из хромосомных территорий, может контролироваться эпигенетическими механизмами. Эпигенетическими механизмами регуляции генной активности называют наследуемые изменения характера (паттернов) экспрессии генов, вызываемые потенциально обратимыми модификациями структуры хроматина и непосредственно не определяемые первичной структурой ДНК. Отмеченное выше сближение генов, основанное на выпетливании протяженных НП, содержащих регулируемые гены, в том числе и из хромосомных территорий, может контролироваться именно эпигенетическими механизмами. События, приводящие к формированию эпигенотипа, который сохраняется на протяжении жизни эукариотического организма, играют ключевую роль в осуществлении глобальной регуляции транскрипции (и экспрессии) его генов [151–154]. К такого рода

механизмам относятся, в частности, уже упомянутые повсеместно распространенные ковалентные модификации гистонов коровых частиц нуклеосом, включение в состав хроматина редких вариантов гистонов и некоторых негистоновых белков, а также метилирование ДНК (см. обзоры [83, 155–157]). Многочисленные данные такого рода указывают на важную роль эпигенетических механизмов в установлении упорядоченной внутриядерной структуры отдельных генетических локусов и больших участков интерфазных хромосом, необходимой для их правильного функционирования.

Интерфазное ядро как самоорганизующаяся система

На основании анализа информации, представленной в предыдущем разделе обзора, можно полагать, что упорядоченное пространственное расположение внутриядерных субкомпарментов, которое складывается в интерфазных ядрах по завершении деления клеток, в общих чертах эволюционно консервативно и генетически детерминировано. Однако обнаруживаемый порядок внутри ядра возникает, по-видимому, не в результате событий, связанных с копированием предсуществующего шаблона или влиянием организующего каркаса, в соответствии с которыми положение функциональных элементов внутри ядра было бы заранее predetermined. Напротив, само внутриядерное положение экспрессирующихся, реплицирующихся или репарируемых НП ДНК может определять места сборки надмолекулярных комплексов, функционирование которых обеспечивает протекание данных процессов. Это может определять положение ядрышек, многочисленных внутриядерных телец и спеклов и самих хромосомных территорий, совместно используемые генетические локусы которых спонтанно находят друг друга.

Типичным примером самосборки ядерных структур является возникновение ядерной оболочки в митозе, которое начинается в анафазе и завершается в ранней G1-фазе клеточного цикла [158]. В этом случае белки оболочки направленно доставляются к специфическим маркерным участкам еще конденсированных хромосом. Положение последних определяется расположением компонентов митотического аппарата клетки, сохранившихся на завершающей стадии митоза. Замыкание ядерной оболочки и начало функционирования ядерного порового комплекса, сопровождаемое нуклеоцитоплазматическим транспортом молекул, приводит к быстрой деконденсации хроматина метафазных хромосом и сборке ядрышка. При этом формирование ядерной ламины необходимо для увеличения размера ядра и возникновения функциональной структуры хроматина.

В итоге в результате постадийной реализации большого числа кооперативных, специфических взаимодействий макромолекул, по-видимому, определяемых порядком их появления в ядре, складывается пространственная структура интерфазного ядра, способная к выполнению генетических функций. Как следует из представленной ниже модели, одной из таких функций неcodир. НП является защита codир. НП генов от химических мутагенов, реализуемая во внутриядерных компартментах генома, структура и пространственное расположение которых в общих чертах генетически детерминированы.

III. ДИНАМИЧНЫЙ ГЕНОМ

Структурно-функциональное состояние генома высокодинамично. Индивидуальное развитие организмов и их последующее существование в изменяющихся условиях внешней и внутренней среды требует постоянного и упорядоченного переключения работы групп генов, часто сопряженное с изменениями пространственной структуры хроматина [159], а иногда и с перестройками геномной ДНК. Кроме того геномная ДНК находится в состоянии постоянного изменения под действием мутаций, следы которых четко прослеживаются при анализе первичной структуры отдельных эукариотических хромосом и целых геномов [160]. Способность к глобальному контролю уровня мутагенеза и защите геномов от возникновения вредных мутаций несомненно является одним из основных селективируемых фенотипических признаков любого живого организма.

ЗАПРОГРАММИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ГЕНОМА

Амплификация генов в соматических клетках эукариот

Во время развития некоторых эукариотических организмов в геноме соматических клеток происходит большое увеличение числа копий (амплификация) некоторых генов [161]. Этот генетически детерминированный процесс направлен прежде всего на повышение уровня экспрессии соответствующих генов путем умножения числа матриц для транскрипции. В основе избирательной соматической амплификации генетических локусов лежит повторяющаяся инициация репликации (эндорепликация) соответствующих репликонов на протяжении одного клеточного цикла (эндоцикла). Примерами эндорепликации является амплификация генов оболочки яиц (хориона) дрозофилы в фолликулярных клетках яичников [162], генов секретируемых белков в клетках слюнных желез мухи *Sciara* [163],

а также более чем 1000-кратная амплификация генов рРНК у реснитчатого простейшего *Tetrahymena* [164]. Амплификация гистоновых генов с участием транспозонов в ответ на уменьшение числа их копий под действием делеций является адаптивным ответом дрожжей, направленным на восстановления уровня экспрессии данных генов [165]. Такой же адаптивной реакцией организма на внешние воздействия является амплификация генов лекарственной устойчивости, приводящая к выработке у насекомых устойчивости к инсектицидам [166] или у раковых клеток к химиотерапии [167].

Эндоредупликацию генома, приводящую к полиплоидизации соматических клеток или политенизации их хромосом, в которых сестринские хроматиды по завершении репликации не расходятся, можно рассматривать как крайний случай онтогенетической амплификации генов. В целом не редкое, это явление чрезвычайно широко распространено у растений и часто происходит в специализированных клетках или клетках, для которых характерна высокая метаболическая активность [168, 169]. В частности, у *Arabidopsis* плоидность клеток варьирует от 4C до 32C и может достигать ~25000C в клетках эндосперма аронника пятнистого (*Arum maculatum*). Амплификация отдельных генетических локусов отмечена и при некоторых патологических состояниях клеток, например, в процессе малигнизации, когда происходит клональный отбор клеток, сверхэкспрессирующих онкогены [170, 171].

Во всех приведенных выше примерах описаны количественные изменения в представленности отдельных генетических локусов в геноме, которые происходят во время развития эукариотических организмов на фоне неизменной первичной структуры базового генома. Однако известны примеры онтогенетических перестроек и модификаций генома, которые завершаются преобразованиями его НП в соматических клетках

Изменения первичной структуры генома в онтогенезе эукариот

Деминуции хроматина. Одними из наиболее впечатляющих, глобальных перестроек генома на уровне его первичной структуры, закономерно происходящих в онтогенезе эукариотических организмов, являются деминуции хроматина. Деминуциями называют высокоточное, генетически детерминированное удаление протяженных участков гетерохроматина, содержащих некодир. НП ДНК, в процессе дифференцировки соматических клеток. В результате геном соматических клеток иногда сильно (в ~10–20 раз у жгутиковых простейших) уменьшается в размерах и претерпевает другие глубокие

преобразования на уровне первичной структуры [172]. При этом геном клеток зародышевой линии остается неизменным. Деминуции хроматина редко встречаются у растений. Они характерны для жгутиковых простейших, нематод, веслоногих ракообразных, некоторых насекомых, японских миксин и даже сумчатых животных [173–176]. Значение таких преобразований генома для организма остается непонятным. Предполагается, что изменение содержания ДНК может быть связано с онтогенетической необходимостью изменений размера клеток, размера тела и/или времени генерации клеток (подробнее см. [175]). В соответствии с развиваемой нами концепцией, высокое содержание некодир. НП в клетках зародышевой линии может быть связано с необходимостью большей защиты генов этих клеток от мутагенеза.

Изменения генов иммуноглобулинов. Разнообразие антител и рецепторов антигенов, требуемое для полноценного иммунного ответа, создается в результате высокоспецифичных, генетически детерминированных изменений НП геномной ДНК лимфоцитов [177, 178].

Изменения генов, кодирующих антигены. Одной из стратегий, с помощью которой паразитические эукариоты избегают нейтрализующего действия иммунной системы организма-хозяина, является постоянное изменение антигенных детерминант, локализованных на поверхности их тела [179]. Такой результат достигается путем мутационного изменения соответствующих генов в процессе репликации или репарации ДНК, рекомбинации между различающимися генами или перетасовкой сегментов генов, расположенных в разных участках генома.

Репаративный синтез ДНК в измененных участках матрицы с низкой точностью. В синтез ДНК у эукариот вовлечены не менее 19 ДНК-полимераз [180]. Приблизительно половина из них осуществляет синтез ДНК с высокой точностью, тогда как остальные исходно запрограммированы на включение с большой частотой некомплементарных матрице нуклеотидов [181–183]. Ферменты последней группы, обладают способностью копировать поврежденную ДНК, предпочитая Уотсон-Криковским парам образование ошибочно спаренных оснований. При этом ошибочное включение нуклеотидов в строящуюся цепь ДНК происходит с частотой $\sim 10^{-1} - 10^{-3}/\text{нт}$. Кроме того для них характерны пониженные требования к комплементарности между 3'-концевыми нуклеотидами праймера и матрицы, что позволяет им осуществлять инициацию синтеза ДНК с таких aberrантных праймеров. Способность этих малоспецифичных ДНК-полимераз осуществлять синтез ДНК

через поврежденный участок матрицы (translesion synthesis), заполняя пробелы в ДНК некомплементарными нуклеотидами, искажающими исходную информацию, позволяет остановившейся в процессе репликации ДНК репликативной вилке, возобновить редупликацию генома и избежать летального эффекта повреждений. Очевидно, что в этом случае место внесения в геномную ДНК дополнительных мутаций ДНК-полимеразами будет зависеть от локализации первичных поврежденных оснований (например, тимингликоля или 8-оксогуанина), которые часто возникают и под действием эндогенных мутагенов (см. ниже). Следовательно, факторы, ограничивающие возникновение первичных повреждений ДНК в генах (см. предлагаемую нами модель), и в этом случае должны играть весьма существенную роль в выживании эукариотических организмов.

ЭНДОГЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ

В зависимости от причин, вызывающих мутации, их принято разделять на спонтанные и индуцированные. Спонтанные мутации возникают самопроизвольно на протяжении жизни организма в нормальных для него условиях существования [184]. Индуцированные же мутации появляются в результате тех или иных мутагенных воздействий окружающей геном среды или в экспериментальных условиях под действием различных мутагенных факторов. Эндогенный мутагенез, обусловленный внутренними причинами, лежит в основе возникновения спонтанных мутаций [185]. В результате повреждения ДНК или включения в ее цепь неправильного (ошибочно спаренного) нуклеотида возникает премутация, которая по завершении репликации превращается в мутацию, если система репарации не справляется с возникшей проблемой [184]. При этом количество возникающих в геноме мутаций прямо пропорционально количеству предсуществующих премутаций, т.е. в конечном счете количеству возникающих повреждений ДНК.

Причины возникновения спонтанных мутаций

Выявлены три основных причины спонтанного возникновения премутаций. Во-первых, молекулы ДНК *in vivo* характеризуются химической нестабильностью. При нейтральных значениях pH и нормальной температуре происходит гидролитическая депуринизация цепей ДНК с образованием апуриновых (AP-) сайтов и последующим разрывом фосфодиэфирных связей, дезаминирование остатков С и 5-мС с образованием U и Т, соответственно и т.п. [186]. В качестве

второй причины необходимо отметить ошибки синтеза ДНК *in vivo*. При репликации хромосомной ДНК происходит ошибочное включение нуклеотидов (misinsertion), некоплементарных матричной цепи ДНК с частотой 10^{-7} – 10^{-8} /нт [187]. Кроме того, во время репликации иногда имеет место проскальзывание (slippage) 3'-конца растущей цепи ДНК вдоль матрицы (misalign), что может приводить к мутациям со сдвигом рамок считывания [188]. Наконец, способность к перемене матрицы ДНК-полимеразой во время синтеза ДНК, то есть к переходу молекулы ДНК-полимеразы с одной матричной ДНК на другую без терминации синтеза ДНК (template switching), открывает путь к одно-временной замене большого числа нуклеотидов [184]. В-третьих, в процессе нормальной жизнедеятельности эукариотических клеток образуются многочисленные эндогенные мутагены, которые после взаимодействия с ДНК повреждают нуклеотиды, что в ряде случаев может изменить ее кодир. потенциал [185, 189, 190]. Еще более часто возникают аддукты эндогенных мутагенов с нуклеотидами-предшественниками ДНК внутриклеточного пула, которые могут включаться в ДНК и изменять ее структуру [191].

В условиях нормальной жизнедеятельности организма эндогенные химические мутагены вносят основной вклад в спонтанный мутагенез [185]. Во многих биохимических реакциях в качестве промежуточных и побочных продуктов образуются реакционно-способные метаболиты, способные взаимодействовать с ДНК. В частности, в реакциях окисления-восстановления субстратов с участием кислорода постоянно образуются свободные радикалы, которые повреждают молекулы геномной ДНК (см. обзоры [192, 193]). У аэробных организмов в процессе дыхания 4–5% молекулярного O_2 превращается в активные формы кислорода (АФК), обладающие мутагенной активностью: супероксид анион ($O_2^{\cdot-}$), перекись водорода (H_2O_2), радикалы гидроксила ($\cdot HO$) и синглетный кислород (1O_2). АФК часто возникают и во время нормального метаболизма, в том числе при участии цитохрома P450.

Действие АФК на ДНК является одной из причин возникновения многочисленных модифицированных азотистых оснований, удаление которых ДНК-гликозилазами приводит к образованию AP-сайтов и, как следствие, одно- и двухцепочечных разрывов ДНК. Общее число AP-сайтов, образующихся в течение дня в геномной ДНК отдельной клетки человека, оценивается в $\sim 10\,000$ [186], а по другим оценкам может достигать в клетках разных тканей человека и грызунов $50\,000$ – $200\,000$ [194]. Обычно, в отсутствие репарации, AP-сайты приводят к заменам нуклеотидов (AP-сайт \rightarrow T), а также могут

быть источником мутаций со сдвигом рамки считывания и других мутаций (см. обзор [185]). Как уже упоминалось выше, образование AP-сайтов может быть следствием спонтанной депуринизации ДНК, однако модификация азотистых оснований с участием АФК и других свободных радикалов рассматривается в качестве одной из основных причин этого явления [195].

Среди модифицированных оснований особенно часто встречается 8-гидроксигуанин (8-OH-G) (в стационарном состоянии 0,07–145 аддуктов/ 10^6 нт), который спаривается с А и вызывает трансверсии G→T [185]. Кроме того он, как и многие другие модифицированные нуклеотиды, может включаться в ДНК из внутриклеточного пула модифицированных dNTP, спариваясь с С или А, вызывая трансверсии не только G→T, но и A→C. Другим примером подобных многочисленных реакций является окисление пиримидиновых оснований в ДНК, которое сопровождается образованием мутагенных 5-OH-C, 5-OH-U (0,6–53 и 0,7 аддуктов/ 10^6 нт, соответственно) [196–198] и урацилгликоля, которые спариваются преимущественно с А и вызывают транзиции C→T [198]. Два последних аддукта являются продуктами окислительного дезаминирования dC. В целом число нуклеотидов, повреждаемых в геноме человека под действием АФК в течение дня оценивается в ~20 000 [199].

Высокомутагенными являются пропано- и этено-аддукты азотистых оснований, возникающих в ДНК под действием акролеина, кротонового альдегида и 4-гидроксинонена и образующихся из них эпоксиальдегидов, которые появляются в организме в результате перекисного окисления липидов [200]. В частности, этено-производные азотистых оснований вызывают преимущественно замены пар оснований (этен-dA и -dC обнаруживают в ДНК в количестве 0,01–0,7 аддуктов/ 10^6 нт, каждого) [201, 202]. Аддукты dG с малоновым диальдегидом, возникающие в процессе перекисного окисления липидов и биосинтеза простагландинов (пиримидо[1,2- α]пурин-10-(3H)-он – M1G), обнаруживают в количестве 0,06–0,9/ 10^6 нт [203, 204]. Они вызывают трансверсии G→T (~40%), а также транзиции (~60%) C→T и A→G. Необходимо иметь в виду, что патологические состояния организма, в том числе воспалительные реакции, которые постоянно возникают на протяжении жизни, могут многократно усиливать образование АФК, сопровождающееся окислительным стрессом [192].

Метаболиты эндогенных эстрогенов прямо или опосредованно вызывают повреждения ДНК, инициируя образование одноцепочечных разрывов ДНК, 8-OH-dG, а также многочисленных аддуктов

неизвестной структуры. В процессе циклического окисления-восстановления катехоловых эстрогенов возникают реакционноспособные метаболиты, образующие аддукты с азотистыми основаниями с последующим формированием AP-сайтов и возникновением мутаций [205].

Существенный вклад в эндогенный мутагенез вносят эндогенные алкилирующие агенты: S-аденозилметионин (SAM), бетаин и холин. Так, предполагается, что SAM в течение суток может генерировать в каждой клетке животных образование ~4000 молекул 7-метилгуанина, 600 молекул 3-метиладенина и 10–30 молекул O⁶-метилгуанина [206]. Первые два аддукта дестабилизируют гликозидную связь, что облегчает образование мутагенных AP-сайтов. Последний аддукт высоко мутагенен и вызывает образование транзиций GC→AT и TA→CG. Известны и другие многочисленные алкилированные производные азотистых оснований ДНК, образующиеся *in vivo* [185, 189, 190, 207].

Мутагенной активностью обладают и эндогенно образующиеся активные формы азота (АФА – RNS) и N-нитрозосоединения (NOC), образующиеся из пищевых источников, как спонтанно, так и под действием сапрофитной микрофлоры, а также активированными макрофагами [193].

Большое число эндогенных повреждений ДНК, в том числе и AP-сайты, образующиеся под действием ДНК-гликозилаз, блокируют перемещение репликативной вилки вдоль ДНК. В этом случае синтез ДНК через поврежденный участок осуществляют уже упомянутые выше специализированные ДНК-полимеразы, которые включают в строящуюся цепь ДНК некомплементарные матрице нуклеотиды с образованием премутаций [183].

Еще одним эндогенным фактором, который может вносить заметный вклад в эндогенный мутагенез у эукариотических организмов, являются мобильные генетические элементы [208]. Образованием мутаций завершается инсерционный мутагенез, связанный с мобилизацией транспозонов, после их транспозиции в кодир. участки генома. Так, до 10% всех спонтанных мутаций у мышей вызвано инсерциями ретроэлементов [209].

Кроме вышеперечисленных эндогенных биохимических факторов постоянными источниками мутагенов и их предшественников являются экологическая обстановка, а также жизненные привычки организмов, включая особенности питания. В частности, электромагнитное ионизирующее излучение является одной из причин образования свободных радикалов в организме, которые повреждают нуклеотиды ДНК. Под действием ионизирующего излучения, в

отсутствие кислорода, кроме $\cdot\text{OH}$ из воды образуются гидратированный электрон (e_{hyd}^-) и атом водорода, действие которых приводит к образованию высокомутатогенных 5,6-дигидроурацила (DHU) и α -аномера 2'-дезоксиаденозина (αdA) [192]. При этом DHU вызывает транзиции $\text{C} \rightarrow \text{T}$, а α -аномеры 2'-дезоксинуклеозидов приводит к однонуклеотидным делециям. Длинноволновый (UVA – 320–400 нм) и в меньшей степени средневолновый (UVB – 280–320 нм) УФ-свет также являются генераторами АФК [210, 211]. В этом случае в геноме чаще всего происходят трансверсии $\text{G} \rightarrow \text{T}$, как следствие окисления азотистых оснований ДНК.

Хотя в количественных аспектах эндогенного мутагенеза еще многое предстоит выяснить, имеющиеся экспериментальные данные позволяют приблизительно оценить масштабы повреждаемости геномной ДНК, по крайней мере человека, эндогенными мутагенами. Создается впечатление, что результате действия эндогенных мутагенов в эукариотическом геноме каждой клетки организма присутствуют в стационарном состоянии 10^4 – 10^5 поврежденных нуклеотидов. В связи с этим действие отбора должно быть направлено на закрепление фенотипических признаков, обеспечивающих защиту генома от химических и, в первую очередь, эндогенных мутагенов. Следует также подчеркнуть, что АФК и АФА играют в организме двойственную роль – с одной стороны, они выступают в качестве повреждающих факторов, а с другой – выполняют важные физиологические функции [212, 213]. Поэтому в нормальных условиях их уровень в организме строго контролируется.

Системы защиты генома от эндогенного мутагенеза

Известно, что биологические виды преодолевают вредные последствия повреждений ДНК, вызываемых мутагенами, с помощью нескольких систем защиты, которые создают физические препятствия для взаимодействия мутагенов с ДНК, а также обеспечивают антимуtagenез и репарацию повреждений ДНК [189]. Физические препятствия для мутагенов и их предшественников создают внутриклеточные (в том числе ядерные) мембраны, а также включение ДНК в состав хроматина. С участием *антимутагенов* (ферментов и низкомолекулярных соединений-ловушек свободных радикалов) происходит химическая или ферментативная инактивация мутагенов, а также подавление метаболической активации промутагенов. Примерами низкомолекулярных ловушек свободных радикалов являются некоторые витамины (α -токоферол, аскорбиновая и липоевая кислоты, β -каротин), убихиноны, свободный цистеин, а также глутатион,

которые реализуют свои антиоксидантные свойства с использованием разных механизмов, являясь, например, донорами электронов или прямо взаимодействуя с радикалами с образованием аддуктов [214]. Кроме того специализированные пептиды и белки биологических жидкостей выполняют роль специфических хелатных агентов или рецепторов для ионов переходных металлов или металлопротеинов, предотвращая образование АФК в реакции Фентона ($H_2O_2 + Me^{2+} \rightarrow OH^- + \cdot OH + Me^{3+}$). Среди ферментов-антиоксидантов следует прежде всего упомянуть супероксиддисмутазу (SOD), пероксидазы (такие как глутатионпероксидаза и пероксиредоксин) и каталазу. В частности, SOD осуществляет превращение супероксиданиона в H_2O_2 , которая далее метаболизируется пероксидазами до воды или каталазой с образованием воды и кислорода. Важную роль в регуляции антиоксидантной системы организма играет опухолевый супрессор p53 [215, 216].

По крайней мере три системы репарации ДНК, а именно система эксцизионной репарации, использующая удаление азотистых оснований (BER – base excision repair), система инцизионной репарации (NIR – nucleotide incision repair), а также система коррекции ошибочно спаренных нуклеотидов (MMR – mismatch repair) вносят основной вклад в восстановление поврежденных ДНК, вызванных свободными радикалами разной природы (см. обзоры [189, 217–220]).

BER у животных может инициироваться, по крайней мере, 11 ДНК-гликозилазами, специфичными в отношении поврежденных нуклеотидов, которые удаляют их из ДНК путем расщепления N-гликозидных связей с образованием AP-сайтов [221, 222]. Далее многофункциональная AP-эндонуклеаза 1 (APE1), которая также является одним из основных участников системы NIR, распознает AP-сайт и расщепляет фосфодиэфирную связь вблизи его 5'-конца. Дальнейший процесс репарации может осуществляться двумя путями, в которых участвует ДНК-полимераза β (Pol β). В случае точечной (short-patch) BER происходит замена одного нуклеотида AP-сайта, тогда как во время сегментной (long-patch) BER заменяются 2–6 нуклеотидов в самом сайте и его окрестностях.

В отличие от этого, во время функционирования системы NIR AP-эндонуклеаза вносит одноцепочечный разрыв у 5'-конца поврежденного нуклеотида, а образовавшийся 3'-конец ДНК используется далее ДНК-полимеразой для инициации синтеза ДНК с последующим удалением поврежденного нуклеотида [223, 224].

Система MMR обеспечивает удаление ошибочно включенных в ДНК нуклеотидов (в том числе из внутриклеточного пула нуклеотидов, модифицированных мутагенами), которые избежали корректирующего действия ДНК-полимеразы [191, 225]. Белки MMR распознают ошибочно спаренные нуклеотиды ДНК и взаимодействуют с ними, инициируя исправление ошибки, а также выступая в качестве сенсоров повреждений ДНК, активируя в случае необходимости точки контроля клеточного цикла (cell cycle checkpoints) или при значительных повреждениях ДНК апоптоз поврежденных клеток.

Ни одна из вышеперечисленных систем защиты геномной ДНК не обладает абсолютной эффективностью (см., например, [217]). Поэтому в процессе репликации поврежденные нуклеотиды ДНК в дочерних цепях могут замениться на другие – мутантные, то есть премутации воспроизводящегося генома превращаются в мутации.

Поли(ADP)-рибозилирование является еще одним важным биохимическим процессом, оберегающим целостность эукариотического генома (обзоры [226–229]). Эту реакцию рассматривают как посттрансляционную модификацию белков линейными и разветвленными гомополимерными цепями, построенными из остатков ADP-рибозы, осуществляемую полимеразой поли(ADP-рибозы) (PARP), которые используют NAD^+ в качестве субстрата (источника мономера). В ответ на повреждения ДНК γ -облучением, алкилирующими агентами или АФК уровень ADP-рибозы возрастает в клетках животных более чем в 500 раз, что является одним из первых ответов клетки на генотоксическое воздействие. Одновременно комплексы PARP с ДНК привлекают к себе ферменты репарации ДНК, которые восстанавливают ее повреждения. В соответствии с развиваемой нами концепцией о защитной роли некодирующей ДНК, мы предполагаем, что первичной функцией остатков поли(ADP-рибозы) в ядрах может быть их прямое немедленное антимуtagenное действие как ловушек химических генотоксических соединений.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ РАЗМЕРОВ ГЕНОМА

В основе феномена вариативности размеров генома у животных и растений лежат несколько молекулярных механизмов, реализация которых приводит к структурным перестройкам генома. Данные механизмы не являются взаимоисключающими и часто дополняют друг друга. Так, полиплоидизация может приводить к активации (мобилизации) транспозонов, что, в свою очередь, нередко сопровождается хромосомными перестройками [230]. Ниже кратко рассмотрим некоторые из наиболее важных механизмов.

Полиплоидизация

Полиплоидизация (увеличение размера генома, кратное его гаплоидной части) наряду с сегментной дупликацией хромосом рассматривается в настоящее время в качестве основного и обычного события в эволюции генома высших растений и некоторых позвоночных животных [231, 232]. При этом происходит не возрастание размера генетических элементов генома, а увеличивается их общее число. Полиплоидия у цветковых растений возникает с высокой частотой (10^{-5}) [233] – 50–70% таких растений претерпели полиплоидизацию в процессе эволюционного развития, и данный процесс несколько раз повторялся в филогенезе многих растений [234–236]. Среди позвоночных животных частое возникновение полиплоидии отмечено у рыб и лягушек, но не встречается у представителей высших таксономических групп [237]. Более того, в 10% случаев полиплоидия является причиной спонтанных абортос у человека [238].

Широкое распространение полиплоидии в природе указывает на то, что полиплоиды, по-видимому, обладают селективными преимуществами перед их диплоидными предками [237]. К ним, в частности, могут быть отнесены непрерывный гетерозис как следствие возникновения новых комбинаций генов, и высокая изменчивость в результате первоначальной дестабилизации полиплоидных геномов, обеспечивающая адаптивность полиплоидного организма.

Сегментные дупликации, вставки и делеции

Наряду с полиплоидизацией обычным явлением в эволюции геномов являются и локальные изменения числа копий НП отдельных участков (сегментов) генома, получивших название сегментных дупликаций или малокопийных повторов (число копий – не менее двух, длина – от 1 до >200 т.п.н., гомология – 90–100%) [239, 240]. В частности, сегментные дупликации занимают ~5% генома человека, а также ~2% и ~3% в геномах мышей и крыс, соответственно [241, 242]. У растений, в отличие от других эукариотических организмов, дуплицированные локусы составляют значительную часть генома.

Считается, что тандемные (следующие друг за другом) дупликации, приводящие к изменению размера генома, возникают в результате неаллельной гомологичной рекомбинации (неравного кроссинговера) и ошибок репликации [243]. В соответствии с этим, у растений с большими геномами рекомбинация в мейозе происходит чаще [244]. Поскольку экспансия генома является редким событием по сравнению с обычной гомологичной рекомбинацией, можно предполагать, что более высокая общая частота рекомбинаций у растений с боль-

шим размером генома может чаще приводить к ошибочным рекомбинациям в виде неравного кроссинговера, необходимого для увеличения размера генома по этому механизму.

Ни один из вышеупомянутых механизмов не объясняет того факта, что многие сегментные дубликации распределены в геноме животных неслучайным образом (это имеет место, в частности, у приматов [245]). В целом же в экспансии блоков НП в геноме задействованы как механизмы, не основанные на гомологии НП, так и механизмы гомологичной рекомбинации.

Активность транспозонов

Одним из наиболее важных факторов увеличения размера генома является амплификация LTR-содержащих транспозонов, уровень и спектр активности которых сильно различаются у разных видов. В ряде случаев количество транспозонов в геноме может возрастать на 20–100 копий (~0,1–1,0 м.п.н.) за одну генерацию [246]. При этом основной вклад в экспансию генома разных видов могут вносить разные семейства транспозонов [247]. В некоторых случаях, как например у дикого риса *Oryza australiensis*, активность нескольких семейств LTR-содержащих транспозонов за короткий промежуток времени обеспечила увеличение размера генома до современного уровня. У кукурузы, к такому же, но еще более внушительному результату (удвоению размера генома), привела непрерывная активность большого количества разнообразных семейств транспозонов на протяжении последних нескольких млн лет [246, 248].

Замечательным следствием активности L1-транспозонов является интеграция (ретротранспозиция) НП из пула зрелых мРНК клетки (через копии кДНК) в новые генетические локусы генома [42]. Полагают, что именно в результате LINE-1-зависимой обратной транскрипции мРНК и последующего встраивания в геном образовавшейся кДНК, в геноме млекопитающих возникло более 4000 безинтронных копий клеточных псевдогенов. При этом около 1/3 таких псевдогенов транскрибируются [249].

Скорости удаления геномной ДНК, приводящего к уменьшению размера генома, также сильно различаются у разных видов растений. Так описаны значительные межвидовые различия в эффективности использования для этих целей механизмов незаконной рекомбинации и неравного кроссинговера [250, 251]. В целом складывается впечатление, что такого рода процессы могут обеспечивать наблюдаемые межвидовые различия в размерах и структуре геномов за промежутки времени, требуемые для осуществления филогенеза анализируемых видов растений.

Приобретение новых генов

Дубликации генных НП, хотя и менее масштабные, чем описанные выше, рассматриваются в качестве одного из ключевых механизмов, лежащих в основе возникновения генов с новыми функциями и увеличения кодир. части генома [252]. Такое удвоение числа копий короткой НП, в основе которой лежит мейотический неравный кроссинговер, может затрагивать участок (домен) гена, весь ген целиком, или сегмент хромосомы с расположенным в нем геном. Вслед за дубликацией в одной из копий гена часто начинают накапливаться мутации, которые приводят к быстрой дивергенции удвоившихся НП [4]. При этом большинство мутаций являются вредными и инактивируют новую копию гена, что в конце концов приводит к возникновению псевдогена. Однако в редких случаях мутантный ген может приобрести новую функцию.

Предполагается, что именно дубликации генов и целых геномов лежат в основе повышения фенотипической сложности эволюционирующих видов [253]. В частности два раунда дубликаций целого генома последнего общего предка позвоночных животных привели к увеличению общего числа генов от ~15 000 до ~60 000, как это характерно для современных животных. Это позволило сформулировать эволюционное правило «один к четырем», в соответствии с которым современные позвоночные в большом числе случаев содержат по четыре копии конкретных генов [254, 255]. У рыб (одной из наиболее многочисленных а, следовательно, успешных в эволюционном плане групп позвоночных) данное правило было затем изменено до правила «один к восьми» [256].

Билет в две стороны

Эволюционные преобразования биологических видов сопровождаются двунаправленными изменениями размеров генома – имеет место и его увеличение, и сжатие [257]. Если значительное увеличение размеров генома легко объяснить, в частности, дубликациями НП и активностью транспозонов, то его уменьшение обеспечивают менее понятные механизмы (обзор [258]). Анализ первичной структуры современного генома небольшого размера у *Arabidopsis* показывает, что уменьшение его размеров после полиплоидизации сопровождалось неслучайным удалением дублицированных генов и высокоспецифическим избирательным увеличением протеома (всей совокупности белков) этого растения [259, 260]. Отмечена связь вероятности задержки или удаления дублицированного гена из полиплоидного генома с его функцией.

В целом, как увеличение, так и уменьшение размера генома с участием вышеперечисленных молекулярных механизмов является хорошо доказанным фактом филогенетического развития биологических видов и служат предметом интенсивных исследований. Эта группа явлений иллюстрирует одно из глобальных проявлений мутагенеза у эукариот, приводящего к возникновению крупных перестроек генома – геномных, хромосомных и генных мутаций. Не менее важную роль в эволюции генома эукариот играют и значительно более часто возникающие точковые мутации, небольшие делеции и вставки, происходящие вследствие эндогенного мутагенеза. Конечные результаты действия глобального мутационного процесса отражены в размерах геномов современных биологических видов.

IV. РАЗМЕРЫ ГЕНОМА ЭУКАРИОТ

Размер генома является одной из надежных таксономических характеристик биологического вида [261]. В 1948 г. Р. и К. Вендерлеи сформулировали гипотезу «о постоянстве содержания ДНК», в которой подчеркивали неизменность ее содержания во всех клетках организма одного биологического вида [262], (цит. по [261]). Для проверки этой гипотезы вскоре было измерено содержание ДНК в клетках разных тканей нескольких животных (лягушка, мышь и кузнечик) и растений (традесканция и кукуруза) и разработана концепция «значения *C*» (*C*-value), в соответствии с которой $1C$ соответствовал размеру гаплоидного генома [263, 264]. В своем обзоре Т.Р. Грегори подчеркивает, что в случае диплоидных геномов большинства животных и, возможно, меньшинства растений термины «размер генома» и «значение *C*» совпадают [261]. Сложнее обстоит дело с недавно возникшими полиплоидными растениями, поскольку у них $1C$ включает более одного генома. Детальный анализ смысла терминов «размер генома» и «значение *C*» сделан в недавнем обзоре, целиком посвященном этому вопросу [1].

Кажущееся внутривидовое постоянство размера генома и колоссальные межвидовые различия по этому параметру, не коррелирующие с фенотипической сложностью вида, привело к формулировке «парадокса *C*», который в настоящее время разрешен (см. Введение). Однако до настоящего времени непонятен биологический смысл данного феномена и эволюционные силы, контролирующие поддержание различий в размерах геномов живых организмов, что делает данное явление одной из интригующих загадок современной генетики и биологии в целом.

МЕЖВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РАЗМЕРАХ ГЕНОМА
ЖИВОТНЫХ И РАСТЕНИЙ

Проблема межвидовых различий в размерах генома в настоящее время интенсивно исследуется. В свободном доступе имеется три независимых базы данных по размерам генома, которые заключают в себе сведения о более чем 10 000 видов растений (www.kew.org/genomesize/homepage.html), животных (www.genomesize.com) и грибов (www.zbi.ee/fungal-genomesize/).

Данные о размерах геномов у живых организмов суммированы на рис. 3. Общим правилом оказалось, что лишь небольшое число представителей какого-либо таксона животных и растений обладает чрезвычайно большими геномами [261]. Так, у растений в группы с большими геномами попадают отдельные представители папоротников и однодольных, а также многие виды голосеменных растений. Тем не менее, размеры геномов и в других таксономических группах растений варьируют в очень широких пределах. Даже геномы диплоидных злаков (а злаки лишь недавно, 50–80 млн. лет назад, отделились от общего предшественника, то есть имеют монофилетическое происхождение) различаются по своим размерам более чем в 30 раз [265].

У позвоночных животных особенно большими геномами обладают представители хрящевых и двоякодышащих рыб, а также амфибий (особенно саламандры). Для многочисленной группы животных, в которую попадают млекопитающие, птицы, рептилии, костистые рыбы, характерна значительно меньшая вариабельность в размерах генома. Большие геномы характерны для прямокрылых насекомых (кузнечики) и ракообразных (некоторых видов креветок). Геномы наиболее крупных порядков насекомых (*Coleoptera* (жуки), *Diptera* (мухи) и *Lepidoptera* (моли – бабочки)) компактны и характеризуются малым разбросом по размерам. Геном моллюсков, которые столь же многочисленны, как и ракообразные, очень компактен и его размер не превышает 6 пг.

У животных имеет место ~3300-кратный размах межвидовых различий размера генома, что заметно выше, чем у наземных растений. Для последних отмечены «всего лишь» ~1000-кратные различия (от 0,11 пг до 127,4 пг) [11, 261]. Однако размеры наименьшего генома водоросли и наибольшего генома покрытосемянных растений различаются более чем в 8500 раз. У животных наименьшим из обнаруженных геномов обладает беспозвоночное *Trichoplax adhaerens* (тип Пластинчатые – *Placozoa*) (0,04 пг), организм которого построен из клеток только четырех типов. Самым большим из известных геномов (~132

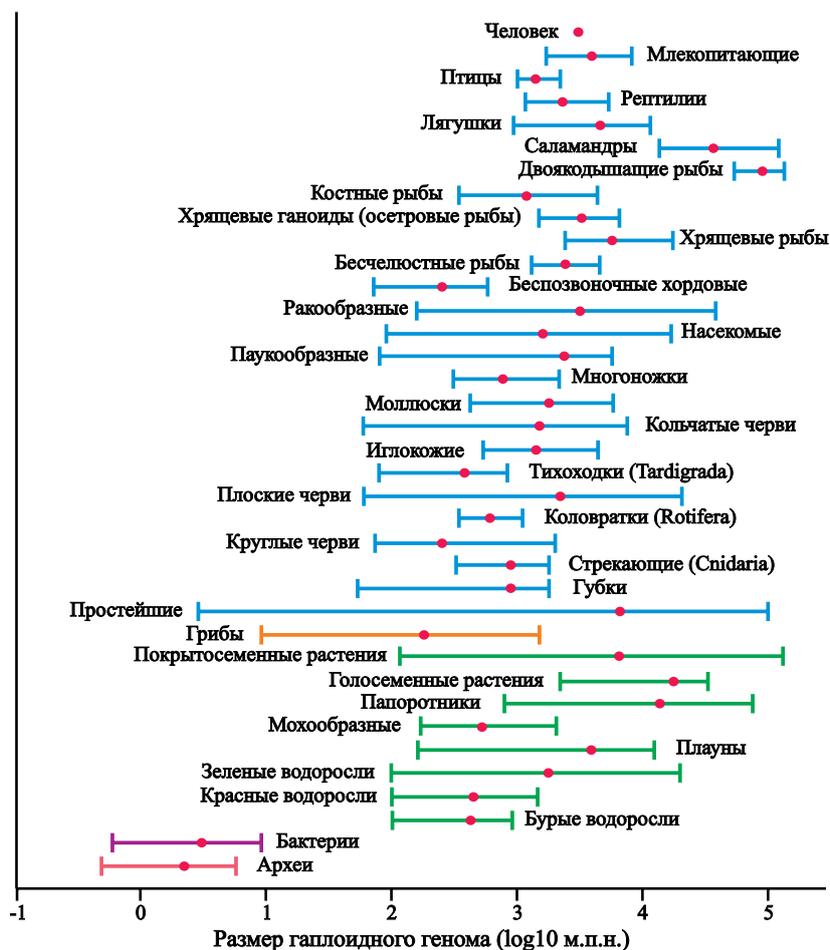


Рис. 3. Различия в размерах геномов у представителей разных таксономических групп живых организмов (по [370]). Точками обозначены средние значения размера генома в соответствующих группах организмов.

пг) обладает мраморная двоякодышащая рыба *Protopterus aethiopicus* (для сравнения размер генома человека составляет ~3,5 пг).

Одним из самых маленьких геномов у хордовых животных обладает оболочечник *Oikopleura dioica* (0,07 пг), а у позвоночных – рыбы-иглобрюхи (pufferfishes) семейства *Tetraodontidae* (0,5 пг), что доводит различия в размерах геномов в этих таксономических группах до 1800- и 330-кратных, соответственно. Различия в размерах генома у

беспозвоночных приближаются к последнему значению (340-кратные у плоских червей, 240-кратные – у ракообразных, 190-кратные у насекомых) и значительно меньше у аннелид (125-кратные), паукообразных (70-кратные), нематод (40-кратные), моллюсков (15-кратные) и иглокожих (9-кратные).

Анализируя тенденции в предполагаемых путях эволюции размеров генома у наземных растений, реконструированных на основании анализа этих параметров у более чем 4500 видов, И. Лейч с соавт. выделяют следующие характерные черты данного явления [11]. Размеры предполагаемых геномов-предшественников у покрытосемянных растений и мохообразных характеризуются очень малым размером ($\leq 1,4$ пг), тогда как для генома-предшественника голосеменных растений и папоротников характерны промежуточные размеры (3,5–14,0 пг). При этом имеющиеся данные указывают на то, что в процессе эволюции геномов могло происходить как увеличение, так и уменьшение их размеров, что относится к большинству групп исследованных наземных растений. В целом наблюдаемые различия в размерах генома у растений хорошо коррелируют с их эволюционным происхождением [266].

Попытки достигнуть понимания путей эволюции размеров генома привели в 1976 г. А. Спарроу и А. Ньюмана к выдвижению гипотезы о том, что современные геномы представителей всех таксонов являются продуктами последовательного удвоения в размерах минимальных геномов-предшественников [267]. Было сформулировано так называемое правило дискретного строения современных геномов. Оно не является общим, но было подтверждено для некоторых групп организмов, в частности, нескольких родов растений [268–271], включая отдельные водоросли [272]. Суть этого правила состоит в том, что у организмов, относящихся к одному роду, изменяется дискретным образом не размер минимального генома путем его последовательных удвоений, а значение C , характерное для генома с наименьшими размерами. В частности, у 20 исследованных растений рода *Tephrosia* размер генома изменяется от 1,3 до 7,4 пг с шагом в 0,74 пг, что приблизительно соответствует половине размера минимального генома в этой группе [273].

Подобные примеры дискретного изменения размеров генома характерны и для некоторых групп беспозвоночных [274–277]. Особенно показательным является ряд размеров генома, обнаруживаемый у веслоногих ракообразных родов *Calanus* и *Pseudocalanus*, в котором размеры изменяются с шагом ~ 2 пг от 2,25 пг до 12,5 пг [276, 278, 279]. И хотя, как уже говорилось выше, обсуждаемое правило

дискретности выполняется не всегда, оно может иллюстрировать один из конкретных путей эволюции эукариотического генома, механизм реализации которого еще предстоит выяснить.

Как уже неоднократно упоминалось, большие размеры геномов связаны, главным образом, с высокой представленностью в них некодир. НП (табл.). Кодир. НП (гены) также вносят свою лепту в загадку С, хотя и в меньшей степени. В той же таблице приведены примеры содержания генов в геномах некоторых эукариот, из которых следует отсутствие четкой корреляции между содержанием в геноме кодир. НП и биологической сложностью соответствующего вида [252].

ВНУТРИВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В РАЗМЕРАХ ГЕНОМА

Отмеченные выше большие межвидовые различия в размерах генома длительное время противопоставлялись неизменному размеру генома конкретного биологического вида. Действительно, высокая видовая стабильность размера генома, по-видимому, является общим правилом. Например, исследование размера генома в популяциях лука *Allium cepa* на четырех континентах выявили его замечательную стабильность [206]. В ряде случаев появление информации о внутривидовых различиях в размерах генома в конечном счете объяснялось артефактами, связанными с методиками определения содержания ДНК в клетках и наличием криптических подвидов у исследуемых организмов [280–282].

Постепенно становилось ясным, что факт наличия значительных внутривидовых различий в структуре генома, а также различий между очень близкородственными видами действительно имеет место. Внутривидовые различия в содержании геномной ДНК особенно характерны для генома растений, который часто рассматривается как «текущий», находящийся в состоянии постоянного изменения [283]. В частности, сравнение первичной структуры трех участков генома у двух инбредных линий кукурузы общей длиной 2,3 м.п.н. обнаружило отсутствие сходства (колинеарности) более чем в 50% секвенированных НП [284]. Внутригеномное содержание мобильных генетических элементов, относящихся к некоторым семействам, может значительно изменяться у биологических видов и даже их локальных популяций. Так, число копий ретротранспозона *BARE-1* в геноме отдельных представителей дикого ячменя *Hordeum spontaneum*, произрастающих в разных экологических условиях в Израиле, различается, по крайней мере, в 3 раза (от 8,3 до $22,1 \times 10^3$ на гаплоидный геном) [285]. При этом большее содержание транспозонов отмечено у растений, обитающих в более высоких и сухих местах, то есть в условиях повышенного стресса.

Хорошо документированы также различия в содержании геномной ДНК у представителей различных линий и сортов кукурузы [286]. В частности, отмечены количественные различия в структуре гетерохроматиновых участков генома кукурузы, выявляемые на цитогенетическом уровне [287]. Часть таких различий связана с разной представленностью в геноме дополнительных В-хромосом. Интенсивное исследование размера генома в 47 популяциях москита *Aedes albopictus* выявило его 2,5-кратные различия [288]. Значительные внутривидовые различия недавно были обнаружены в популяциях восьми видов *Drosophila* [289]. Такого рода данные вносят определенные затруднения в использование размера генома в качестве таксономического признака [290]. Большое число примеров внутривидовой изменчивости размеров генома и критический анализ такого рода информации можно найти в недавних обзорах Т.Р. Грегори [261, 291].

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ, СВЯЗАННЫЕ С РАЗМЕРОМ ГЕНОМА

Несмотря на колоссальные различия в размерах генома, разнообразие фенотипов, связанных с размерами генома, выявляемых на морфологическом, физиологическом или молекулярном уровне не столь разительно и во многих случаях неопределенно. Лишь небольшое число количественных фенотипических признаков четко связано с размером генома. Ниже кратко рассмотрены некоторые наиболее яркие из известных примеров.

Размер клеток и размер ядер

Сильная положительная корреляция между размером генома и размером клеток у позвоночных животных была обнаружена более 50 лет назад [12]: ее наличие было подтверждено для растений и одноклеточных эукариот (см. обзоры [9, 275]). Явление увеличения размера клеток и всего организма у растений-полиплоидов с ростом плоидности генома хорошо известно селекционерам.

Объем клеток оказывает влияние на многие физиологические параметры организма, его приспособленность к среде обитания, а следовательно является фенотипическим признаком, на который направлено давление отбора. Отношение поверхности клеток к их объему оказывает существенное влияние на обмен клеток веществом и энергией с окружающей средой и их метаболизм, регулируемый на генетическом уровне через экспрессию генов [292]. В этой связи объем клеток является тщательно контролируемым признаком, особенно, у многоклеточных организмов. Количественно связь между размером

генома (значением C) и объемом клеток описывается следующей формулой: $V = kC^{\alpha}$, где k – константа, а α определяет наклон кривой, описывающей отношения между V и C в логарифмической шкале и зависит от групп рассматриваемых организмов.

Объем клеточных ядер у животных и растений также хорошо коррелирует с размером генома, а, следовательно, и с объемом клеток, обладающих данными ядрами. Т. Кавалье-Смит описывает соотношение объема ядра и содержания в нем ДНК следующей формулой: $V = aHpsC$, где a – универсальная константа, зависящая только от единиц измерения, H – отношение суммарного объема хроматина (ДНК + белки) к объему занимаемому чистой ДНК, s – коэффициент набухания хроматина (отношение объема хроматина в интерфазе к таковому в телофазе клеточного цикла), p – плоидность генома, а C – его размер [9]. Причины такой корреляции в целом понятны. В частности, эффективное выполнение клетками своих функций требует определенного потока мРНК, экспортируемой в цитоплазму через ядерные поровые комплексы, количество которых зависит от размера поверхности ядра. Крупные клетки требуют большего потока РНК, а также аппарата, осуществляющего ее синтез и процессинг, и, следовательно, размера ядер. С другой стороны, обеспечение функциональности крупных ядер требует более масштабной работы компонентов цитоплазмы, количественных и качественных изменений их состава. В этой связи отношения объемов ядра и цитоплазмы эукариотических клеток (кариоплазматические отношения) эволюционно оптимизированы [9, 293].

Продолжительность клеточного цикла

В дополнение к рассмотренным отношениям между размером генома и объемом эукариотических клеток у различных организмов выявлена четкая положительная корреляция между размером генома и продолжительностью клеточного цикла (обзор [10]). Возрастание размера генома не только приводит к увеличению времени репликации ДНК в S-фазе, но и сопровождается увеличением продолжительности G1-фазы. Хотя соотношение между размером генома и продолжительностью мейоза количественно соблюдается внутри отдельных групп организмов, эти отношения являются более сложными. Для животных, как правило, характерна большая продолжительность мейоза, чем для растений с эквивалентным размером генома, а у млекопитающих мейотическое деление клеток происходит дольше, чем у амфибий и насекомых. При этом геном животных значительно меньше генома амфибий, но не всех

насекомых. Интересно, что полиплоидные растения часто характеризуются меньшей продолжительностью мейоза, чем соответствующие диплоидные виды.

Скорость роста и минимальное время генерации

Несколько исследований выявили у растений отрицательную зависимость между размером генома и относительной скоростью роста, а также положительную корреляцию между размером генома и временем их генерации (дни до цветения или возраст начала цветения или плодоношения) [294–296]. Эти факты находятся в соответствии с распространенностью растений. Действительно, виды, которые растут быстро и воспроизводятся в более короткие промежутки времени, имеют больше шансов к более широкому распространению в данной экологической нише [297].

Гибридные линии кукурузы с более высоким содержанием геномной ДНК, чем у родительских линий, как правило, характеризуются отсутствием гетерозиса [298]. Сравнение различных линий кукурузы с учетом размера их генома показывает, что содержание геномной ДНК негативно коррелирует с ростом и урожайностью линий [286]. В соответствии с данными, приведенными в предыдущем абзаце, отбор кукурузы на способность к раннему цветению, а следовательно и более быстрому развитию, сопровождается уменьшением размера генома [299]. Похожие результаты были получены для кормовых бобов *Vicia faba* [300]. У этих растений увеличение размера генома сопровождается уменьшением размера растений во взрослом состоянии и зеленой массы в период цветения.

Количественные признаки на уровне органов и тканей

Размер генома иногда коррелирует и с развитием других сложных признаков. Например, семена, как правило, крупнее у растений с бóльшим размером генома, что особенно характерно для растений с самыми большими геномами [обзоры 295, 301]. Это отмечено, в частности, для *V. faba* [300], а также в систематическом исследовании 1220 видов растений [301]. В последней работе авторы связывают увеличение размеров семян с возрастанием размера клеток как следствие наличия у них геномов бóльших размеров.

Скорость деления клеток и их размер могут оказывать значительное влияние на морфологию листьев растений. Одним из количественных признаков, используемых для характеристики растений, является удельная площадь листа (specific leaf area – SLA), которая определяется как отношение площади листа к его массе. Сравнение

по этому признаку 67 видов растений выявило отрицательную корреляцию между размером генома и SLA – растения с низкими значениями SLA, характерными для небольших толстых листьев, как правило, обладают большими геномами. Ассоциированность между значениями SLA и размером генома подробно исследована и в других работах [обзор 18, 295, 301–306].

Морфологическая сложность и продолжительность эмбрионального развития у амфибий. Морфологическая организация мозга позвоночных различается в значительной степени, в том числе, по типам нервных тканей и сложности связей между отдельными клетками. Отмечалось, что морфологическая сложность отдельных участков мозга саламандр, у которых мозг устроен проще, чем у лягушек, коррелирует с размером клеток, из которых они построены [307]. При этом лягушки с небольшим размером клеток и меньшим геномом обладают более сложно устроенным мозгом [307].

Исследование сложных признаков у 15 видов безлегочных саламандр семейства *Plethodontidae* в связи с размерами их генома было продолжено путем сравнения этого признака с продолжительностью эмбрионального развития [51, 308]. Было установлено, что размер генома у этих животных положительно коррелирует с исследуемым признаком.

Эволюция и экология. Обнаружена слабая отрицательная зависимость между числом видов в роде и размером генома [295, 309]. Это может указывать на то, что растения с большими геномами менее изменчивы, имеют меньший потенциал к видообразованию и больший риск вымирания в процессе эволюции. В соответствии с этим имеются указания на то, что виды растений с небольшими геномами встречаются во всех широтах и на высокогорье, тогда как растения с большими геномами избегают экстремальных условий существования (обзоры [295, 310]).

Из всего изложенного в этом разделе обзора следует, что с размером генома у эукариот коррелирует большое число количественных признаков. В настоящее время не вполне понятны механизмы, лежащие в основе формирования сложных признаков организма. Такие количественные признаки определяются координированным функционированием большого числа генов, располагающихся в участках генома, известных как локусы количественных признаков – QTL (quantitative trait loci) [181]. Генетическая архитектура сложных полигенных признаков определяется количеством генов в QTL, их индивидуальным вкладом в формирование признака, положением генов на хромосоме, а также их взаимодействием друг с другом и факторами окружающей среды [311]. С учетом всего этого, а

также того, что функции большинства НП крупных эукариотических геномов неизвестны, можно заподозрить упрощение в интерпретации выявленных прямых корреляций между размером генома и соответствующими фенотипическими признаками. Такие «корреляции» могут оказаться далекими от причинно-следственных отношений.

У. НА ПУТИ К ОБЪЯСНЕНИЮ «ЗАГАДКИ С»

Причины, определяющие различия в размерах генома эукариот, пока не ясны. Интенсивные исследования «загадки С» сопровождаются попытками ее объяснения. Большинство гипотез и теорий, обсуждаемых в настоящее время, можно разделить на две большие группы: 1) теории, рассматривающие негенную ДНК как избыточную, не несущую определенных функций и 2) теории, закрепляющие за негенной ДНК адаптивные функции.

ТЕОРИИ НЕФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ИЗБЫТОЧНОЙ ДНК

В теориях нефункциональной избыточной ДНК подразумевается, что доля негенной ДНК в эукариотическом геноме изменяется *случайным образом* под давлением мутационного процесса. Ее содержание в геноме может возрастать до тех пор, пока избыток нефункциональных НП не начинает оказывать вредного влияния на клетку и организм в целом.

Бесполезная ДНК (junk DNA)

С. Оно был одним из первых, кто высказал предположение о происхождении некодир. НП в геноме эукариот, обозначив их как обломки ранее функционировавших генов: «Наш геном, по-видимому, несет в себе следы побед и поражений прошлых экспериментов природы» [312] (цит. по [10]). В соответствии с этой концепцией, некодир. НП рассматриваются в прямом смысле как обломки и «мусор», захламляющие геном (junk DNA). Хотя инактивированные мутациями гены (псевдогены) действительно встречаются в геноме, они представляют лишь небольшую часть всей некодир. ДНК и могут выполнять определенные функции (см. выше). Позднее термином «бесполезная ДНК» стали обозначать любую некодир. ДНК без определенных функций, и этот термин в разном контексте используется до настоящего времени (см. например [283, 308]). Теории «бесполезной ДНК» указывают на то, что в отсутствие постоянного давления отбора, направленного на элиминацию избыточных НП,

эукариотический геном имеет тенденцию случайным образом увеличиваться в размерах. И это происходит до тех пор, пока клетки будут в состоянии переносить груз избыточной ДНК.

Дальнейшим развитием группы теорий нефункциональной избыточной ДНК было появление концепции «эгоистичной ДНК».

Эгоистичная ДНК (selfish DNA)

Чистые теории бесполезной ДНК предполагают действие естественного отбора лишь на одном этапе эволюции эукариотического генома: в качестве силы, ограничивающей случайное увеличение его размеров сверх оптимального. В теориях «эгоистичной ДНК» подчеркивается, что отбор по фенотипу на уровне целого организма не является единственной эволюционной силой, формирующей эукариотический геном. К тому же такой отбор лишь косвенно влияет на структуру геномной ДНК. Клетки создают для ДНК среду обитания, в которой ДНК существует [313]. Если мутации повышают вероятность сохранения в клетке конкретных НП без влияния на фенотип целого организма, такие НП будут неизбежно увеличивать свою представленность в геноме, демонстрируя свою единственную «функцию» – самосохранение, – а также свою паразитическую («эгоистическую») природу. Независимые реплицирующиеся молекулы (репликаторы), которые обладают большей эффективностью репликации, будут преобладать над своими менее эффективными конкурентами и увеличивать представленность в геноме [34]. При этом предложено различать независимую от первичной структуры «тупую» (ignorant) амплификацию НП генома и «эгоистичную» – зависимую от первичной структуры НП.

Одной из эволюционных сил, ограничивающих общий размер генома, является энергетический груз, возникающий из-за необходимости воспроизведения избытка ДНК. В концепции «эгоистической ДНК» предполагается, что действие очищающего отбора в отношении избыточных НП по непонятным причинам ослаблено и не может противостоять постоянному увеличению размера генома под влиянием транспозонов и других генетических механизмов. Верхний предел размера генома определяется способностью вида переносить такую дополнительную нагрузку на метаболизм, что в свою очередь, зависит от стиля жизни биологического вида и условий его взаимодействия с внешней средой. Увеличение содержания в геноме бесполезных для организма НП ДНК сравнивают с размножением паразита, который не оказывает вредного действия на организм хозяина. Время от времени избыточная паразитическая

ДНК может приобретать генетические функции, несвойственные ей изначально, в том числе и функции нуклеоскелета (см. ниже теорию нуклеоскелета Т. Кавалье-Смита). Поэтому граница между понятиями «эгоистическая», «паразитическая» ДНК и «ДНК-эндосимбионт», который выполняет полезные функции, не является четко очерченной.

Многочисленные варианты теории избыточной ДНК генома эукариот различаются, главным образом, предполагаемыми механизмами возникновения избыточности. В ранних дискуссиях по поводу концепции «эгоистичной ДНК» предпринимались попытки, не меняя существенно смысла гипотезы, изменить термин и называть «нефункциональные» НП «случайной ДНК» (incidental DNA) [314]. В данном подходе «избыточные» НП рассматриваются в качестве побочного продукта внутренне присущего геному свойства изменчивости (мутабильности), поддержание которой обеспечивается естественным отбором. Появление «избыточных» повторяющихся НП рассматривается как результат действия естественного отбора на поддержание изменчивости генома как таковой.

Теории «эгоистичной ДНК» предполагают наличие свободной конкуренции между повторяющимися НП в процессе их самовоспроизведения за максимальную представленность в геноме. Предпринимаются попытки рассматривать геном эукариот в виде своеобразной экосистемы, в которой сосуществуют и конкурируют за выживание различные семейства транспозонов (аналоги биологических видов) [315, 316]. Под этим углом зрения сложившиеся соотношения между НП эукариотического генома рассматриваются как симбиоз НП.

Неприменимость такого рода подходов для описания эукариотического генома связана, на наш взгляд, с тем, что активность транспозонов и экспансия других НП находится под строгим контролем клетки. Данная ситуация исключает свободную конкуренцию НП друг с другом, как это имеет место в природных экосистемах или искусственных сообществах биологических видов, в которых конкуренция разрешена человеком. Ситуацию, складывающуюся в эукариотическом ядре, в большей степени можно сравнить с зоологическим или ботаническим садом, где хищники и их жертвы посажены по разным клеткам, а сорняки и культурные растения существуют раздельно благодаря усилиям сельскохозяйственных рабочих. Стоит лишь ненадолго ослабить контроль, и в таких искусственных экосистемах наступит хаос, который быстро превратит эту изящную искусственную систему в природную, организованную совсем на других принципах.

Одним из критериев ненужности (избыточности) ДНК является возможность ее удаления из генома без видимых фенотипических последствий для организма [317]. В соответствии с этим, недавно было продемонстрировано, что организм мыши «не замечает» удаления протяженных некодир. НП [318]. В этих экспериментах техникой генного нокаута были удалены две НП длиной в 1817 т.п.н. (хромосома 3) и 983 т.п.н. (хромосома 19), которые не содержат выявляемых обычными методами генов и имеют ортологичные НП приблизительно того же размера в геноме человека. При сравнении этих участков геномов мыши и человека было обнаружено в общей сложности 1243 консервативных НП длиной >100 п.н. с гомологией 70%. Эти данные позволили авторам сделать вывод о наличии действительно «избыточной ДНК» в геноме млекопитающих. Такой прямолинейный подход к оценке функциональной значимости НП является, на наш взгляд, упрощением. Разработанная нами модель предлагает другую интерпретацию этих интересных результатов.

ТЕОРИИ АДАПТИВНОЙ НЕГЕННОЙ ДНК

В отличие от теорий нефункциональной ДНК, в которых подчеркивается не ограниченный, до определенного предела случайный характер изменений ее содержания в геноме под действием мутаций, теории адаптивной негенной ДНК предполагают наличие давления естественного отбора, направленного на поддержание сложившихся соотношений между кодир. и некодир. НП генома. Эта группа теорий подразумевает наличие причинно-следственной связи между размером генома и функционированием остальных систем эукариотического организма. Соответственно, случайные изменения в содержании некодир. ДНК, эволюционно закрепляются в геноме, если они способствуют выживанию биологического вида.

ДНК в роли нуклеоскелета и концепция нуклеотипа

В обзоре 1964 г. Б. Коммонер приходит к выводу о двойственной роли эукариотической ДНК в наследственности [319]. Согласно его концепции, с одной стороны, ДНК, входящая в состав эухроматина, обеспечивает проявление фенотипических признаков на качественном уровне в соответствии с генетическим кодом. С другой стороны, ДНК гетерохроматиновых участков генома, в соответствии с гипотезой депонированных нуклеотидов (*nucleotide sequestration hypothesis*), вне зависимости от последовательности ее нуклеотидов, оказывает количественное влияние на клетки, а именно, на их размер, скорость метаболизма и продолжительность генерации. В соответствии с этим,

суммарное увеличение количества нуклеотидов во внутриклеточной ДНК требует увеличения аппарата клетки, необходимого для ее воспроизводства, что оказывает влияние на многие другие внутриклеточные процессы.

М.Д. Беннет указывает на то, что ДНК может выполнять скелетную функцию в организации интерфазного ядра, определяя его форму и размер, а также формулирует понятие нуклеотипа [294]. В отличие от фенотипа, нуклеотип – это совокупность признаков организма, которые определяются размером генома как таковым, но не особенностями его первичной структуры, то есть заключенной в нем генетической информации в традиционном смысле этого термина. Основываясь на этих ранних достижениях Т. Кавалье-Смит, начиная с 1978 г. разрабатывает теорию нуклеоскелетной функции ДНК у эукариотических организмов, целью которой является объяснение «парадокса С» [9, 320].

В современном варианте нуклеоскелетной теории во главу угла ставится объем соматических клеток эукариот, который определяется количеством ДНК, заключенной в ядрах этих клеток. Иными словами, объем клеток генетически детерминирован размером генома и является нуклеотипическим признаком биологического вида. Объем клеток, который, как и размер генома, различается у эукариот в ~300 000 раз, адаптирован к условиям существования вида и находится под давлением отбора. Изменение объема клеток под действием отбора неизбежно приводит к изменению объема ядра и размера генома, который этот объем определяет. Данная цепь причинно-следственных отношений между объемом клеток и размером генома определяет точку приложения естественного отбора к адаптивному фенотипическому признаку – размеру генома любого эукариотического организма.

Другие концепции адаптивной негенной ДНК

В гипотезе о пассивной *буферной роли* некодир. ДНК утверждается, что присутствие в эукариотических ядрах большого количества ДНК способствует поддержанию внутриядерного гомеостаза [321]. Это позволяет ядерным ферментативным системам лучше переносить флуктуации в ионном составе межклеточной жидкости и облегчает существование организма в экстремальных условиях. Кроме того, в соответствии с гипотезой, наличие такой ДНК обеспечивает контроль над внутриядерным содержанием и активностью взаимодействующих с ДНК ядерных белков.

Негенная ДНК как регулятор экспрессии генов. Во многих современных исследованиях предпринимаются попытки выявления у некодир. ДНК специфических генетических функций, связанных с регуляцией экспрессии генов. В недавнем обзоре Д.А. Шапиро суммированы данные об известных генетических функциях повторяющихся НП и приведены многочисленные примеры влияния повторов разных классов на генную активность [322]. Некоторые аспекты участия гетерохроматина в глобальной регуляции экспрессии эукариотических генов уже обсуждались нами выше.

Защитная роль гетерохроматина

Первыми предшественниками разрабатываемой нами модели были Д.Д. Юнис и У.Г. Ясмине, которые в 1971 г. обратили внимание на возможную роль гетерохроматина в защите генов от химических мутагенов [323]. В соответствии с их предположением, участки гетерохроматина, преимущественно построенные из сателлитных НП, могут защищать функционально-значимые внутриядерные органеллы (кинетохоры и области ядрышкового организатора) от вредных экзогенных воздействий, поскольку скопления гетерохроматина в то время обнаруживали преимущественно в окрестностях этих участков хромосом.

Спустя четыре года Т.С. Хсу, одобряя эту концепцию в принципе, разрабатывает гипотезу гетерохроматина-«телохранителя» (body-guard hypothesis) [324]. В соответствии с этой концепцией, гетерохроматин образует тонкий слой плотного вещества на периферии ядра непосредственно под ядерной оболочкой и таким образом выполняет роль защитника генов эухроматина от мутагенов, кластогенов (веществ, вызывающих разрывы хромосом) и даже вирусов. Изменчивость («пластичность») состава повторяющихся НП ДНК гетерохроматина и морфологическая гетерогенность гетерохроматиновых участков в кариотипе обнаруживают следы контактов ДНК с мутагенами («шрамы телохранителя») и отражают их способность к мутационным изменениям, которые не оказывают вредного влияния на организм. Разрывы хромосом, вызываемые повреждающими агентами, в частности, под действием митомицина С, распределяются неслучайным образом и чаще происходят в гетерохроматиновых участках.

В начале 1970-х годов, когда разрабатывались вышеупомянутые гипотезы, исследования структурно-функциональных отношений в геноме эукариот только начинались. Отсутствовала информация о соотношении кодир. и некодир. НП в разных геномах, их пространст-

венном расположении в интерфазных ядрах. Было неясно, от каких именно мутагенов организмы должны защищаться в первую очередь, т.е. в каких мутагенных условиях эукариотический геном эволюционировал и продолжает эволюционировать. На эти и некоторые другие вопросы дает ответ разработанная нами модель «альтруистичной некодирующей ДНК».

VI. АЛЬТРУИСТИЧНАЯ ДНК

В результате проведенных нами исследований разработана количественная модель, согласно которой некодир. НП генома эукариот формируют новую (третью) систему защиты кодир. частей генома от эндогенных мутагенов. В соответствии с моделью, эндогенные мутагены и их предшественники, поступающие в ядро через его поверхность, взаимодействуют с многочисленными внутриядерными макромолекулами и низкомолекулярными соединениями, в том числе и с нуклеотидами ДНК (как в кодир., так и некодир. частях генома) или нуклеотидами внутриядерного пула и дезактивируются. При этом количество поврежденных кодир. и некодир. нуклеотидов ДНК пропорционально их содержанию в ядре, то есть некодир. НП выступают в качестве дополнительных ловушек мутагенов, и выводят мутагены из внутриядерного пула. С возрастанием размера генома в филогенезе происходит увеличение размеров ядра, что само по себе является дополнительным защитным фактором. Поверхность ядра увеличивается медленнее, чем его объем, что снижает поток мутагенов на единицу ядерного объема. Некодир. ДНК генома эукариот ведет себя вполне «альтруистично», подставляя себя под удар вместо генов. Ниже более подробно рассмотрены основные положения предлагаемой модели, о которой нами сообщалось ранее [2, 325–327].

СООТНОШЕНИЕ КОДИРУЮЩЕЙ И НЕКОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТЕЙ ГЕНОМА ОПРЕДЕЛЯЕТ УРОВЕНЬ ЗАЩИЩЕННОСТИ ЕГО ГЕНОВ

На данном этапе моделирования будем рассматривать только три процесса – появление мутагенов в ядре, их взаимодействие с ДНК, в результате которого молекулы мутагенов инактивируются, а нуклеотиды, с которыми они реагируют, повреждаются, и репарацию поврежденных нуклеотидов.

Модель подразумевает, что химические мутагены могут появляться в ядре, проникая через ядерную мембрану в виде 1) реакционноспособных химических соединений (в частности, ксенобиотиков, прошедших метаболическую активацию) или 2) малоактивных

предшественников (промотагенов) (например, эндогенная H_2O_2) с последующей активацией вблизи нуклеотидов-мишеней (контакт с ионами переходных металлов – реакция Фентона). В последнем случае места повреждений нуклеотидов в ДНК будут определяться случайным внутриядерным положением места встречи промотагена и активирующего агента.

Внутри ядра мутагены могут вызывать первичные повреждения нуклеотидов двух типов, образуя аддукты либо непосредственно с нуклеозидами (азотистыми основаниями или остатками дезоксирибозы) ДНК, либо с нуклеотидами внутриядерного пула или их предшественниками в свободном состоянии [185, 328]. На данном этапе моделирования мы считаем, что включение модифицированных dNTP в ДНК из внутриядерного пула происходит стохастически по мере репликации ДНК, и вклад этих двух процессов в возникновение повреждений ДНК в данной модели суммируется.

При рассмотрении вклада систем репарации и антимутагенеза в восстановление химических повреждений ДНК и поддержание ее целостности пока не учитываются экспериментально обнаруженные различия скоростей репарации ДНК в разных (в том числе активно транскрибируемых и нетранскрибируемых) участках эукариотического генома [329].

На данном этапе моделирования принимается, что ядро имеет форму правильного шара, а ДНК, находясь в составе хроматина, распределена по его объему равномерно на протяжении большей части клеточного цикла. Оба предположения являются упрощением реальной ситуации. Из-за ограниченности экспериментальных данных, описывающих состояние генома в интерфазном ядре в целом, мы пока не учитываем особенности пространственной структуры отдельных внутриядерных микрокомпарментов и конкретных генетических локусов, определяемые, в том числе, разным уровнем конденсированности хроматина.

При обычном содержании мутагенов в ядре число событий, приводящих к повреждениям нуклеотидов ДНК с их участием, велико. По нашим оценкам (см. раздел об эндогенном мутагенезе), число поврежденных эндогенными мутагенами нуклеотидов в геноме человека в стационарном состоянии в среднем составляет $\sim 10^4 - 10^5$ при общем размере генома $\sim 3 \times 10^9$ нт. Поэтому переменные, описывающие содержание в ядре мутагенов и нуклеотидов (свободных и в составе ДНК), можно считать непрерывными. Для этих переменных мы ввели систему дифференциальных уравнений типа используемых в химической кинетике. Решение уравнений для стационарного состояния системы ядро-мутагены с учетом процес-

сов поступления мутагенов в ядро и репарации ДНК приводит к следующей зависимости доли поврежденных нуклеотидов в геноме β (отношение числа поврежденных нуклеотидов к общему числу нуклеотидов в геноме) от количества содержащейся в нем некодир. ДНК (подробные расчеты см. в наших работах [325, 326]):

$$\beta = v_M / (k_R (n_{CT} + n_{нCT})), \quad (1)$$

где v_M – скорость поступления мутагенов в ядро в расчете на единицу его объема, k_R – кинетическая константа процессов репарации, n_{CT} и $n_{нCT}$ – объемные концентрации кодир. и некодир. нуклеотидов в ядре.

Из формулы (1) следует, что доля поврежденных нуклеотидов β прямо пропорциональна скорости поступления мутагенов в ядро, а также обратно пропорциональна кинетической константе процессов репарации и концентрации всех нуклеотидов в геноме, как кодир., так и некодир. Присутствие в уравнении (1) члена, относящегося к кодир. нуклеотидам означает, что они также защищают друг друга – молекула мутагена, прореагировавшая с одним нуклеотидом, нейтрализуется им.

В расчетах нами учитывался тот факт, что при увеличении размеров ядра вследствие возрастания в нем содержания ДНК, объем ядра увеличивается быстрее, чем его поверхность. Это уменьшает поток экзогенных мутагенов в ядро на единицу его объема. Иными словами, некодир. ДНК не только нейтрализует молекулы мутагенов, но и снижает скорость их поступления на единицу объема ядра (поскольку ее наличие в геноме увеличивает объем ядра). Этот эффект описывается следующей формулой нашей модели:

$$\beta/\beta_0 = (1 + N_{нCT}/N_{CT})^{-4/3}, \quad (2)$$

где β/β_0 отношение долей поврежденных нуклеотидов в реальном геноме (β) и гипотетическом геноме, содержащем такое же количество генов, но совсем не содержащем некодир. ДНК (β_0), а $N_{нCT}$ и N_{CT} – соответственно общие числа некодир. и кодир. нуклеотидов в реальном геноме.

Из уравнения (2) следует, что существование некодир. части в геноме усиливает защитный эффект кодир. части в $(1 + N_{нCT}/N_{CT})^{4/3}$ раз. При $N_{нCT} \gg N_{CT}$ это выражение $\approx (N_{нCT}/N_{CT})^{4/3}$. Здесь единица в показателе степени имеет «объемное» происхождение (за счет нейтрализации молекул мутагенов), а $1/3$ – за счет поверхностного эффекта (снижение поверхности ядра в расчете на единицу его объема). В качестве примера рассчитаем значение β/β_0 для человека. В геноме человека доля кодир. ДНК составляет $\sim 3\%$, следовательно, $N_{нCT}/N_{CT} \sim 0,97/0,03$, откуда $(1 + N_{нCT}/N_{CT})^{4/3} \approx 107$.

Из формулы (2) следует, что с увеличением в геноме содержания некодир. части, доля повреждаемых мутагенами нуклеотидов в кодир. НП быстро уменьшается. Защитное влияние некодир. НП весьма существенно. Даже у рыбки иглобрюха *Tetraodon nigroviridis*, которая обладает одним из самых маленьких из известных на сегодня геномов среди позвоночных животных – ~0,34 пг, (340 м.п.н.) [330], повреждаемость кодир. НП, предсказываемая формулой (2) и обусловленная наличием некодир. НП (составляют 11% генома), уменьшается почти в 20 раз. Для человека это значение еще в ~5 раз больше. В целом, обнаруженный нами весьма значительный защитный эффект некодир. НП указывает на наличие у эукариот в дополнение к системам антимутагенеза и репарации ДНК новой третьей системы защиты генов от химических мутагенов.

ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ВАРИАбельНОСТИ РАЗМЕРОВ ГЕНОМА У ЭУКАРИОТ

В соответствии с нашей моделью суммарная частота мутаций, возникающих в кодир. частях генома, будет зависеть от координированного действия систем антимутагенеза, репарации ДНК, а также соотношения в геноме кодир. и некодир. НП, то есть, в конечном счете, от размера генома. С учетом вышеизложенного можно предположить, что у близких биологических видов с низким соотношением длин кодир. и некодир. НП (большим размером генома) в ядре присутствует большее количество химических мутагенов (эндогенного или экзогенного происхождения) в результате меньшей активности системы антимутагенеза, и/или менее эффективно осуществляется репарация повреждений ДНК. В этом случае некодир. НП обеспечивают снижение повреждаемости нуклеотидов и, как следствие, частоты мутаций в кодир. НП до приемлемого уровня. Исследование эффективности функционирования систем антимутагенеза и репарации ДНК в зависимости от размера генома у биологических видов является одним из возможных путей экспериментальной проверки нашей модели.

В литературе нам удалось найти лишь косвенные данные о межвидовых различиях в функциональной активности систем антимутагенеза и репарации ДНК у организмов, значительно различающихся по размерам генома. В частности, для *небольшого* генома *Arabidopsis thaliana* (~125 м.п.н.) характерно наличие дополнительных гомологов для большинства генов систем репарации и рекомбинации, что заметно отличает данное растение от других исследованных эукариот и пока является характерной чертой именно этого растения [331]. В соответствии с этим, арабидопсис может характеризоваться повышенной скоростью репарации ДНК, что уменьшает его

потребность в защитных некодир. НП. Имеются указания на то, что у саламандр активность фототлиазы, участвующей в репарации поврежденных ДНК, вызываемых УФ-светом, заметно ниже, чем у жаб и лягушек, обладающих значительно меньшими размерами генома [332].

В соответствии с нашими предсказаниями, удельная активность O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы, удаляющей O⁶-mG из алкилированной ДНК *in vivo*, у радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (размер генома 2,6 пг) в ~2,4 раза ниже, чем у меченосца *Xiphophorus maculatus* (геном 0,97 пг) (цит. по [333]). При этом, безотносительно к размеру генома, имеются данные, указывающие на то, что для рыб в целом характерна низкая активность системы репарации ДНК [334]. У ныряющих млекопитающих, для которых характерен быстрый переход от гипоксии к реоксигенации и запасание большого количества кислорода в тканях, отмечен конститутивно более высокий антиоксидантный статус, чем у наземных млекопитающих [335]. Данные такого рода указывают на возможность использования организмами разных стратегий защиты от постоянных генотоксических воздействий.

Хотя защита генов от эндогенного мутагенеза, вызываемого химическими мутагенами, является для биологических видов жизненно важной задачей, это не единственная функция некодир. НП, и, по крайней мере, часть из них используется для других целей. В частности, не вызывает сомнения скелетная функция этих НП, на которую впервые указал М.Д. Беннет [9], и связанная с этим их роль в формировании нуклеотида организма [294, 319, 336]. Имеются указания на участие повторяющихся НП в глобальной регуляции экспрессии генов на уровне транскрипции через формирование доменов хроматина, гетерохроматизации генетических локусов, влияние на транскрипцию генов через регуляторные элементы транспозонов и т.п. (подробнее см. недавний обзор [322]). Все это может быть вторичным приобретением новых функций после первичной кооптации некодир. НП в целях защиты генома от мутаций и, прежде всего, эндогенного мутагенеза.

АТМОСФЕРНЫЙ КИСЛОРОД В ЭВОЛЮЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ВИДОВ И ИХ ГЕНОМА

В соответствии с современной точкой зрения, жизнь на Земле зародилась ~3,5 млрд. лет тому назад в отсутствие кислорода и вначале была представлена прокариотами, в том числе, метанобразующими архебактериями, использующими для производства энергии окисление водорода в присутствии CO₂, а также другими хемотрофами [337].

Пурпурные бактерии, цианобактерии и гелиобактерии, по-видимому, были первыми представителями фотосинтезирующих организмов, которые использовали энергию света для фиксации углерода и окисления воды с образованием O_2 [338]. Появление этих бактерий ~3 млрд. лет тому назад привело к постепенному повышению содержания O_2 в атмосфере Земли от 1% до современного уровня – 21%. Далее, через ~1,5 млрд. лет, уже в присутствии O_2 возникли первые эукариоты, которым предшествовало появление аэробных форм жизни, использующих O_2 для получения энергии [339]. Наконец ~600 млн. лет тому назад появились первые многоклеточные организмы.

Можно предположить, что существование организмов в присутствии O_2 и его активных форм потребовало выработки дополнительных средств защиты генетической информации от повреждающего действия этих соединений. Увеличение размера генома в дополнение к уже имеющимся системам антиоксидантов и репарации ДНК могло бы быть одной из первых эволюционных адаптивных реакций организмов на повышение концентрации свободного O_2 в атмосфере. Дальнейшие изменения размера генома следовали за изменениями эффективности функционирования систем антимутагенеза и репарации ДНК у эволюционирующих организмов (см. ниже). Наконец, существенное влияние на закрепление у эукариот геномов больших размеров могло оказать появление многоклеточности в условиях содержания O_2 в атмосфере, близкого к современному, поскольку это потребовало дополнительного уменьшения частоты мутаций в соматических клетках для предотвращения обрыва клеточных линий в онтогенезе [2].

Со времени возникновения многоклеточности концентрация O_2 в атмосфере не оставалась постоянной, и эти изменения коррелируют с глобальными эволюционными изменениями биосферы [340]. Например, повышение концентрации O_2 ~410 и ~300 млн. лет тому назад сопровождалось развитием гигантизма у некоторых групп животных. Увеличение размера генома, который коррелирует с размером клеток, потребовавшегося для создания дополнительной защиты генов от АФК, могло бы быть одним из механизмов, лежащих в основе этого явления. Действительно, имеющиеся экспериментальные данные показывают, что содержание *D. melanogaster* в условиях высоких концентраций O_2 сопровождается увеличением размера ее тела, а в условиях гипоксии – уменьшением. Эти фенотипы сохраняются на протяжении нескольких генераций после переноса мух в обычную атмосферу [341]. В дополнение к другим известным механизмам контроля роста клеток [341] это может быть связано и с изменениями взаимозависимых объемов ядер и клеток, как говорилось выше в

Уровни защиты

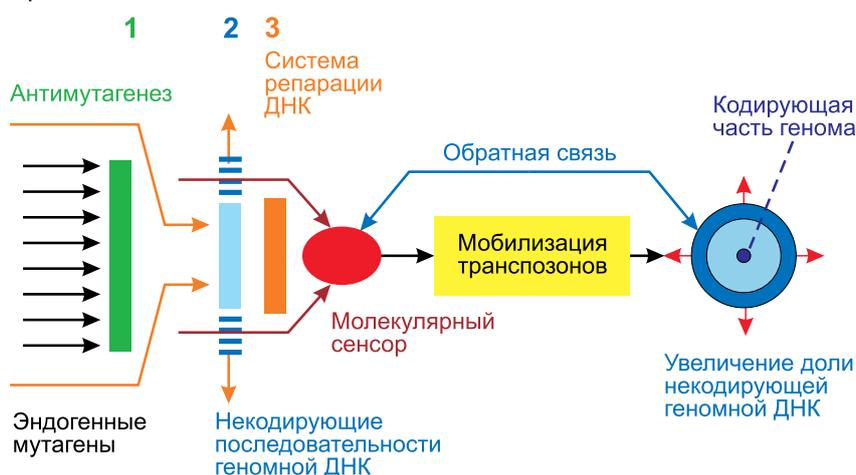


Рис. 4. Предполагаемый механизм контроля содержания некодир. ДНК в эукариотическом геноме.

Изображены три уровня защиты эукариотического генома от эндогенных химических мутагенов (горизонтальные черные стрелки слева), которые сформированы 1) системой антимутагенеза (зеленый прямоугольник), 2) некодир. НП геномной ДНК (синий прямоугольник) и 3) системой репарации ДНК (оранжевый прямоугольник). В том случае, если все три системы не обеспечивают необходимой защиты генов, происходит мутационное изменение гипотетического молекулярного сенсора(ов) (красный овал), что сопровождается мобилизацией транспозонов, увеличением некодир. части генома и снижением частоты возникновения спонтанных мутаций до исходного оптимального уровня. Кодир. часть генома изображена темно-синей точкой в центре голубого круга, а тонкие красные стрелки указывают на увеличение размера генома.

разделе о фенотипических признаках, ассоциированных с размером генома. Наличие положительной корреляции между размером клеток и размером тела неоднократно отмечалось у беспозвоночных животных (обзор [291]).

ПУТИ ЭВОЛЮЦИИ РАЗМЕРА ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО ГЕНОМА.

С учетом продемонстрированной нами защитной роли некодир. НП можно представить себе следующий путь эволюции эукариотического генома (рис. 4 и 5). На протяжении всей жизни ядерная ДНК аэробных организмов находится в непрерывном потоке эндогенных мутагенов (рис. 4). Мутагены, избежавшие нейтрализующего действия системы антимутагенеза, повреждают азотистые основания ДНК, а некодир. НП защищают гены от такого рода повреждений и мутаций. Большая

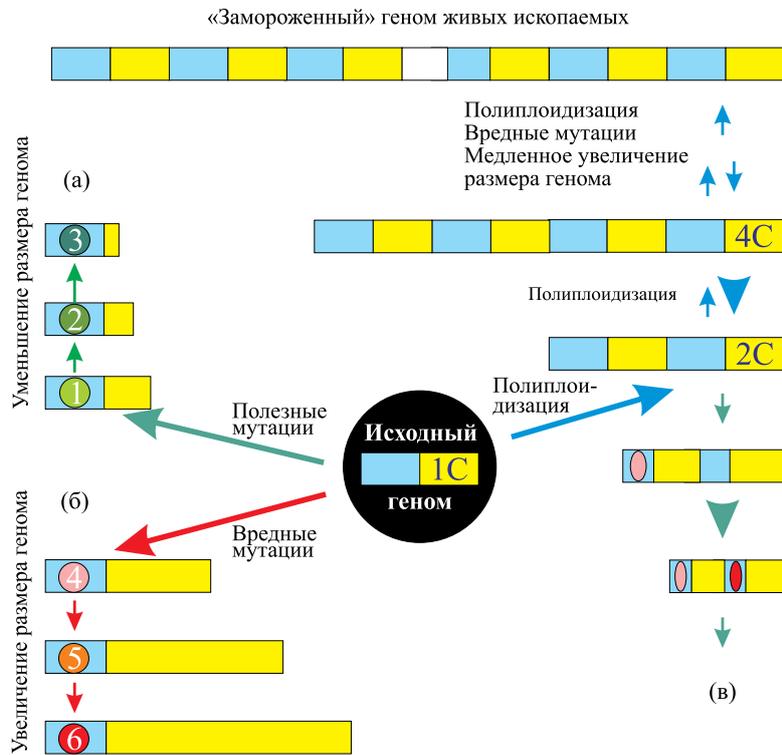


Рис. 5. Предполагаемые пути эволюции размера генома эукариот.

Исходный геном-предшественник (в центре черного круга) состоит из кодир. и некодир. НП (синий и желтый прямоугольники, соответственно). Для него характерен определенный оптимальный уровень защищенности генов от спонтанного мутагенеза с участием эндогенных химических мутагенов. Данный уровень защиты обеспечивается координированным действием классических систем защиты (антимутагенеза и репарации ДНК), а также нуклеотидами некодир. части генома.

часть повреждений восстанавливается системами репарации ДНК. Все это в сумме обеспечивает допустимый генетически детерминированный уровень спонтанного мутагенеза кодир. НП.

Повышение внутриядерной концентрации мутагенов увеличивает частоту мутаций в кодир. НП генома, среди которых присутствует ген(ы) молекулярного сенсора. Мутационные изменения сенсора мобилизуют ретротранспозоны, что приводит к локальному увеличению числа их копий, возрастанию размера генома и уменьшению вероятности возникновения мутаций в соответствующих кодир. НП.

(О возможности неслучайного перемещения транспозонов в геноме, так называемом «секториальном мутагенезе» см. в обзоре [343]). В результате система «геном-эндогенные мутагены» в конкретных генетических локусах достигает нового стационарного состояния. Понижение фоновой внутриядерной концентрации мутагенов будет сопровождаться медленным уменьшением размера генома под действием спонтанных делеций в теперь уже избыточных (с точки зрения выполнения защитной функции) его НП. Действительно, исследования на растениях и животных показали, что транспозоны могут эффективно удаляться из эукариотического генома [344–347].

Активность транспозонов находится под строгим контролем, и акты транспозиции являются редким событием даже у организмов, для которых отмечена высокая активность транспозонов (обзоры [26, 31]). В частности, у человека, относящегося к таким организмам, акт транспозиции отмечается с частотой $\sim 10^{-1}$ – 10^{-2} на генерацию [348]. Высокая активность транспозонов отмечена на определенных стадиях эмбриогенеза и в клетках злокачественных опухолей. Стрессовые условия, такие как тепловой шок, вирусная инфекция или действие агентов, повреждающих ДНК, способствуют активации транспозонов [349, 350]. Мобилизация транспозонов требует участия кодируемых ими белков, а следовательно, транскрипции соответствующих генов РНК-полимеразами II и III (обзоры [26, 31, 209]). Поэтому, механизмы, задействованные в контроле транскрипции генов этими РНК-полимеразами, могут быть использованы и для контроля мобилизации транспозонов.

Известны по крайней мере 2 молекулярных механизма, участвующих в контроле активности мобильных генетических элементов: РНК-интерференция с участием малых интерферирующих РНК (siRNA) и метилирование НП ДНК. Поскольку механизмы РНК-интерференции задействованы и в процессах метилирования, не исключена взаимозависимость этих двух механизмов. Недавно было показано, что нестабильность генома в культивируемых клетках человека, индуцированная радиоактивным облучением, связана с изменением характера метилирования ДНК в НП ретроэлементов [351]. С учетом вышесказанного вышеупомянутым сенсором для мобилизации транспозонов могли бы быть просто остатки С, метилирование которых критично для мобилизации транспозонов. Мутационные замены G→A, происходящие, в частности, в результате действия АФК, могли бы понижать статус метилирования соответствующих участков генома, приводить к активации расположенных рядом ретротранспозонов и локальному увеличению

числа их копий. Изменение пространственной структуры соответствующих генетических локусов под действием транспозонов, внедренных в новые участки генома, могло бы сопровождаться изменением уровня защищенности этих участков от эндогенного мутагенеза и обеспечивало бы их индивидуальную защищенность.

Изменение стационарной концентрации внутриядерных мутагенов может вызываться разными причинами. Это может быть следствием медленного изменения экологии, приводящего к изменению уровня мутагенных воздействий на организмы, живущие в этих условиях. К тем же последствиям могли бы приводить мутационные изменения ферментных систем антимутагенеза и репарации ДНК, а также метаболических процессов, генерирующих эндогенные мутагены (рис. 5). Например, повышение эффективности функционирования классических систем защиты генома от действия мутагенов – антимутагенеза и репарации ДНК – должно снимать давление отбора на размер генома, который теперь может уменьшиться под действием спонтанных делеций в результате неравного кроссинговера и тому подобных механизмов (рис. 5А). С другой стороны, вредные последствия мутаций в генах тех же систем, незначительно понижающих их эффективность, могли бы компенсироваться медленным возрастанием размера генома до оптимального с точки зрения выполнения им защитной функции размера, в том числе – как следствие мобилизации транспозонов (рис. 5Б). Активность транспозонов в относительно короткие промежутки времени, сопоставимые со временем существования вида, может приводить к значительным изменениям размера генома. Это, в частности, недавно было продемонстрировано для злака *Oryza australiensis*, у которого одна только активность ретро-транспозонов без полиплоидизации привела к двукратному увеличению размера генома [248].

Быстрым решением возникающей проблемы высокой повреждаемости кодир. нуклеотидов может быть увеличение размера генома в результате полиплоидизации. Как уже упоминалось выше, полиплоидные организмы широко распространены среди растений, а также часто встречаются у рыб и амфибий. В соответствии с нашей моделью, скачкообразное увеличение размера генома в результате полиплоидизации после преодоления первого периода генетической нестабильности должно резко снижать повреждаемость исходных кодир. НП (и, как следствие, частоту мутаций), вызываемую химическими (в том числе эндогенными) мутагенами. В частности, используя формулу (2) и принимая во внимание, что (в первом приближении) после увеличения числа копий целого генома кодир. НП новых копий

уже не требуют защиты, можно описать изменение защищенности кодир. НП следующей формулой:

$$\beta/\beta_0 = 1/((p/2)^{43} (1+N_{\text{нст}}/N_{\text{ст}})^{43}), \quad (3)$$

где p – плоидность генома, а $N_{\text{нст}}/N_{\text{ст}}$ – отношение числа некодир. нуклеотидов к числу кодир. в геноме, которое не зависит от его плоидности. Из этого следует, что при $p = 3, 4$ или 8 , доля поврежденных кодир. НП уменьшается соответственно в $\sim 1,7$, $\sim 2,5$ и $\sim 6,4$ раза.

После успешной полиплоидизации, т.е. преодоления неоплоидом первоначального периода генетической нестабильности, потенциально могли бы реализоваться два сценария эволюционных событий (рис. 5В). *Во-первых*, из-за отсутствия у таких полиплоидов давления отбора на поддержание избыточных НП будет происходить их спонтанное удаление из генома в результате неравного кроссинговера и др. подобных механизмов. *Во-вторых*, у полиплоидов могут произойти мутации, понижающие эффективность работы систем репарации ДНК и/или антимутагенеза без вредных последствий для организма, поскольку избыточные НП возьмут на себя часть защитных функций этих систем. В этом случае уменьшение размеров полиплоидного генома будет невозможно из-за вредных мутагенных последствий для всего организма.

Как уже отмечалось выше, у большинства исследованных растений-полиплоидов происходит уменьшение суммарного размера генома, который приближается к размеру базального генома [352]. Эволюционное уменьшение размеров генома по этому сценарию могло бы происходить и у диплоидных организмов-мутантов с более эффективно работающими системами репарации ДНК и/или антимутагенеза, чем у организма-предшественника дикого типа (рис. 5А). Предсказываемое нашей моделью резкое снижение частоты спонтанных мутаций после полиплоидизации может по-новому объяснять подавление видообразования у организмов с большими геномами: известно, что число биологических видов в таксоне обратно пропорционально размерам геномов входящих в него организмов [295]. В этой связи гигантские размеры геномов, характерные для упомянутых во введении (и других) «живых ископаемых» объясняют эволюционную консервативность таких видов. В соответствии с развиваемой нами концепцией у этих организмов могло произойти подавление некодир. НП образования спонтанных мутаций в кодир. частях генов. У данных видов в результате активности транспозонов, тандемных дупликаций и полиплоидизации размер генома превысил допустимый пороговый уровень и, по образному выражению С. Оно,

стал «замороженным», а сами виды оказались в эволюционном тупике [253]. При этом давление отбора у данных конкретных видов может быть направлено на нуклеотип, в частности, на размер их клеток, а это сохраняет не требуемую для стабильности генома сверхзащищенность генетических локусов от эндогенных мутагенов и поддерживает неизменным гигантский размер генома этих организмов.

О ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИЩЕННОСТИ ГЕНОВ

В основе разработанной нами математической модели лежит допущение о равномерном распределении нуклеотидов ДНК в объеме интерфазного ядра, что является сознательным упрощением реальной ситуации. Высоко динамичное состояние хроматина в интерфазных ядрах, тонкая пространственная структура которого изменяется во время клеточного цикла, а также большое число типов клеток и тканей организма, в которых общая структура хроматина различается, позволяет в нашем первом приближении сделать такое усреднение.

На самом деле, как подробно рассмотрено выше, расположение генетического материала в интерфазных ядрах далеко не равномерно и высокоупорядочено. В ядре имеются обширные генетически детерминированные участки эухроматина и гетерохроматина, плотность упаковки ДНК в которых различается и может изменяться на протяжении клеточного цикла. Отдельные хромосомы организованы в виде дискретных хромосомных территорий, а содержание в них некодир. НП уникально для индивидуальных хромосом. Более того, соотношение длин интронов и экзонов в конкретных генах является стабильной характеристикой биологических видов и у млекопитающих коррелирует с размером генома, особенно его эухроматиновой части.

С учетом такого рода фактов основные выводы, полученные при анализе последствий эндогенного мутагенеза для целых геномов, могут быть применены и к отдельным внутриядерным микрокомпартаментам, включая конкретные генетические локусы. Действительно, доступность генетических локусов как для химических мутагенов, так и для ферментов репарации ДНК зависит и от пространственной организации локусов внутри ядра, в том числе – от уровня конденсированности хроматина. В дополнение к этому соотношение кодир. и некодир. НП, расположенных во внутриядерных компартаментах, должно определять генетический эффект контакта мутагенов с ДНК конкретных генетических локусов.

Поскольку мутагены поступают в ядро извне, их концентрация должна быть выше у поверхности ядра. В этой связи особенно харак-

терная для клеток растений конфигурация Рабла, при которой в интерфазных ядрах не кодир. теломерные и центромерные НП хромосом располагаются друг против друга по периферии ядер, недавно была подтверждена для клеток мышей и человека. Как уже упоминалось, хромосомы человека, содержащие много генов (например, хромосома 19), локализуются преимущественно внутри ядра, а бедные генами (в частности, хромосома 18) – снаружи [109]. Обнаруженный недавно градиент в частотах встречаемости синонимических замен в псевдоаутосомных областях половых хромосом человека [353] также может быть интерпретирован с учетом дифференциальной защищенности генетических локусов от эндогенного мутагенеза. Кроме того, и сами гены, в зависимости от функциональной принадлежности, имеют тенденцию располагаться на хромосомах в виде кластеров, что продемонстрировано, в частности, для генов домашнего хозяйства [354]. Все это может указывать на разную пространственную доступность соответствующих генетических локусов химическим мутагенам, и, в свою очередь, позволяет предположить возможность различий в частоте возникновения мутаций в этих локусах.

Ряд экспериментальных данных подтверждает такое предположение. В частности, скорость накопления мутаций в микрохромосомах птиц достоверно выше, чем в макрохромосомах и хромосомах промежуточного размера [355]. Кроме того, изменчивость отдельных генетических локусов в геноме эукариот, по-видимому, значительно различается. К.Х. Вольфе с соавт. одними из первых продемонстрировали существенные различия скорости синонимических замен в разных генах человека и животных [356]. В соответствии с этим недавно на основании анализа распределения синонимических замен нуклеотидов в ~15 000 генах человека было продемонстрировано наличие в геноме участков с высокой и низкой частотой возникновения мутаций [357]. То же подтверждено и для генома мышей [358]. Помимо этого, в геноме мышей выявлены короткие дискретные домены, содержащие сцепленные гены белков, эволюционирующих с разной скоростью, что коррелирует с принадлежностью генов к определенному домену [359]. У дрозофилы обнаружены более чем 10-кратные различия в частотах возникновения синонимических замен в кодир. участках генома [360]. Эволюционно консервативные гены имеют тенденцию увеличивать содержание интронов [361], что также может быть интерпретировано с точки зрения выполнения ими защитной функции по отношению к кодир. НП генов.

В обзоре Г. Эллегрена с соавт. обобщаются данные, полученные в результате сравнительного анализа НП геномов животных, из которых в совокупности следует, что различия в скоростях мутаций зависят от принадлежности генетического локуса к определенной хромосоме, его положения внутри хромосомы, а также от контекста НП, в которой находятся изменяемые нуклеотиды [362]. Все это позволяет предполагать, что, в соответствии с развиваемой нами концепцией, частота возникновения спонтанных мутаций в отдельных локусах может быть генетически детерминирована.

В этой связи не кажется удивительным, что у сложившихся биологических видов различия в размерах генома определяются не равномерным увеличением всех его частей, но представлены дискретными участками, рассеянными по эухроматиновой части генома (см. обзор [246]). Такие различия могут отражать особенности пространственной внутриядерной укладки хроматина, оптимизированной для выполнения своих функций, в том числе и обеспечения требуемого уровня стабильности генетической информации. Обнаруженные недавно эволюционно консервативные участки генома, построенные из некодир. НП [363], могли бы выполнять такие функции по пространственной укладке хроматина.

VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный нами анализ проблемы вариабельности размеров генома эукариот выявил наличие у них новой (третьей) системы защиты кодир. НП от мутаций, вызываемых действием химических мутагенов. При этом мы старались подчеркнуть, что именно эндогенные мутагены постоянно создают условия, в которых эволюционирует эукариотический геном. Данная высокодинамичная система, функционирующая в тесном взаимодействии с двумя другими системами (антимутагенеза и репарации повреждений ДНК), вносит весьма существенный вклад в общую защиту генома. В соответствии с нашими расчетами, одно только наличие некодир. части в геноме человека обеспечивает ему ~100-кратную защиту кодир. НП от химических мутагенов разной природы. Этот вклад еще более значителен у организмов с большими размерами генома. Геном большого размера допускает снижение эффективности функционирования систем антимутагенеза и репарации, что открывает дополнительную возможность их эволюционирования, то есть накопления мутаций в генах, кодир. макромолекулярные компоненты этих систем. Исследование эффективности данных систем у

организмов с разными размерами генома может быть одним из подходов к экспериментальной проверке нашей теории в целом.

Развиваемая нами концепция не отрицает широко цитируемые в литературе теории «эгоистической» ДНК и ДНК как нуклеоскелета, формирующего нуклеотип организмов. Каждая из них по-своему освещает разные стороны единого процесса эволюции эукариотического генома. Действительно, некодир. ДНК, которая могла бы распространиться в геноме первых эукариот по «эгоистическому» механизму, оказалась полезной для выполнения ею защитных и нуклеоскелетных функций. Соответственно, эволюционирование систем, обеспечивающих защиту клеток от «эгоистической» ДНК и защиту генетической информации от мутагенеза, могло происходить одновременно, параллельными курсами.

Возможность генетической детерминированности частот возникновения повреждений (и мутаций) в конкретных генетических локусах, на которую указывает наша концепция, в свою очередь, позволяет думать о наличии генетического контроля направлений филогенеза и выявляет материальную основу потенциальной возможности возникновения адаптивных мутаций у эукариот [364, 365]. Это может дать новый импульс идее номогенеза (филогенетического развития видов на основе закономерностей [366], противопоставляемого классической дарвиновской эволюции) [367]. С этой же точки зрения можно было бы объяснить закон гомологических рядов Н.И. Вавилова, в соответствии с которым у родственных видов, родов и даже семейств растений наблюдаются сходные ряды фенотипической изменчивости [368]. Генетически детерминированная структурой хроматина изменчивость генотипов могла бы обеспечивать формирование гомологических рядов данных фенотипических признаков, ускоряя процесс видообразования.

БАГОДАРНОСТЬ. Авторы благодарны Н.В. Соловьевой и Е.В. Журба за помощь при подготовке рукописи к печати.

ЛИТЕРАТУРА

1. Greilhuber, J., Doležel, J., Lysá, M.A., Bennett, M.D. (2005) *Annals Botany*, **95**, 255–260.
2. Патрушев Л.И. (2000) Экспрессия генов, М., Наука. 528 С.
3. Eichler, E.E., Nickerson, D.A., Altshuler, D., Bowcock, A.M., Brooks, L.D., Carter, N.P., Church, D.M., Felsenfeld, A., Lee, C., Lupski, J.R., Mullikin, J.C., Pritchard, J.K., Sebat, J., Sherry, S.T., Smith, D., Waterson, R.H. (2007) *Nature*, **447**, 161–165.
4. Medini, D., Donati, C., Tettelin, H., Massignani, V., Rappuoli, R. (2005) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **15**, 589–594.

5. Tettelin, H., Massignani, V., Cieslewicz, M.J., Donati, C., Medini, D., et al. (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **102**, 13950–13955.
6. Morgante, M., De Paoli, E., Radovic, S. (2007) Curr. Opin. Plant Biol., **10**, 149–155.
7. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. (1980) Мол. Биол., **14**, 1205–1233.
8. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. (1984) М. Наука. 472 С.
9. Cavalier-Smith, T. (2005) Annals Bot., **95**, 147–175.
10. Gregory, T.R. (2001) Biol. Rev., **76**, 65–101.
11. Leitch, I.J., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Bennett, M.D. (2005) Annals Botany, **95**, 207–217.
12. Mirsky, A.E., Ris, H. (1951) J. General Physiol., **34**, 451–462.
13. Thomas, C.A. (1971) Annu. Rev. Genet., **5**, 237–256.
14. Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, et al. (2001) Nature, **409**, 860–921.
15. Papathanasiou, P., Goodnow, C.C. (2005) Annu. Rev. Genet., **39**, 241–262.
16. Claverie J.M. (2001) Science, **291**, 1255–1257.
17. Babushok, D.V., Ostertag, E.M., Kazazian H.H. (2007) Cell. Mol. Life Sci., **64**, 542–554.
18. Gregory, T.R. (2002) Evolution, **56** (1), 121–130.
19. Britten, R.J., Davidson, E.H. (1976) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 415–419.
20. Ugarkovic, D., Ploh, M. (2002) EMBO J., **21**, 5955–5959.
21. Johnson, D.H., Kroisel, P.M., Klapper, H.J., Rosenkranz, W. (1992) Hum. Mol. Genet., **1**, 741–747.
22. Ustinova, J., Achmann, R., Cremer, S., Mayer, F. (2006) J. Mol. Evol., **62**, 158–167.
23. Takahashi, Y., Mitani, K., Kuwabara, K., Hayashi, T., Niwa, M., Miyashita, N., Moriwaki, K., Kominami, R. (1994) Chromosoma, **103**, 450–458.
24. Biémont, C., Vieira, C. (2006) Nature, **443**, 521–524.
25. Kazazian, H.H. (2003) Curr. Opin. Genet. Devel., **13**, 651–658.
26. Kazazian, H.H. (2004) Science, **303**, 1626–1632.
27. Kidwell, M.G. (2002) Genetica, **115**, 49–63.
28. Berger, S.L. (2002) Curr. Opin. Genet. Devel., **12**, 142–148.
29. Carlson C.M., Largaespada D.A. (2005) Nature Rev. Genet., **6**, 568–580.
30. De Parseval, N., Heidmann, T. (2005) Cytogenet. Genome Res., **110**, 318–332.
31. Kramerov, D.A., Vassetzky, N.S. (2005) Int. Rev. Cytol., **247**, 165–221.
32. Ohshima, K., Okada, N. (2005) Cytogenet. Genome Res., **110**, 475–490.
33. Georgiev, G.P. (1984) Eur. J. Biochem., **145**, 203–220.
34. Orgel, L.E., Crick, F.H.C. (1980) Nature, **284**, 604–607.
35. Koonin, E.V. (2005) Annu. Rev. Genet., **39**, 309–338.
36. Roy S.W., Gilbert W. (2006) Nature Rev. Genet., **7**, 211–221.
37. Rodriguez-Trelles, F., Tariro, R., Ayala, F.J. (2006) Annu. Rev. Genet., **40**, 47–76.
38. Jeffares, D.C., Mourier, T., Penny, D. (2006) Trends Genet., **22**, 16–22.
39. Vinogradov, A.E. (2004) Trends in Genetics, **20**, 248–253.
40. Gentles, A.J., Karlin, S. (1999) Trends Genet., **15**, 47–49.
41. Balakirev, E.S., Ayala, F.J. (2003) Annu. Rev. Genet., **37**, 123–151.
42. Zhang Z., Carrero N., Gerstein M. (2004) Trends Genet., **20**, 62–67.
43. Eyre-Walker, A., Hurst, L.D. (2001) Nature Rev. Genet., **2**, 549–555.
44. Costantini, M., Clay, O., Federico, C., Saccone, S., Auletta, F., Bernardi, G. (2007) Chromosoma, **116**, 29–40.
45. Bernardi, G., Olofsson, B., Filipinski, J., Zerial, M., Salinas, J., Cuny, G., Meunier-Rotival, M., Rodier, F. (1985) Science, **228**, 953–957.

46. Zoubak, S., Clay, O., Bernardi, G. (1996) *Gene*, **174**, 95–102.
47. Federico, C., Saccone, S., Bernardi, G. (1998) *Cytogenet. Cell. Genet.*, **80**, 83–88.
48. Federico, C., Saccone, S., Andreozzi, L., Motta, S., Russo, V., Carels, N., Bernardi, G. (2004) *Gene*, **343**, 245–251.
49. Federico, C., Scavo, C., Cantarella, D. C., Motta, S., Saccone, S., Bernardi, G. (2006) *Chromosoma*, **115**, 123–128.
50. Saccone, S., Federico, C., Bernardi, G. (2002) *Gene*, **300**, 169–178.
51. Johnson, J.M., Edwards, S., Shoemaker, D., Schadt, E.E. (2005) *Trends Genet.*, **21**, 93–102.
52. Kapranov, F., Cawley, S.E., Drenkow, J., Bekiranov, S., Strausberg, R.L., Fodor, S.P.A., Gingeras, T.R. (2002) *Science*, **296**, 916–919.
53. Bird, C.P., Stranger, B.E., Dermitzakis, E.T. (2006) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **16**, 559–564.
54. Waterston, R.H., Lindblad-Toh, K., Birney, E., Rogers, J., Abril, J.F., et al. (2002) *Nature*, **420**, 520–562.
55. Grewal, S.I.S., Jia, S. (2007) *Nature Rev. Genet.*, **8**, 35–46.
56. Huisinga, K.L., Brower-Toland, B., Elgin, S.C.R. (2006) *Chromosoma*, **115**, 110–122.
57. Rando, O.J. (2006) *Trends Genet.*, **23**, 67–73.
58. Minsky, A. (2004) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **33**, 317–42.
59. Монахова М.А. (1990) *Усп. Совр. Биол.*, **110**, 163–178.
60. Spector, D.L. (2003) *Annu. Rev. Biochem.*, **72**, 573–608.
61. Burke, B., Stewart, C.L. (2006) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, **7**, 369–405.
62. Nickerson, J.A. (2001) *J. Cell Sci.*, **114**, 463–474.
63. Razin, S.V., Gromova, I.I., Iarovaia, O.V. (1995) *Int. Rev. Cytol.*, **162B**, 405–448.
64. Raška, I. (2003) *Trends Cell Biol.*, **13**, 517–525.
65. Raška, I., Shaw, P.J., Cmarko, D. (2006) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **18**, 325–334.
66. Shaw, P.J., Brown, J.W.S. (2004) *Curr. Opin. Plant Biol.*, **7**, 614–620.
67. Cioce, M., Lamond, A.I. (2005) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **21**, 105–31.
68. Jackson, D.A. (2003) *Chromosome Res.*, **11**, 387–401.
69. Seeler, J.-S., Dejean, A. (1999) *Curr. Opin. Gen. Develop.*, **9**, 362–367.
70. Gilbert, N., Boyle, S., Fiegler, H., Woodfine, K., Carter, N.P., Bickmore, W.A. (2004) *Cell*, **118**, 555–566.
71. Grigoryev, S.A., Bulynko, Y.A., Popova, E.Y. (2006) *Chromosome Res.*, **14**, 53–69.
72. Chadwick, B.P., Willard, H.F. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **101**, 17450–17455.
73. Lippman, Z., Martienssen, R. (2004) *Nature*, **431**, 364–370.
74. Yasuhara, J.C., Wakimoto, B.T. (2006) *Trends Genet.*, **22**, 330–338.
75. Dernburg, A.F., Broman, K.W., Fung, J.C., Marshall, W.F., Philips, J., Agard, D.A., Sedat, J.W. (1996) *Cell*, **85**, 745–759.
76. Jia, S., Yamada, T., Grewal, S.I. (2004) *Cell*, **119**, 469–480.
77. Razin, S.V., Iarovaia, O.V., Sjakste, N., Sjakste, T., Bagdoniene, L., Rynditch, A.V., Eivazova, E.R., Lipinski, M., Vassetzky, Y.S. (2007) *J. Mol. Biol.*, **369**, 597–607.
78. Kornberg, R.D. (1974) *Science*, **184**, 868–871.
79. Davey, C.A., Sargent, D.F., Luger, K., Maeder, A.W., Richmond, T.J. (2002) *J. Mol. Biol.*, **319**, 1097–1113.
80. Rouleau, M., Aubin, R.A., Poirier, G.G. (2004) *J. Cell Sci.*, **117**, 815–825.
81. Shio, Y., Eisenman, R.N. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 13225–13230.

82. Chadwick, B.P., Willard, H.F. (2002) *J Cell Biol.*, **157**, 1113–1123.
83. Henikoff, S., Ahmad, K. (2005) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **21**, 133–53.
84. Richmond, T.J. (2005) *Nature*, **442**, 750–752.
85. Segal, E., Fondufe-Mittendorf, Y., Chen, L., Thastrom, A., Field, Y., Moore, I.K., Wang, J.-P.Z., Zhang, Z., Widom, J. (2005) *Nature*, **442**, 772–778.
86. Kiyama, R., Trifonov, E.N. (2002) *FEBS Lett.*, **523**, 7–11.
87. Trifonov, E.N. (1995) *J. Mol. Evol.*, **40**, 337–342.
88. Bode, J., Goetze, S., Heng, H., Kraewitz, S.A., Benham, C. (2003) *Chromosome Res.*, **11**, 435–445.
89. Schlach, T., Duda, S., Sargent, D.F., Richmond, T.J. (2005) *Nature*, **436**, 138–141.
90. McBryant, S.J., Adams, V.H., Hansen, J.C. (2006) *Chromosome Res.*, **14**, 39–51.
91. Fakan, S. (2004) *Cell Biol.*, **122**, 83–93.
92. Fakan, S. (2004) *Eur. J. Histochem.*, **48**, 5–14.
93. Visser, A.E., Jaunin, F., Fakan, S., Aten, J.A. (2000) *J. Cell Sci.*, **113**, 2585–2593.
94. Luger, K. (2006) *Chromosome Res.*, **14**, 5–16.
95. Cremer, T., Cremer, C. (2006) *Eur. J. Histochem.*, **50**, 161–176.
96. Cremer, T., Cremer, C. (2006) *Eur. J. Histochem.*, **50**, 223–272.
97. Kramer, J., Zachar, Z., Bingham, P.M. (1994) *Trends Cell Biol.*, **4**, 35–37.
98. Zirbel, R.M., U.R. Mathieu, A. Kurz, T. Cremer, P. Lichter. (1993) *Chromosome Res.*, **1**, 92–106.
99. Cremer, T., Cremer, C. (2001) *Nat. Rev. Genet.*, **2**, 292–301.
100. Walter, J., Schermelleh, L., Cremer, M., Tashiro, S., Cremer, T. (2003) *J. Cell Biol.*, **160**, 685–697.
101. Chubb, J.R., Bickmore, W.A. (2003) *Cell*, **112**, 403–406.
102. Sachs, R.K., van den Engh, G., Trask, B., Yokota, H., Hearst, J.E. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 2710–2714.
103. Ma, H., Siegel, A.J., Berezney, R.J. (1999) *Cell Biol.*, **146**, 531–541.
104. Alexandrova, O., Solovei, I., Cremer, T., David, C.N. (2003) *Chromosoma*, **112**, 190–200.
105. Habermann, F.A., Cremer, M., Walter, J., Kreth, G., von Hase, J., Bauer, K., Wienberg, J., Cremer, C., Cremer, T., Solovei, I. (2001) *Chromosome Res.*, **9**, 569–584.
106. Mayr, C., Jasencakova, Z., Meister, A., Schubert, I., Zink, D. (2003) *Chromosome Res.*, **11**, 471–484.
107. Postberg, J., Alexandrova, O., Cremer, T., Lipps, H.J. (2005) *J. Cell Sci.*, **118**, 3973–3983.
108. Federico, C., Cantarella, C.D., Scavo, C., Saccone, S., Bed'hom, B., Bernardi, G. (2005) *Chromosome Res.*, **13**, 785–793.
109. Boyle, S., Gilchrist, S., Bridger, J.M., Mahy, N.L., Ellis, J.A., Bickmore, W.A. (2001) *Hum. Mol. Genet.*, **10**, 211–219.
110. Cremer, M., Kupper, K., Wagler, B., Wizelman, L., v. Hase, J., Weiland, Y., Kreja, L., Diebold, J., Speicher, M.R., Cremer, T. (2003) *J. Cell Biol.*, **162**, 809–820.
111. Croft, J.A., Bridger, J.M., Boyle, S., Perry, P., Teague, P., Bickmore, W.A. (1999) *J. Cell Biol.*, **145**, 1119–1131.
112. Francastel, C., Schubeler, D., Martin, D.I., Groudine, M. (2000) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **1**, 137–43.
113. Neusser, M., Schubel, V., Koch, A., Cremer, T., Müller, S. (2007) *Chromosoma*, **116**, 307–320.
114. Mayer, R., Brero, A., von Hase, J., Schroeder, T., Cremer, T., Dietzel, S. (2005) *BMC Cell Biol.*, **6**, 44.
115. Mora, L., Sanchez, I., Garcia, M., Ponsa, M. (2006) *Chromosoma*, **115**, 367–375.

116. Tanabe H., Muller S., Neusser M., von Hase J., Calcagno E., Cremer M., Solovei I., Cremer C., Cremer T. (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **99**, 4424–4429.
117. Tanabe, H., Habermann, F.A., Solovei, I., Cremer, M., Cremer, T. (2002) Mutat. Res., **504**, 37–45.
118. Taslerova, R., Kozubek, S., Bartova, E., Gajduskova, P., Kodet, R., Kozubek, M. (2006) J. Struct. Biol., **155**, 493–504.
119. Bolzer, A., Kreth, G., Solovei, I., Koehler, D., Saracoglu, K., Fauth, C., Müller, S., Eils, R., Cremer, C., Speicher, M.R., Cremer, T. (2005) PLoS Biol., **3**, e157.
120. Sun, H.B., Shen, J., Yokota, H. (2000) Biophys. J., **79**, 184–190.
121. Parada, L.A., Misteli, T. (2002) Trends Cell Biol., **12**, 425–432.
122. Abranches, R. et al. (1998) J. Cell Biol., **143**, 5–12.
123. Hochstrasser, M., Mathog, D., Gruenbaum, Y., Saumweber, H., Sedat, J.W. (1986) J. Cell Biol., **102**, 112–123.
124. Nagele, R., Freeman, T., McMorrow, L., Lee, H.-Y. (1995) Science, **270**, 1831–1835.
125. Nagele, R.G., Freeman, T., McMorrow, L., Thomson, Z., Kitson-Wind, K., Lee, H. (1999) J. Cell Sci., **112**, 525–535.
126. Allison, D.C., Nestor, A.L. (1999) J. Cell Biol., **145**, 1–14.
127. Verschure, P.J., van der Kraan, I., van Driel, R. (1999) J. Cell Biol., **147**, 13–24.
128. Volpi, E.V., Chevret, E., Jones, T., Vatcheva, R., Williamson, J., Beck, S., Campbell, R.D., Goldsworthy, M., Powis, S.H., Ragoussis, J. Trowsdale, J., Sheer, D. (2000) J. Cell Sci., **113**, 1565–1576.
129. Williams, R.R., Broad, S., Sheer, D., Ragoussis, J. (2002) Exp. Cell Res., **272**, 163–175.
130. Gasser, S.M. (2002) Science, **296**, 1412–1416.
131. Lanctôt, C., Cheutin, T., Cremer, M., Cavalli, G., Cremer, T. (2007) Nature Rev. Genet., **8**, 104–115.
132. Ferreira, J., Paolella, G., Ramos, C., and Lamond, A.I. (1997) J. Cell Biol., **139**, 1597–1610.
133. Sadoni, N., Langer, S., Fauth, C., Bernardi, G., Cremer, T., Turner, B.M., Zink, D. (1999) J. Cell Biol., **146**, 1211–1226.
134. Visser, A.E., Aten, J.A. (1999) J. Cell Sci., **112**, 3353–3360.
135. Tumber, T., Belmont, A.S. (2001) Nature Cell Biol., **3**, 134–139.
136. Chuang, C.H., Carpenter, A.E., Fuchsova, B., Johnson, T., de Lanerolle, P., Belmont, A.S. (2006) Curr. Biol., **16**, 825–831.
137. Dillon, N. (2006) Chromosome Res., **14**, 117–126.
138. Brown, K.E., Amoils, S., Horn, J.M., Buckle, V.J., Higgs D.R., Merckenschlager, M., Fisher A.G. (2001) Nature Cell Biol., **3**, 602–606.
139. Brown, K.E., Baxter, J., Graf, D., Merckenschlager, M., Fisher, A.G. (1999) Mol. Cell, **3**, 207–217.
140. Brown, K.E., Guest, S.S., Smale, S.T., Hahm, K., Merckenschlager, M., Fisher, A.G. (1997) Cell, **91**, 845–854.
141. Csink, A.K., Henikoff, S. (1996). Nature, **381**, 529–531.
142. Harmon, B., Sedat, J. (2005) PLoS Biol., **3**, e67.
143. Bacher, C.P. et al. (2006) Nature Cell Biol., **8**, 293–299.
144. Xu, N., Tsai, C.L., Lee, J.T. (2006) Science, **311**, 1149–1152.
145. Fraser, P., Bickmore, W. (2007) Nature, **447**, 413–417.
146. Kioussis, D. (2005) Nature, **435**, 579–580.
147. Spilianakis, C.G., Lalioti, M.D., Town, T., Lee, G.R., Flavell, R.A. (2005) Nature, **435**, 637–645.
148. De Laat, W., Grosveld, F. (2003) Chromosome Res., **11**, 447–459.
149. Osborne, C.S., Chakalova, L., Brown, K.E., Carter, D., Horton,

- A., Debrand, E., Goyenechea, B., Mitchell, J.A., Lopes, S., Reik, W., Fraser, P.* (2004) *Nature Genet.*, **36**, 1065–1071.
150. *Pederson, T.* (2004) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **14**, 203–209.
151. *Bender, J.* (2004) *Annu. Rev. Plant Biol.*, **55**, 41–68.
152. *Chan, S.W.-L., Henderson, I.R., Jacobsen, S.E.* (2005) *Nature Rev. Genet.*, **6**, 351–360.
153. *Espada, J., Esteller, M.* (2007) *Cell. Mol. Life Sci.*, **64**, 449–457.
154. *Freitag, M., Selker, E.U.* (2005) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **15**, 191–199.
155. *Jenuwein, T., Allis, C.D.* (2001) *Science*, **293**, 1074–1080.
156. *Lam, A.L., Pazin, D.E., Sullivan, B.A.* (2005) *Chromosoma*, **114**, 242–251.
157. *Robertson, K.D.* (2005) *Nat. Rev. Genet.*, **6**, 597–610.
158. *Buendia, B., Courvalin, J.-C., Collias, P.* (2001) *Cell. Mol. Life Sci.*, **58**, 1781–1789.
159. *Hsieh, T.-F., Fischer, R.L.* (2005) *Annu. Rev. Plant Biol.*, **56**, 327–351.
160. *Eichler, E.E., Sankoff, D.* (2003) *Science*, **301**, 793–797.
161. *Tower, J.* (2004) *Annu. Rev. Genet.*, **38**, 273–304.
162. *Claycomb, J.M., Benasutti, M., Bosco, G., Fenger, D.D., Orr-Weaver, T.L.* (2004) *Cell*, **6**, 145–55.
163. *Lunyak, V.V., Ezrokhi, M., Smith, H.S., Gerbi, S.A.* (2002) *Mol. Cell Biol.*, **22**, 8426–8437.
164. *Kapler, G.M.* (1993) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **3**, 730–35.
165. *Libuda, D.E., Winston, F.* (2006) *Nature*, **443**, 1003–1007.
166. *Hemingway, J., Field, L., Vontas, J.* (2002) *Science*, **298**, 96–97.
167. *Shinke, R.T.* (1986) *Cancer*, **10**, 1912–1917.
168. *Nagl, W.* (1976) *Nature*, **261**, 614–615.
169. *Sugimoto-Shirasu, K., Roberts, K.* (2003) *Curr. Opin. Plant Biol.*, **6**, 544–553.
170. *Alitalo, K., Schwab, M.* (1986) *Adv. Cancer Res.*, **47**, 235–281.
171. *Garraway, L.A., Widlund, H.R., Rubin, M.A., Getz, G., Berger, A.J., Ramaswamy, S., Beroukhi, R., Milner, D.A., Grant, S.R., Du, J., Lee, C., Wagner, S.N., Li C., Golub, T.R., Rimm, D.L., Meyerson, M.L., Fisher, D.E., Sellers, W.R.* (2005) *Nature*, **436**, 117–122.
172. *Jahn, C.L., Klobutcher, L.A.* (2002) *Annu. Rev. Microbiol.*, **56**, 489–520.
173. *Grishanin, A.K., Brodskii, V.I., Aki-fiev, A.P.* (1994) *Dokl. Biol. Sci.*, **338**, 505–506.
174. *Kubota, S., Kuro-o, M., Mizuno, S., Kohno, S.* (1993) *Chromosoma*, **102**, 163–173.
175. *Wyngaard, G.A., Gregory, T.R.* (2001) *J. Exp. Zool.*, **291**, 310–316.
176. *Yao, M.-C., Chao, J.-L.* (2005) *Annu. Rev. Genet.*, **39**, 537–559.
177. *Maizels, N.* (2005) *Annu. Rev. Genet.*, **39**, 23–46.
178. *Martin, A., Scharff, M.D.* (2004) *Nature Rev. Immunol.*, **2**, 605–614.
179. *Antigenic Variation* (Eds. Craig, A., Scherf, A.) (2003) Elsevier, 443 P.
180. *Hübscher, U., Maga, G., Spadari, S.* (2002) *Annu. Rev. Biochem.*, **71**, 133–163.
181. *Goodman, M.F.* (2002) *Annu. Rev. Biochem.*, **71**, 17–50.
182. *Kamath-Loeb, A.S., Loeb, L.A., Masuda, Y., Hanaoka, F.* (2005) *DNA Repair*, **4**, 740–747.
183. *Rattray, A.J., Strathern, J.N.* (2003) *Annu. Rev. Genet.*, **37**, 31–66.
184. *Maki, H.* (2002) *Annu. Rev. Genet.*, **36**, 279–303.
185. *De Bont, R., van Larebeke, N.* (2004) *Mutagenesis*, **19**, 169–185.
186. *Lindahl T.* (1993) *Nature*, **362**, 709–715.
187. *Kunkel, T.A.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 16895–16898.
188. *Garcia-Diaz, M., Kunkel, T.A.* (2006) *Trends Biochem. Sci.*, **31**, 206–214.

189. Barnes, D.E., Lindahl, T. (2004) *Annu. Rev. Genet.*, **38**, 445–476.
190. Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M. (2004) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **44**, 239–267.
191. Russo, M.T., De Luca, G., Degan, P., Parlanti, E., Dogliotti, E., Barnes, D.E., Lindahl, T., Yang, H., Miller, J.H., Bignami, M. (2004) *Cancer Res.*, **64**, 4411–4414.
192. Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Cooke, M.S. (2004) *Mutation Res.*, **567**, 1–61.
193. Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., Telser, J. (2007) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39**, 44–84.
194. Nakamura, J., Swenberg, J.A. (1999) *Cancer Res.*, **59**, 2522–2526.
195. Nakamura, J., La, D.K., Swenberg, J.A. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 5323–5328.
196. Lenton, K.J., Therriault, H., Fulop, T., Payette, H., Wagner, J.R. (1999) *Carcinogenesis*, **20**, 607–613.
197. Spencer, J.P., Jenner, A., Aruoma, O.I., Cross, C.E., Wu, R., Halliwell, B. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **224**, 17–22.
198. Wagner, J.R., Hu, C.C., Ames, B.N. (1992) *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **89**, 3380–3384.
199. Beckman, K.B. & Ames, B.N. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 19633–19636.
200. Bartsch, H., Nair, J. (2000) *Toxicology*, **153**, 105–114.
201. Chen, H.J., Chiang, L.C., Tseng, M.C., Zhang, L.L., Ni, J., Chung, F.L. (1999) *Chem. Res. Toxicol.*, **12**, 1119–1126.
202. Kadlubar, F.F., Anderson, K.E., Haussermann, S. *et al.* (1998) *Mutat. Res.*, **405**, 125–133.
203. Chaudhary, A.K., Nokubo, M., Reddy, G.R., Yeola, S.N., Morrow, J.D., Blair, I.A., Marnett, L.J. (1994) *Science*, **265**, 1580–1582.
204. Marnett, L.J. (1999) *IARC Sci. Publ.*, **150**, 17–27.
205. Cavalieri, E., Chakravarti, D., Guttenplan, J., Hart, E., Ingle, J., Janakowiak, R., Muti, P., Rogan, E., Russo, J., Santen, R., Sutter, T. (2006) *Biochim. Biophys. Acta* **1766**, 63–78.
206. Bennett, M.D., Johnston, S., Hodnett, G.L., Price, H.J. (2000) *Annals Bot.*, **85**, 351–357.
207. Drabløs, F., Feyzi, E., Aas, P.A., Vaagbu, C.B., Kavli, B., Bratlie, M.S., Peca-Diaz, J., Otterlei, M., Slupphaug, G., Krokan, H.E. (2004) *DNA Repair*, **3**, 1389–1407.
208. Bennetzen, J.L. (2005) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **15**, 621–627.
209. Ostertag, E.M., Kazazian, H.H. (2001) *Annu. Rev. Genet.*, **35**, 501–538.
210. Besaratinia, A., Synold, T.W., Xi, B., Pfeifer, G.P. (2004) *Biochemistry*, **43**, 8169–8177.
211. Pfeifer, G.P., You, Y.-H., Besaratinia, A. (2005) *Mutation Res.* **571**, 19–31.
212. Buonocore, G., Groenendaal, F. (2007) *Semin. Fetal Neonat. Med.*, **12**, 287–295.
213. Droge, W. (2002) *Physiol. Rev.*, **82**, 47–95.
214. Sies, H. (1997) *Exp. Physiol.*, **82**, 291–295.
215. Bensaad, K., Vousden, K.H. (2007) *Trends Cell Biol.*, **17**, 286–291.
216. Sablina, A.A., Budanov, A.V., Ilyinskaya, G.V., Agapova, L.S., Kravchenko, J.E., Chumakov, P.M. (2005) *Nature Med.*, **11**, 1306–1313.
217. Chan, K.K.L., Zhang, Q.-M., Dianov, G.L. (2006) *Mutagenesis*, **21**, 173–178.
218. Dianov, G.L., Allinson, S.L. in: *Genome Integrity* (2007) (Ed. Lankenau D.-H.), Springer, P. 234–287.
219. Kunkel, T.A., Erie, D.A. (2005) *Annu. Rev. Biochem.*, **74**, 681–710.
220. Mitra, S., Izumi, T., Boldogh, I., Bhakat, K.K., Hill, J.W., Hazra, T.K. (2002) *Free Radical Biol. Med.*, **33**, 15–28.

221. David, S.S., O'Shea, V.L., Kundu, S. (2007) *Nature*, **447**, 941–950.
222. Dizdaroglu, M. (2005) *Mut. Res.*, **591**, 45–59.
223. Daviet, S., Couve-Privat, S., Gros L., Shinozuka, K., Ide H., Saparbaev M., Ishchenko, A.A. (2007) *DNA repair*, **6**, 8–18.
224. Ischenko, A.A., Saparbaev, M.K. (2002) *Nature*, **415**, 183–187.
225. Colussi, C., Parlanti, E., Degan, P., Aquilina, G., Barnes, D., Macpherson, P. Karan, M. Crescenzi, P., Dogliotti, E., Bignami, M. (2002) *Curr. Biol.* **12**, 912–918.
226. Gagne, J.-P., Hendzel, M.J., Droit, A., Poirier, G.G. (2006) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **18**, 145–151.
227. Huber, A., Bai, P., Ménéssier, de Murcia J., de Murcia, G. (2004) *DNA Repair*, **3**, 1103–1108.
228. Muiras, M.-L. (2003) *Ageing Res. Rev.*, **2**, 129–148.
229. Petermann, E., Keil, C., Oei, S.L. (2005) *Cell. Mol. Life Sci.*, **62**, 731–738.
230. Kashkush, K., Feldman, M., Levy, A.A. (2002) *Genetics*, **160**, 1651–1659.
231. Adams, K.L., Wendel, J.F. (2005) *Curr. Opin. Plant Biol.*, **8**, 135–141.
232. Ware, D., Stein, L. (2003) *Curr. Opin. Plant Biol.*, **6**, 121–127.
233. Ramsey, J., Schemske, D.W. (1998) *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **29**, 467–501.
234. Masterson, J. (1994) *Science*, **264**, 421–424.
235. Seoighe, C. (2003) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **13**, 636–643.
236. Wendel, J.F. (2000) *Plant Mol Biol*, **42**, 225–249.
237. Comai, L. (2005) *Nature Rev. Genet.*, **6**, 836–846.
238. Eiben, B., Bartels, I., Bähr-Porsch, S., Borgmann, S., Gatz, G., Gellert, G., Goebel, R., Hammans, W., Hentemaan, M., Osmers, R., Rauskolb, R., Hansmann, I. (1990) *Am. J. Hum. Genet.*, **47**, 656–663.
239. Hancock, J.M. (2005) *Trends Genet.*, **21**, 591–595.
240. Moore, R.C., Purugganan, M.D. (2005) *Curr. Opin. Plant Biol.*, **8**, 122–128.
241. Bailey, J.A., Church, D.M., Ventura, M., Rocchi, M., Eichler, E.E. (2004) *Genome Res.*, **14**, 789–801.
242. Tuzun, E., Bailey, J.A., Eichler, E.E. (2004) *Genome Res.*, **14**, 493–506.
243. Koszul, R., Caburet, S., Dujon, B., Fischer, G. (2004) *EMBO J.*, **23**, 234–243.
244. Ross-Ibarra, J. (2007) *J. Compilation*, **20**, 800–806.
245. Bailey, J.A., Eichler, E.E. (2006) *Nature Rev. Genet.*, **7**, 552–564.
246. Petrov, D.A. (2001) *Trends Genet.*, **17**, 23–28.
247. Vitte, C., Bennetzen, J.L. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 17638–17643.
248. Piegu, B., Guyot, R., Picault, N., Roulin, A., Saniyal, A., Kim, H., Collura, K., Brar, D.S., Jackson, S., Wing, R.A., Panaud, O. (2006) *Genome Res.*, **16**, 1262–1269.
249. Harrison, P.M., Zheng, D., Zhang, Z., Carriero, N., Gerstein, M. (2005) *Nucleic Acids Res.* **33**, 2374–2383.
250. Bennetzen, J.L., Ma, J., Devos, K.M. (2005) *Ann. Bot.*, **95**, 127–132.
251. Vitte, C., Panaud, O. (2005) *Cytogenet. Genome Res.*, **110**, 91–107.
252. Betran E., Long, M. (2002) *Genetica*, **115**, 65–80.
253. Оно С. (1973) Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М. Мир. 228 С.
254. Ohno, S. (1999) *Cell. Mol. Life Sci.*, **55**, 824–830.
255. Spring, J. (1997) *FEBS Lett.*, **400**, 2–8.
256. Meyer, A., Schartl, M. (1999) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **11**, 699–704.
257. Wendel, J.F., Cronn, R.C., Johnston, J.S., Price, H.J. (2002) *Genetica*, **115**, 37–47.
258. Vinogradov, A.E. (2004) *Curr. Opin. Genet. Devel.*, **14**, 620–626.

259. *Blanc, G., Wolfe, K.H.* (2004) *Plant Cell*, **16**, 1679–1691.
260. *Seoighe, C., Gehring, C.* *Trends Genet.*, **20**, 2004, 461–464.
261. *Gregory, T.R.* (2005) *Annals Botany*, **95**, 133–146.
262. *Vendrely, R., Vendrely, C.* (1948) *Experientia*, **4**, 434–436.
263. *Swift, H.* (1950) *Physiol. Zool.*, **23**, 169–198.
264. *Swift, H.* (1950) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **36**, 643–654.
265. *Kellogg, E.A., Bennetzen, J.L.* (2004) *Am. J. Bot.*, **91**, 1709–1725.
266. *Soltis, D.E., Soltis, P.S., Bennett, M.D., Leitch, I.J.* (2003) *Am. J. Bot.*, **90**, 1596–1603.
267. *Sparrow, A.H., Nauman, A.F.* (1976) *Science*, **192**, 524–527.
268. *Narayan, R.K.J.* (1985) *J. Genet.*, **64**, 101–109.
269. *Narayan, R.K.J.* (1988) *Evol. Trends in Plants*, **2**, 121–130.
270. *Narayan, R.K.J.* (1998) *Annals Bot.*, **82** (Suppl. A), 57–66.
271. *Sparrow, A.H., Nauman, A.F.* (1973) *Brookhaven Symp. Biol.*, **25**, 367–389.
272. *Maszewski, J., Kolodziejczyk, P.* (1991) *Plant Syst. Evol.*, **175**, 23–38.
273. *Raina, S.N., Srivastav, P.K., Rama, R.S.* (1986) *Genetica*, **69**, 27–33.
274. *Finston, T.L., Hebert, P.D.N., Footitt, R.B.* (1995) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **25**, 189–196.
275. *Gambi, M.C., Ramella, L., Sella, G., Protto, P., Aldieri, E.* (1997) *J. Marine Biology Assoc. UK*, **77**, 1045–1057.
276. *Gregory, T.R., Hebert P.D.N., Kolasa J.* (2000) *Heredity*, **84**, 201–208.
277. *Sella, G., Redi, G.A., Ramella, L., Soldi, R., Premoli, M.C.* (1993) *Genome*, **36**, 652–657.
278. *McLaren, I.A., Sévigny, J.-M., Corckett, C.J.* (1988) *Hydrobiologia*, **167/168**, 275–284.
279. *McLaren, I.A., Sévigny, J.-M., Frost, B.W.* (1989) *Can. J. Zool.*, **67**, 565–569.
280. *MacCulloch, R.D., Upton, D.E., Murphy, R.W.* (1996) *Comparative Biochem. Physiol.*, **113B**, 601–605.
281. *Noirot, M., Barre, P., Louarn, J., Duperray, C., Hamon, S.* (2002) *Annals Bot.*, **89**, 385–389.
282. *Price, H.J., Hodnett, G., Johnston, J.S.* (2000) *Annals Bot.*, **86**, 929–934.
283. *Morgante, M.* (2006) *Curr. Opin. Biotechnol.*, **17**, 168–173.
284. *Brunner, S., Fengler, K., Morgante, M., Tingey, S., Rafalski, A.* (2005) *Plant Cell*, **17**, 343–360.
285. *Kalendar, R., Tanskanen, J., Immonen, S., Nevo, E., Schulman, A.H.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 6603–6607.
286. *Biradar, D.P., Bullock, D.G., Rayburn, A.L.* (1994) *Theoret. Applied Genet.*, **88**, 557–560.
287. *Poggio, L., Rosato, M., Chiavarino, A.M., Naranjo, C.A.* (1998) *Annals Bot.*, **82A**, 107–115.
288. *Rai, K.S., Black, W.C.* (1999) *Adv. Genet.*, **41**, 1–33.
289. *Boulesteix, M., Weiss, M., Biemont, C.* (2006) *Mol. Biol. Evol.*, **23**, 162–167.
290. *Murray, B.G.* (2005) *Annals Botany*, **95**, 119–125.
291. *Gregory, T.R.* (2005) in: *The Evolution of the Genome* (Gregory, T.R. ed.) Elsevier Inc., P. 3–87.
292. *Waldegger, S., Lang, F.* (1998) *J. Membrane Biol.*, **162**, 95–100.
293. *Cavalier-Smith, T.* (1980) *Nature*, **285**, 617–618.
294. *Bennett, M.D.* (1972) *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **181**, 109–135.
295. *Knight, C.A., Molinari, N.A., Petrov, D.A.* (2005) *Annals Bot.*, **95**, 177–190.
296. *Wakamiya, I.* (1993) *Am. J. Bot.*, **80**, 1235–1241.
297. *Bennett, M.D., Leitch, I.J., Hanson, L.* (1998) *Annals Bot.*, **82**, 121–134.
298. *Biradar, D.P., Rayburn, A.L.* (1993) *Heredity*, **71**, 300–304.

299. Rayburn, A.L., Dudley, J.W., Bira-dar, D.P. (1994) *Plant Breeding*, **112**, 318–322.
300. Minelli, S., Moscariello, P., Cec-carelli, M., Cionini, P.G. (1996) *Heredity*, **76**, 524–530.
301. Beaulieu, J.M., Moles, A.T., Leitch, I.J., Bennett, M.D., Dickie, J.B., Knight, C.A. (2007) *New Phytologist*, **173**, 422–437.
302. Charlesworth, D. (2002) *Heredity*, **88**, 94–101.
303. Costich, D.E., Meagher, T.R., Yur-kow, E.J. (1991) *Plant Mol. Biol. Reporter*, **9**, 359–370.
304. Delph, L.F., Gehring, J.L., Frey, F.M., Arntz, A.M., Levri, M. (2004) *Evolution*, **58**, 1936–1946.
305. Vinogradov, A.E. (1995) *Evolution*, **49**, 1249–1259.
306. Vinogradov, A.E. (1997) *Evolution*, **51**, 220–225.
307. Roth, G., Blanke, J., Wake, D.B. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 4796–4800.
308. Pagel, M., Johnstone, R.A. (1992) *Proc. R. Soc. Lond.*, **B 249**, 119–124.
309. Vinogradov, A.E. (2003) *Trends Genet.*, **19**, 609–614.
310. Knight, C.A., Ackerly, D.D. (2002) *Ecology Lett.*, **5**, 66–76.
311. Mackay, T.F.C. (2001) *Annu. Rev. Genet.*, **35**, 303–39.
312. Ohno, S. (1972) In *Evolution of Genetic Systems* (ed. Smith, H.H.), 366–370.
313. Doolittle, W.F., Sapienza, C. (1980) *Nature*, **284**, 601–603.
314. Jain, H.K. (1980) *Nature*, **288**, 647–648.
315. Charlesworth, B., Sniegowski, P., Stephan, W. (1994) *Nature*, **371**, 215–220.
316. Le Rouzic, A., Dupas, S., Capy, P. (2007) *Gene*, **390**, 214–220.
317. Orgel, L.E., Crick, F.H.C., Sapienza C. (1980) *Nature*, **288**, 645–646.
318. Nobrega, M.A., Zhu, Y., Plajzer-Frick, I., Afzal, V., Rubin, E.M. (2004) *Nature*, **431**, 988–993.
319. Commoner, B. (1964). *Nature*, **202**, 960–968.
320. Cavalier-Smith, T. (1978) *J. Cell Sci.*, **34**, 247–278.
321. Vinogradov, A.E. (1998) *J. Theor. Biol.*, **193**, 197–199.
322. Shapiro, J.A., von Sternberg, R. (2005) *Biol. Rev.*, **80**, 1–24.
323. Yunis, J.J., Yasmineh, W.G. (1971) *Science*, **174**, 1200–1209.
324. Hsu, T.C. (1975) *Genetics*, **79**, 137–150.
325. Минкевич И.Г., Патрушев Л.И. (2007) *Биоорган. химия.*, **33**, 474–477.
326. Патрушев Л.И., Минкевич И.Г. (2006) *Биоорган. химия*, **32**, 408–413.
327. Patrushev, L.I. (1997) *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **41**, 851–860.
328. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizda-roglu, M., Lunec, J. (2003) *FASEB J.*, **17**, 1195–1214.
329. Laine, J.-P., Egly, J.-M. (2006) *Trends Genet.*, **22**, 430–436.
330. Jaillon, O., Aury, J.-M., Brunet, F., Petit, J.-L., Stange-Thomann, N., Mauceli, E., Bouneau, L., Fischer, C., Ozouf-Costaz, C., Bernot, A., et al. (2004) *Nature*, **431**, 946–957.
331. Kaul, S., Koo, H.L., Jenkins, J., Rizzo, M., Rooney, T., Tallon, L.J., Feldblyum, T., Nierman, W., et al. (2000) *Nature*, **408**, 796–815.
332. Blaustein, A.R., Belden, L.K. (2003) *Evol. Devel.*, **5**, 89–97.
333. David, W.M., Mitchell, D.L., Walter, R.B. (2004) *Compar. Biochem. Physiol., Part C*, **138** 301–309.
334. Willett, K.L., Lienesch, L.A., Di Giulio, R.T. (2001) *Compar. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.* **128**, 349–358.
335. Filho, D.W., Sell, F., Ribeiro, L., Ghislandi, M., Carrasquedo, F., Fraga, C.G., Wallauer, J.P., Simoes-Lopes, P.C., Uhart, M.M. (2002) *Comparative Biochem. Physiol., Part A*, **133**, 885–892.

336. Bennett, M. D. (1971) Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci., **178**, 277–299.
337. Samuilov, V.D. (2005) Biochemistry (Mosc.), **70**, 246–250.
338. Blankenship, R.E. (2001) Trends Plant Sci., **6**, 4–6.
339. Rye, R., Holland, H.D. (1998) Am. J. Sci., **298**, 621–672.
340. Berner, R.A., VandenBrooks, J.M., Ward, P.D. (2007) Science, **316**, 557–558.
341. Frazier, M.R., Woods, H.A., Harrison, J.F. (2001) Physiol. Biochem. Zool., **74**, 641–650.
342. Edgar, B.A. (2006) Nature Rev. Genet., **7**, 907–916.
343. Shapiro, J.A. (1999) Ann. N.Y. Acad. Sci., **870**, 23–35.
344. Chantret, N., Salse, J., Sabot, F., Rahman, S., Bellec, A., et al. (2005) Plant Cell, **17**, 1033–1045.
345. Ma, J., Devos, K.M., Bennetzen, J.L. (2004). Genome Res., **14**, 860–869.
346. Petrov, D.A., Lozovskaya, E.R., Hartl, D.L. (1996) Nature, **384**, 346–349.
347. Shirasu, K., Schulman, A.H., Lahaye, T., Schulze-Lefert, P. (2000) Genome Res., **10**, 908–915.
348. Brouha, B., Schustak, J., Badge, R.M., et al (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **100**, 5280–5285.
349. Rudin, C.M., Thompson, C.B. (2001). Genes Chromosomes Cancer, **30**, 64–71.
350. Servomaa, K., Rytomaa, T. (1990) Int. J. Radiat. Biol., **57**, 331–343.
351. Kaup, S., Grandjean, V., Mukherjee, R., Kapoor, A., Keyes, E., Seymour, C.B., Mothersill, C.E., Schofield, P.N. (2006) Mutation Res., **597**, 87–97.
352. Leitch, I.J., Bennett, M.D. (2004) Biol. J. Linnean Soc., **82**, 651–663.
353. Filatov, D.A. (2004) Mol. Biol. Evol., **2**, 1410–417.
354. Lercher, M.J., Urrutia, A.O., Hurst, L.D. (2002) Nature Genet., **31**, 180–183.
355. Axelsson, E., Webster, M.T., Smith, N.G.C., Burt, D.W., Ellegren, H. (2005) Genome Res., **15**, 120–125.
356. Wolfe, K.H., Sharp, P.M., Li, W.H. (1989) Nature, **337**, 283–285.
357. Chuang, J.H., Li, H. (2004) PLoS Biol., **2**, 253–263.
358. Gaffney, D.J., Keightley, P.D. (2005) Genome Res., **15**, 1086–1094.
359. Williams, E.J.B., Hurst, L.D. (2000) Nature, **407**, 900–903.
360. Zeng, L., Comeron, J.M., Chen, B., Kreitman, M. (1998) Genetica, **102/103**, 369–382.
361. Carmel, L., Rogozin, I.B., Wolf, Y.I., Koonin, E.V. (2007) Genome Res. **17**, 1045–1050.
362. Ellegren, H., Smith, N.G.C., Webster, M.T. (2003) Curr. Opin. Genet. Dev., **13**, 562–568.
363. Drake, J.A., Bird, C., Nemes, J., Thomas, D.J., Newton-Cheh, C., Reymond, A., Excoffier, L., Attar, H., Antonarakis, S.E., Dermitzakis, E.T., Hirschhorn, J.N. (2006) Nature Genet., **38**, 223–227.
364. Chicurel, M. (2001) Science, **292**, 1824–1827.
365. Hall, B.G. (1998) Genetica, **102/103**, 109–125.
366. Берг Л.С. (1977) Труды по теории эволюции. М., Наука, 387 С.
367. Тимофеев–Рессовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. (1969) Краткий очерк теории эволюции, М., Наука, 408 С.
368. Вавилов Н.И. (1987) Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. М., Наука, 259 С.
369. Biémont, C., Vieira, C. (2005) Cyto-genet. Genome Res., **110**, 25–34.
370. Gregory, T.R. (2005) Nature Rev. Genet., **6**, 699–708.
371. Luger, K. (2003) Curr. Opin. Genet. Devel., **13**, 127–135.