

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА СТАРЕНИЯ

© В. А. Галицкий

*Институт биохимии им. А. В. Палладина Национальной академии наук Украины, Киев;
электронный адрес: volha@biochem.kiev.ua*

В статье выдвигается идея о том, что экспрессируемый в стволовых клетках набор микроРНК при помощи РНКi-зависимого метилирования ДНК способен восстанавливать исходный профиль эпигенетических маркеров, свойственный данным клеткам, благодаря чему неограниченно долго поддерживается их плюрипотентный бессмертный статус и достигается минимально возможный уровень активности мобильных элементов генома. Однако дифференцировка клеток начиная с самых ранних стадий требует репрессии генов некоторых микроРНК, составляющих первичный набор, если данные микроРНК препятствуют экспрессии генов, участвующих в процессах дифференцировки. В результате клетки со временем медленно теряют маркеры репрессированного хроматина, что рано или поздно должно приводить к дерепрессии дремлющих транспозонов и других мобильных элементов соответственно к росту вызванных ими повреждений ДНК и последующей активации клеточных системы репарации ДНК, в том числе механизмов, использующих гомологичную рекомбинацию. Данные механизмы, по нашему мнению, помимо участия в восстановлении ДНК вызывают и несанкционированные рекомбинации в теломерных кэпах, так как последние представляют собой предрекомбинационные структуры. Также не исключено, что сами транспозазы могут инициировать подобные рекомбинации. В результате Т-петли должны замыкаться в кольца, а теломеры соответственно укорачиваться на длину утраченной кольцевой ДНК. Данный процесс может вызвать быстрое истощение одной или нескольких теломер и, таким образом, последующее старение, остановку клеточного цикла и апоптоз клеток, у которых проявилась несанкционированная рекомбинационная активность. Вероятно, с возрастом значительное количество клеток в организме достигает порога несанкционированной активации дремлющих элементов генома; последующий апоптоз большинства данных клеток и предопределяет старение как биологическое явление.

Ключевые слова: микроРНК, метилирование ДНК, дифференцировка клеток, транспозон, теломера, рекомбинация, старение.

Принятые сокращения: ДНК-ПК — ДНК-зависимая протеинкиназа, п. н. — пара нуклеотидов, DNMT1 — ДНК-метилтрансфераза 1, DNMT3b — ДНК-метилтрансфераза 3b, HP1 — heterochromatin protein 1, IL — интерлейкин, kb — килобаза, LAΔ50 — мутантный ламин А, miРНК — микроРНК, MITE — miniature inverted-repeat transposable element, RISC — RNA interfering silencing complex, РНКi — интерферирующая РНК, siРНК — короткая интерферирующая РНК, TIR — terminal inverted repeat.

В то время как количество делений специализированных клеток организма ограничено, хотя продолжительность их жизни может существенно различаться, составляя от нескольких дней (например, у нейтрофилов) до многих десятков лет (у нейронов и клеток иммунологической памяти), стволовые клетки, дающие начало всем остальным клеткам, являются, по-видимому, бессмертными. Кроме них способность ускользать от старения приобретают клетки, подвергшиеся трансформации *in vivo* или *in vitro*, несмотря на то что они, как правило, в той или иной степени дифференцированы и полностью признаков специализации не утрачивают. Молекулярные механизмы данных явлений в настоящее время интенсивно изучаются, тем не менее предложенные идеи не позволяют создать единую картину старения, понять его эволюционное происхождение, многочисленные противоречия и парадоксы, смысл эмпирически установленных закономерностей, а также причины, по которым эти закономер-

ности не оказываются применимыми для организмов некоторых видов. Неизвестен никакой фундаментальный принцип, который запрещал бы возможность бесконечного существования многоклеточных организмов, и тем не менее все они подвержены старению. Старение необратимо и затрагивает все ткани и системы, что затрудняет понимание его природы, установление причинно-следственных связей и поиск отвечающих за него механизмов. Отдельные клеточные линии легко обессмертить *in vitro*, но на уровне организма старение очень трудно приостановить и пока что невозможно отметить; по-видимому, на сегодня только низкокалорийная диета и некоторые цитостатики могут по не вполне ясным причинам существенно замедлить его скорость. Вероятно, в общем случае старение не вызывается какими-либо специальными механизмами, иначе даже спонтанные нарушения в их функционировании, например мутации, легко приводили бы к долголетию, чего не наблюдается: известны лишь за-

болевания, вызывающие преждевременное старение. Также по неизвестной причине быстрее, чем обычно, стареют клонированные организмы.

Клетки в организме взаимозависимы, синтезируя цитокины или презентуя на своей мембране костимуляторные и корцепторные молекулы, являющиеся для других клеток факторами роста, выживания и дифференцировки. Например, эпителиоциты тимуса синтезируют IL-7, защищающий созревающие Т-клетки от гибели в ключевые моменты дифференцировки. Тимоциты в свою очередь способствуют выживанию клеток тимусного эпителия. Атрофия тимуса, т. е. гибель тимусных эпителиоцитов вследствие апоптоза и их замещение соединительной тканью, считающаяся едва ли не ключевым проявлением старения в иммунной системе, может быть вызвана экспериментально посредством введения антител к IL-7; показательно, что в этом случае она обратима (Bhatia et al., 1995). Это означает, что на тканевом уровне старение может быть обусловлено распадом межклеточных взаимодействий, принимающим характер порочного круга, — апоптоз одних клеток приводит к гибели других клеток и все более нарастающему снижению синтеза цитокинов, при помощи которых данные клетки поддерживали существование друг друга. Но что выступает в роли инициатора данного распада?

На клеточном уровне при старении и особенно при синдромах преждевременного старения наблюдаются нарушения архитектоники клеточных ядер фибробластов, изменение толщины и белкового состава ядерной ламины. Также имеют место эрозия теломер, сегодня считающаяся одним из главных механизмов ограничения пролиферации и старения клеток, нарастание концентрации проапоптозных маркеров, деметилирование ДНК и увеличение количества ее повреждений (см. далее). В данной работе рассмотрены возможные причины упомянутых явлений и их связь со старением, а также предпринята попытка выяснить, почему дифференцировка клеток сопровождается утратой ими бессмертия.

Эрозия теломер в качестве молекулярных часов продолжительности жизни клетки

ДНК эукариотических хромосом является линейной, и так как ДНК-полимераза может начинать синтез ДНК лишь при наличии РНК-прайма и ведет его в направлении $5' \rightarrow 3'$, несколько нуклеотидов (участок, занимаемый праймером) на $3'$ -концах обеих матричных цепей не реплицируются. Как следствие теломеры хромосом при каждом раунде репликации, закономерно сопровождающем деление клетки, должны терять определенное число нуклеотидов. У одноклеточных организмов, недифференцированных и трансформированных клеток, а также некоторых зрелых клеток, в частности активированных Т-лимфоцитов, данную потерю компенсирует восстановление нуклеотидных последовательностей теломер особым ферментом с обратнo-транскриптазной активностью — теломеразой (Pawelec et al., 2002; Shay, Wright, 2005). Большинство нормальных клеток многоклеточных организмов, напротив, во время дифференцировки утрачивают активность теломеразы, и поэтому при каждом делении их теломеры все больше укорачиваются, из-за чего общее число делений таких клеток не может превысить некий предел (лимит Хейфлика — см.: Hayflick, Moorhead,

1961), детерминированный генетически — исходным количеством теломерной ДНК. Косвенное негативное влияние на длину теломер, вызванное затруднениями доступа к ним теломеразы, оказывают все теломерасвязывающие белки, а также метилирование ДНК и гистонов, так как оно усиливает связь теломер с ядерной ламиной (Blasco, 2004; Gonzalo et al., 2006). Но в то же время и нарушение данной связи, наблюдающееся, в частности, при синдроме Хатчинсона—Гилфорда, резко усиливает эрозию теломер (см. далее).

Теломерная ДНК, состоящая приблизительно из 1000 tandemных повторов TTAGGG, находится в комплексе с белками TRF1 и TRF2 (telomeric repeat binding factor 1 and 2), стабилизирующими особые структуры теломеры — Т- и D-петлю (Griffith et al., 1999). Эти петли возникают вследствие внедрения выступающего $3'$ -конца в комплементарный ему участок двойной спирали ДНК, благодаря чему конец хромосомы в норме маскируется и не распознается клеточными механизмами репарации ДНК. Однако в случае исчерпания tandemных теломерных повторов петли, копирующие теломеру, распадается, так как на конце хромосомы не остается участков, комплементарных последовательности $3'$ -конца. Раскрытый конец хромосомы воспринимается субъединицей Ku86 ДНК-зависимой протеинкиназы (ДНК-ПК) как двухцепочечный разрыв ДНК, что предопределяет активизацию данного фермента. ДНК-ПК в свою очередь пытается активировать зависимую от белка Nbs1 (Nijmegen breakage syndrome protein 1) систему репарации двухцепочечного разрыва путем негомологичного концевое присоединения (Zhou, Elledge, 2000), но, поскольку конец ДНК этой системы репарирован быть не может, ДНК-ПК и рекрутированные ею механизмы репарации ДНК остаются активными продолжительное время. Как следствие в ядре накапливается достаточное для приостановки пролиферации и инициации апоптоза количество фосфорилированного ими фактора p53 (Von Zglinicki et al., 2005) даже в случае демаскировки лишь одного теломерного конца, что, собственно, и наблюдается при старении клеток (Shay, Wright, 2005). Если критической эрозии подверглось несколько теломер, может наблюдаться их слияние друг с другом, что также является характерным признаком теломерной дисфункции.

Очевидно, меньшее количество делений и продолжительность жизни клеток должны предопределять и меньшую продолжительность существования организма. В свою очередь максимальная продолжительность жизни клетки, как принято считать в наше время, определяется, с одной стороны, исходной длиной теломер, а с другой — снижением активности или инактивацией теломеразы в зрелых клетках (Shay, Wright, 2005). Таким образом, продолжительность жизни организмов разных видов должна прямо коррелировать с длиной их теломерной ДНК. Тем не менее данной корреляции не наблюдается — например, длина теломер в хромосомах человека составляет приблизительно 15 kb (Shay, Wright, 2005), тогда как у мышей, продолжительность жизни которых в десятки раз меньше, чем у человека, — 30—150 kb — в зависимости от вида (Cherif et al., 2003). Заметим, что длина РНК-прайма, необходимого для начала репликации ДНК, составляет всего 4—15 нуклеотидов (Frick, Richardson, 2001), известно также, что концы хромосом, лишенных теломеразы клеток, за 1 репликацию теряют лишь 3—5 п. н. у дрожжей (Zakian, 1995) и 3—6 п. н. у трипаносомы (Dreesen et al., 2005). В то же время скорость по-

тери теломерных повторов клетками многоклеточных организмов — 55—800 п. н. за 1 цикл репликации ДНК (Forsyth et al., 2003), что соразмерно с длиной Т-петли, составляющей 200—500 п. н. (Stansel et al., 2001), — в несколько десятков раз превышает уровень, который наблюдался бы, если бы эти повторы терялись лишь вследствие невозможности репликации 3'-концов ДНК хромосом. Кроме того, если бы теломерные повторы терялись только вследствие невозможности репликации, наблюдалась бы равная степень эрозии всех теломер, в то время как в клетке имеет место неравномерная утрата ДНК разными теломерами, вследствие чего кэп теряет, как правило, лишь одну из них (Shay, Wright, 2005). Это также указывает на то, что на эрозию теломер оказывает влияние и какой-то дополнительный фактор.

Можно предположить, что роль данного фактора играет разная степень связи теломер с ядерной ламинной. Она могла бы предопределять, в частности, разный уровень доступности теломер для теломеразы, тогда исходная длина или степень восстановления теломерной ДНК была бы неодинаковой — более доступные теломеры оказывались бы длиннее, что вызывало бы увеличение продолжительности жизни клеток. Однако высвобождение теломер, напротив, оказывает лишь негативное влияние на их длину и продолжительность жизни клетки (за исключением некоторых линий трансформированных клеток, использующих альтернативный механизм удлинения теломер), о чем пойдет речь в следующем разделе.

Связь нарушений взаимодействия хроматина и ядерной ламинной с преждевременным старением

Во внутренней ядерной мембране закорены многочисленные интегральные белки, с которыми со стороны кариоплазмы связана ламинная — сложная трехмерная белковая сеть толщиной 10—20 нм (Alberts et al., 2002; Stewart et al., 2007). Ее основными составляющими являются ламинные А-, В- и С-типа — белки, которые принадлежат к промежуточным филаментам типа V (Goldman et al., 2002). Ламинные В-типа являются продуктами отдельных генов и экспрессируются во всех клетках (Vaughan et al., 2000), тогда как ламин А и ламин С кодируются одним и тем же геном, а их аминокислотные последовательности различаются лишь на С-конце вследствие альтернативного сплайсинга мРНК (Quinlan et al., 1995). Экспрессия ламинных А и С наблюдается в дифференцированных клетках и начинается во время органогенеза (Rober et al., 1989), впрочем, нокаут гена данных белков у мыши не препятствует развивающемуся организму достигать взрослого состояния, хотя и нарушает целостность клеточного ядра, вызывая этим отдельные аномалии (Sullivan et al., 1999). Молекулы ламинных способны связываться друг с другом, формируя сложную пространственную структуру.

Интегральные белки внутренней ядерной мембраны, в частности LAP1, LAP2 (lamina-associated polypeptides 1 and 2), эмерин, рецептор ламин В (LBR — lamin B receptor), MAN1 присоединяют белки HP1 и BAF (barrier-to-autointegration factor), создавая возможности для возникновения связей с хроматином (Stewart et al., 2007). С хроматином взаимодействует и ламин В. Связь с ядерной мембраной характерна для транскрипционно неактивного хроматина — метилированные гистоны высоко-

избирательно распознаются хромодоменами белков PcG (Polycomb group protein) и HP1 (heterochromatin protein 1), благодаря чему нуклеосомы вместе со связанными с ними участками ДНК конденсируются в гетерохроматин. Известно также, что ламинные и перечисленные интегральные белки внутренней ядерной мембраны взаимодействуют с отдельными транскрипционными факторами и белками, которые принимают участие в клеточном цикле (Stewart et al., 2007).

Мутации белков ядерной ламинной негативно отражаются на механических свойствах клеток и отвечают за целый ряд наследственных синдромов (ламинопатий), особое место среди которых занимает прогерия Хатчинсона—Гилфорда — преждевременное старение, молекулярной основой которого чаще всего является замена цитозина на тимин в 11-м экзоне гена ламин А/С в положении 1824, которое отвечает триплету, кодирующему глицин-608 (Eriksson et al., 2003; Goldman et al., 2004). Данная замена не нарушает смысла кодона, однако активирует скрытый сайт сплайсинга в транскрипте, вследствие чего мутантный ламин А (LAD50) теряет вблизи С-конца последовательность из 50 аминокислотных остатков, содержащую сайт протеолиза (De Sandre-Giovannoli et al., 2003). В результате фарнезилированный хвост, отвечающий за перенаправление белков в ядро и их закоривание во внутренней ядерной мембране, в молекуле LAD50 в отличие от нормальной ламин А не отщепляется. Это приводит к накоплению и неправильной ориентации белка в ядерной ламинной (молекулы располагаются перпендикулярно внутренней мембране, а не параллельно, как в норме), резкому утолщению самой ламинной и специфическим нарушениям морфологии ядра (Goldman et al., 2004). И хотя ламин А не взаимодействует с хроматином, для клеток, экспрессирующих ламин LAD50, по не вполне ясным причинам характерны падение уровня экспрессии белков HP1 и LAP2, потеря эпигенетических маркеров гистонов (Scaffidi, Misteli, 2005), резкое повышение риска повреждений ДНК (Liu et al., 2005), рост активности механизмов апоптоза (Scaffidi, Misteli, 2006), укорочение теломер хромосом и снижение лимита Хейфлика (Wallis et al., 2004; Huang et al., 2008), сохраняющееся даже при восстановлении активности теломеразы (Wallis et al., 2004).

В связи с этим можно предположить, что неправильно ориентированный LAD50 экранирует и вытесняет из внутренней ядерной мембраны белки, взаимодействующие с хроматином, вследствие чего возрастает концентрация свободной формы белков HP1 и LAP2, и это вызывает падение уровня экспрессии их генов, вероятно регулируемых концентрацией конечного продукта по принципу отрицательной обратной связи.

Также известно, что по крайней мере в случае генов *λ5* и *VpreB*, кодирующих субъединицы суррогатной легкой цепи В-клеточного рецептора, формирование связей между их ДНК и гетерохроматином при помощи транскрипционного фактора Ikaros вызывает, вероятно вследствие облегчения доступа хроматинре моделирующих комплексов NuRD и SWI—SNF — ремоделирование хроматина и репрессию данных генов (Sabbattini, Dillon, 2005). Учитывая данный феномен, можно предположить, что эпигенетические маркеры репрессии теряются гистонами из-за того, что хроматин, утрачивая связь с ядерной ламинной, ускользает от воздействия хроматинре моделирующих комплексов и, оказываясь в транскрипционно активном окружении, подвергается транскрипции, теряя мар-

керы репрессии (известно, что РНК-полимераза II ассоциирована с хроматинредеформирующими комплексами и гистон-ацетилазами; см.: Orphanides, Reinberg, 2000). Кроме того, возможно, что нанесение метильных меток *de novo* не оказывается полным, если репрессируемый участок ДНК не устанавливает связей с ламинной. Механизм ускорения эрозии теломер будет рассмотрен несколько позже.

РНКi-зависимое метилирование ДНК и аллельное исключение

Исследование последних лет показало, что регулировать экспрессию генов могут не только агенты белковой природы, но и интерферирующие РНК (РНКi). Короткие интерферирующие РНК (siРНК), образующиеся в клетке вследствие распознавания и расщепления двухцепочечной РНК при участии эндорибонуклеазы III Dicer, комплекса RISC (RNA interfering silencing complex) и белка семейства Argonaute, могут связываться с комплементарными участками молекул РНК, инициируя прекращение их трансляции и разрушение, в результате чего экспрессия генов прерывается на посттранскрипционной стадии (Zamore, 2002; Tijsterman, Plasterk, 2004). Также известны микроРНК (miРНК), имеющие собственные клеточные гены, с которых они считываются в виде шпилькообразных РНК-предшественников (pri-miРНК). Последние сперва преобразуются ядерной рибонуклеазой III Drosha в двухцепочечные pre-miРНК, экспортируются в цитоплазму, где в дальнейшем процессируются подобно siРНК. Зрелые miРНК участвуют в регуляции экспрессии генов эукариотических клеток (Hutvagner, Zamore, 2002; He, Nannon, 2004), в том числе принимающих участие в процессе дифференцировки: в частности, набор экспрессируемых miРНК закономерно изменяется во время Т-лимфопоэза (Wu et al., 2007).

Посттранскрипционный miРНК-зависимый сайленсинг у клеток животных имеет определенные особенности, вызванные тем, что в данном случае с сайтом в последовательности-мишени спаривается не вся молекула miРНК, а лишь ее seed-участок — последовательность, расположенная с 1-го или 2-го по 7-й или 8-й нуклеотид на 5'-конце miРНК (Lai, 2005; Lewis et al., 2005), и иногда еще несколько нуклеотидов, расположенных на 3'-конце. Поэтому рибосома, протягивая матричную РНК сквозь себя во время трансляции, способна легко отделить присоединенные miРНК, из-за чего последние могут проявлять свое влияние, прикрепляясь лишь в тех случаях РНК-мишени, которые не транслируются рибосомами, т. е. в 3'-концевой нетранслируемой области (Grimson et al., 2007).

Сам феномен интерферирующих РНК, их тесная связь с дифференцировкой клеток и механизмами ее защиты от чужеродной генетической информации требуют своего осмысления. Интригующим представляется уже то, что доля последовательностей генов miРНК в геноме является необычно большой и достигает, по недавним оценкам, 3 % его объема (Taganov et al., 2007). Показано, что лишь на посттранскрипционном уровне miРНК могут регулировать экспрессию не меньше 30 % структурных генов генома (Lewis et al., 2005). В то же время известно, что по крайней мере siРНК могут вызвать сайленсинг генов и на транскрипционном уровне, вызывая метилирование ДНК, механизм которого неизвестен (Kawasaki, Taira,

2004). Кроме того, предшественники miРНК способны образовывать шпильки, а это прежде всего означает, что они транскрибировались из генов, которые содержат концевые инвертированные повторы (terminal inverted repeat — TIR) — признак, свойственный мобильным элементам генома. Но если гены современных miРНК являются потомками транспозонов, то почему их так много, и как клетка смогла использовать эти потенциально опасные последовательности (подавляющая часть мутаций вызывается мобильными элементами генома) в своих интересах?

В недавнем нашем исследовании (Halytskiy, 2007, 2008) было выявлено, что в составе siРНК и miРНК частота встречаемости динуклеотидов 5'-CG-3' и тринуклеотидов 5'-CNG-3', т. е. сайтов, комплементарных сайтам метилирования в ДНК, намного превышает уровень, случайный для генома и для последовательностей самих интерферирующих РНК. Данное обстоятельство указывает на то, что динуклеотиды 5'-CG-3' и тринуклеотиды 5'-CNG-3' в интерферирующих РНК должны играть важную биологическую роль.

Учитывая, что метилирование ДНК *de novo* способно вызываться присутствием искусственной siРНК, направленной против 5'-CG-3'-содержащих последовательностей, и зависит от присутствия ДНК-метилтрансфераз DNMT1 и DNMT3b (Kawasaki, Taira, 2004), мы предположили, что интерферирующие РНК способны гибридизироваться с последовательностями ДНК и вызывать в них при помощи ДНК-метилтрансферазы DNMT3b метилирование *de novo* цитозина тех динуклеотидов 5'-CG-3' и тринуклеотидов 5'-CNG-3', которые оказались связанными с комплементарными сайтами в составе интерферирующей РНК (Halytskiy, 2007).

Активность поддерживающей метилазы DNMT1 в ходе иницированного siРНК или miРНК метилирования ДНК *de novo* должна проявляться, очевидно, после отделения интерферирующей РНК и восстановления двухцепочечной структуры ДНК и быть необходимой для метилирования другой цепи ДНК — комплементарной той, которая подверглась метилированию вследствие вышеупомянутой гибридизации с РНКi. Также предложенные механизмы должны или прямо, или опосредованно (через нанесение на ДНК метильных меток) привлекать к хроматину, содержащему участок ДНК, распознанный РНКi, гистон-деацетилазы и гистон-метилтрансферазы, тем самым обуславливая соответственно отщепление от гистонов маркеров активного хроматина и нанесение на них *de novo* маркеров репрессии.

Подобный механизм РНКi-зависимого метилирования ДНК позволяет объяснить и молекулярную основу аллельного исключения. Мы предполагаем, что аллельному исключению подвергается ген, в котором транскрибируется как матричная, так и антипараллельная цепь ДНК, причем транскрипт одной из них является предшественником miРНК. В связи с этим заметим, что некоторые miРНК происходят из интронных последовательностей на самом деле (Lin et al., 2006). Тогда во время считывания РНК-полимеразой одной из цепей ДНК зрелая форма упомянутой miРНК получает возможность сканировать последовательность другой цепи и, выявив комплементарный себе участок (который находится в гене этой miРНК), связываться с ним. Поскольку РНК-полимераза, транскрибируя ту или иную цепь ДНК, должна отделять или расщеплять связанные с ней молекулы miРНК (аналогично тому, как рибосома отделяет интерферирующие РНК,

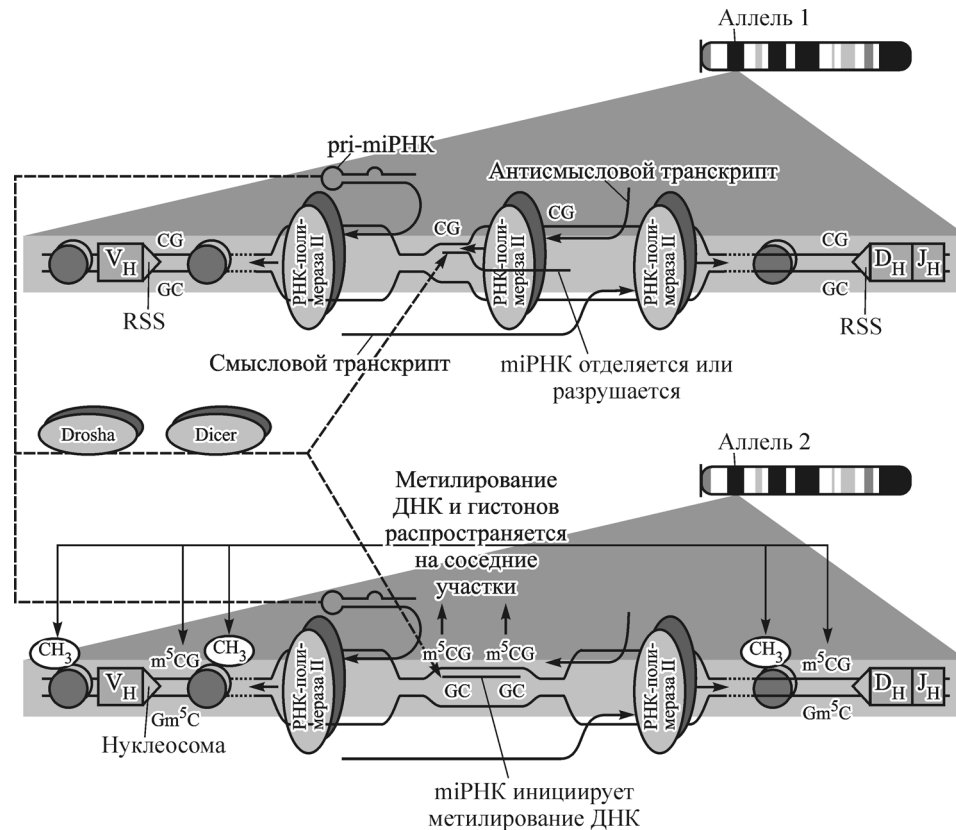


Рис. 1. Гипотетический механизм РНКi-зависимого аллельного исключения локуса гена иммуноглобулиновой цепи. Аллель 1 готов к рекомбинации, аллель 2 подвергается репрессии.

m^5C — 5-метилцитозин, С — цитозин, G — гуанин, miRNA — микроРНК, pre-miRNA — предшественник микроРНК, CH_3 — метильная группа RSS — рекомбинационная сигнальная последовательность, V_H , D_H , J_H — соответственно вариабельный сегмент, сегмент разнообразия и соединительный сегмент гена тяжелой иммуноглобулиновой цепи.

которые гибридизировались с транскрибуемой мРНК), вследствие чего они могут не успевать инициировать и (или) поддерживать вышеупомянутые изменения эпигенетических маркеров, мы предполагаем, что количества miRNA, считанной только с одного аллеля, недостаточно для его репрессии. Аллельное исключение наступает вследствие того, что в клетке, где функционируют два или больше аллелей гена, концентрация считываемой с них miRNA рано или поздно достигает уровня, при котором РНК-полимераза не успевает отделить miRNA, спаренную с транскрибируемой цепью ДНК, до того как она привлечет ДНК-метилтрансферазу, и инициирует нанесение метильной метки на связанный участок ДНК, модифицирование близлежащих гистонов и дальнейшее ремоделирование хроматина (рис. 1; Halytskiy, 2008).

Участие интерферирующих РНК в обеспечении стабильности клеточного генома

Учитывая то обстоятельство, что miRNA являются производными мобильных элементов класса MITE (miniature inverted-repeat transposable elements) (Piriyaongsa, Jordan, 2007), первоначальная биологическая задача предложенного механизма РНКi-зависимого аллельного исключения заключалась, по нашему мнению, в защите стабильности генома транскрипционного сайленсинга транспозонов и других мобильных элементов. Очевидно, клетки в процессе эволюции научились распознавать уни-

версальный признак присутствия транспозонов — транскрипты последовательностей, в которые они интегрировались, из-за наличия TIR в составе мобильных элементов генома формируют шпилькообразные участки, оказывающиеся двухцепочечной РНК. По нашему мнению, клетки могли специфически снижать активность множественных копий транспозонов до минимально возможного уровня, допуская транскрипцию максимум одной из них и используя РНК, считанную с нее и процессированную при помощи эндонуклеаз Drosha и Dicer, для маркировки всех остальных копий метками репрессии посредством предложенного механизма РНКi-зависимого метилирования ДНК.

Заметим, что отличительной особенностью данного механизма является обеспечение реставрации репрессивной эпигенетической информации даже в случае ее полной утраты тем или другим участком ДНК — последний при помощи соответствующей miRNA метилируется de novo. Также можно предполагать, что само сохранение гетерохроматина зависит от указанного механизма. Аллельное исключение защищало клетки и от последствий чрезмерной копииности отдельных генов, вызванной мобильными элементами генома. Также подобные механизмы, используя siRNA, противодействовали горизонтальному переносу генов и предотвращали размножение проникающей чужеродной генетической информации, вызывая ее сайленсинг или даже, если чужеродная информация была представлена только в виде РНК, полное разрушение.

С другой стороны, miРНК в целом играют роль ингибиторов клеточной дифференцировки. Например, при гемопозе переходу клеток на этап общего миелоидного предшественника препятствуют miРНК miR-17, miR-24 и miR-155, на этап общего лимфоидного предшественника — miR-146, на тот и другой этапы — miR-128 и miR-181 (Georgantas et al., 2007). Дальнейший переход общего миелоидного предшественника на этапы предшественника гранулоцитов и макрофагов, а также предшественника макрофагов и В-клеток предотвращают miРНК miR-16, miR-103 и miR-107. МикроРНК miR-223 блокирует гранулоцитопоз после этапа предшественника гранулоцитов и макрофагов, miR-221 и miR-222 — эритроцитопоз после этапа предшественника мегакариоцитов и эритроцитов (Georgantas et al., 2007). Молекулярные механизмы этих эффектов сегодня являются более или менее понятными. В частности, miРНК miR-221 и miR-222 препятствуют трансляции mРНК рецептора c-Kit, поскольку сайт связывания seed-участка этих miРНК типа 7 mer-m8 (5'-GCTACAT-3') содержится в 3'-нетранслируемой области данной mРНК (Felli et al., 2005), а также значительного числа других mРНК, кодирующих факторы Fos, Meis1, Ets1, CREBBP и PPAR γ (Georgantas et al., 2007). Но почему участие miРНК в приостановке дифференцировки клеток столь распространено?

Учитывая вышесказанное, мы выдвигаем гипотезу, согласно которой имеющийся в стволовых клетках специфический набор miРНК репрессирует гены, отвечающие за дальнейшие этапы созревания, поскольку они содержат последовательности, сходные с последовательностями мобильных элементов генома, экспрессия которых должна подавляться. Так как образование новых генов и перестройка их регуляторных участков происходили, скорее всего, при участии транспозонов, присутствие данных последовательностей в составе тех или иных генов выглядит вполне закономерным.

Ускорение эрозии теломер вследствие несанкционированных рекомбинаций

Дифференцировка клеток начиная от наиболее ранних стадий нуждается в свою очередь в репрессии генов тех miРНК из числа экспрессирующихся в клетке, которые препятствуют процессам специализации. Кроме того, экспрессия miРНК, по-видимому, не восстанавливается после завершения этапов специализации, которым они мешали. И хотя вредные последовательности генома, репрессированные данными miРНК, могут еще продолжительное время находиться в состоянии сайленсинга благодаря поддерживающему метилированию ДНК, точность которого составляет не менее 99 % (Riggs, Xiong, 2004), и взаимному восстановлению маркеров репрессии на ДНК и гистонах, все же трудно надеяться, что механизмы воспроизведения эпигенетической информации функционируют абсолютно безошибочно. Поэтому с течением времени дифференцирующиеся клетки должны медленно терять маркеры репрессивного хроматина (и постепенное снижение уровня метилирования ДНК на самом деле наблюдается; см.: Vanyushin et al., 1973), что рано или поздно должно приводить к дерепрессии определенного числа дремлющих транспозонов, ретротранспозонов, других мобильных элементов генома и как следствие — к лавинообразному росту вызванных ими транспозиций и других повреждений ДНК.

Можно ожидать, что активированные вследствие этого клеточные системы репарации ДНК, в частности зависящие от белка BRCA1 механизмы, использующие гомологичную рекомбинацию, помимо восстановления повреждений ДНК вызывают и несанкционированные рекомбинации в теломерных кэпах, поскольку последние представляют собой, по существу, готовые предрекомбинационные структуры. Также не исключено, что такие рекомбинации могут непосредственно инициировать кодируемые мобильными элементами генома транспозазы, если несоответствие теломерных повторов специфическим для данных ферментов последовательностям каким-то образом обходится. И в том, и в другом случае должны происходить замыкание Т-петли в кольцо и соответственно укорочение теломеры на длину утраченной ДНК (рис. 2). Такой процесс может вызывать быстрое истощение одной или нескольких наиболее доступных теломер, которое не компенсируется при нормальной и тем более сниженной активности теломеразы, несмотря, в том числе, и на возможно большую доступность теломер, также частично лишенных эпигенетических маркеров, для теломеразы. Кроме того, данный процесс должен ускоряться по мере продолжительности существования клетки, так как со временем ее хроматин будет терять все больше маркеров репрессии. Необратимой эрозии теломер клетки могут избежать лишь при гиперэкспрессии теломеразы, свойственной трансформированным клеткам.

Значительный геропротекторный эффект оливомицина, актиномицина D и некоторых других цитостатиков, препятствующих транскрипции ДНК (Frolkis, Muradian, 1991; Anisimov, 2001), может быть объяснен тем, что данные препараты подавляют дерепрессию мобильных элементов генома или же нарушают их функционирование. С одной стороны, так как окончательное отщепление маркеров репрессии на участке ДНК, репозиционированном из гетерохроматина в эухроматин, происходит в ходе транскрипции благодаря ферментам, связанным с РНК-полимеразой (см. выше), ингибиторы транскрипции, замедляя продвижение РНК-полимеразы вдоль матрицы, должны способствовать более длительному сохранению метильных меток. С другой стороны, поскольку актиномицин D (и, согласно недавним сообщениям, оливомицин, принадлежащий к той же группе цитостатиков) является ингибитором ДНК-топоизомеразы I (Trask, Muller, 1988), а данный фермент может быть вовлечен в процесс активизации некоторых провирусов, так как сайты их рекомбинации сходны с сайтами узнавания ДНК-топоизомеразы I (Bullock et al., 1985), возможно, что указанные препараты непосредственно препятствуют высвобождению мобильных элементов генома и проявлению их активности.

При прогерии Хатчинсона—Гилфорда экранирование ламин LAD50 белков ламины, в частности белка HP1 и ламина В, которые несут сайты прикрепления хроматина, очевидно, вызывает нарушение связей между хроматином и ядерной ламинной. Так как данные связи должны способствовать нанесению *de novo* на хроматин и последующему сохранению маркеров репрессии (см. выше), их нарушение может, на наш взгляд, сильно ускорять процесс дерепрессии дремлющих мобильных элементов, результатом чего и оказываются характерные для данного синдрома признаки геномной нестабильности и преждевременной эрозии теломер. Кроме того, вытеснение теломер из гетерохроматина, вероятно, повышает их доступность для рекомбинации.

При нормальном старении мутантный ламин LAD50, который спорадично образуется в небольшом количестве

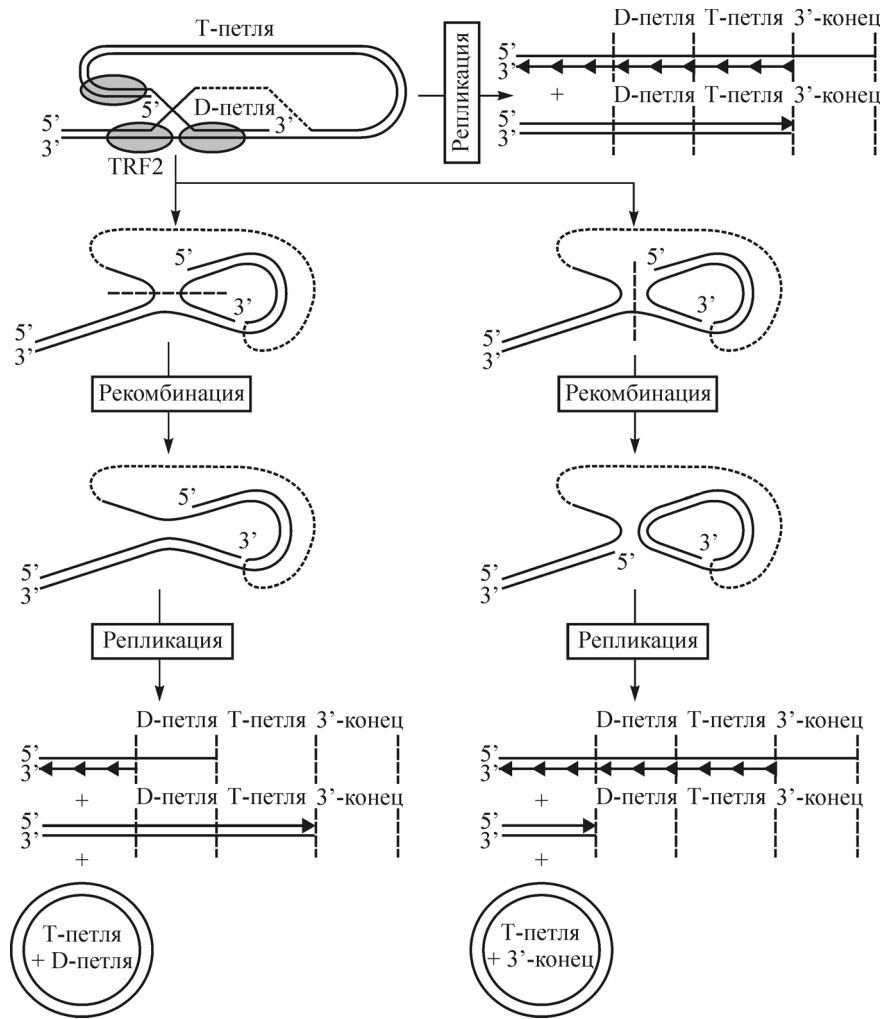


Рис. 2. Ожидаемое ускорение эрозии теломер вследствие несанкционированного рекомбинационного процесса.

D-петля обозначена *штриховой линией*, ее относительная длина при переходе к структурам Холлидея не сохранялась.

в клетке вследствие неправильного сплайсинга мРНК (Scaffidi, Misteli, 2006), также выявляется в ядерной ламине. Однако есть сомнения, что и в этом случае ламин LAΔ50 вытесняет хроматин: скорее наоборот, ламин LAΔ50 в определенный момент просто получает возможность накапливаться в ядерной ламине вследствие ослабления связей между ламинной и хроматином из-за вышеупомянутой постепенной потери последним эпигенетических маркеров. Стареющие клетки характеризуются повышенным уровнем активности механизмов апоптоза, однако прямая связь этого явления с присутствием ламина LAΔ50 не является очевидной. Так, угнетения криптогенного сайта сплайсинга в мРНК гена ламина A, вследствие чего уровень LAΔ50 в клетке резко понижался, не приводило к настолько же выраженному падению уровня экспрессии проапоптозных генов (Scaffidi, Misteli, 2006). С другой стороны, экспрессия проапоптозных генов в опухолевых клетках линии HeLa оказалась в несколько раз ниже, чем в нормальных клетках, несмотря на то что синтез ламина LAΔ50 находился приблизительно на том же уровне (Scaffidi, Misteli, 2006). Последнее обстоятельство также весьма показательное — клетки линии HeLa бессмертны, следовательно, присутствие обычного фонового количества ламина LAΔ50 само по себе не может вызывать старение. А первопричиной активации ме-

ханизмов апоптоза при старении нормальных клеток являются, вероятно, рост частоты повреждений ДНК и преждевременная эрозия теломер, вызванные, как предполагается выше, дерепрессией дремлющих мобильных элементов генома.

Взаимосвязь уровня стабильности клеточного генома и скорости эволюции

Из вышесказанного следует, что чем большим уровнем стабильности характеризуется геном, тем медленнее должно наступать истощение теломер и тем короче могут быть последние (кстати, свойственная виду длина теломер устанавливается каждый раз заново во время раннего эмбриогенеза; см.: Schaetzlein et al., 2004). Этим можно объяснить намного более длинный срок жизни человека в сравнении с большинством других видов животных, несмотря на то что хромосомы человека содержат достаточно короткие теломеры. С другой стороны, данное обстоятельство позволяет нам считать теломеры детекторами стабильности клеточного генома. Эрозия теломер должна обеспечивать элиминацию клеток, у которых проявилась не предусмотренная программой развития активизация рекомбинационного процесса и которые пытаются репа-

ризовать ДНК, а следовательно, могут оказаться трансформированными. Причем степень эрозии теломер способна отразить уровень и длительность активности репарационных механизмов, т. е. объем повреждения ДНК, выполняя, таким образом, роль индикатора остающегося ресурса надежности клетки. Так как данный механизм будет наиболее точным и чувствительным лишь в случае, когда не происходит восстановления утраченных теломерных повторов, потеря активности теломеразы почти всеми клетками в процессе специализации является необходимой, поскольку именно дифференцировка должна провоцировать дерепрессию мобильных элементов генома. Тем не менее в некоторых случаях экспрессия генов теломеразы в норме возобновляется, что вызвано специфической функцией, которые должны выполнить определенные клетки в организме. В частности, это наблюдается у лимфоидных клеток на определенных этапах созревания — известно, что благодаря восстановлению теломерной активности количество митозов активированных Т-клеток может в несколько раз превысить лимит Хейфлика (Rawelec et al., 2002), тем самым способствуя клональной экспансии.

К сожалению, иногда клетки — в процессе опухолевой трансформации — обходят эрозию теломер, или восстанавливая экспрессию теломеразы, или воспользовавшись альтернативным механизмом удлинения теломер (ALT). В последнем случае клетки должны дожидаться полной потери теломерами маркеров репрессированного хроматина, вследствие чего деятельность ALT-механизма становится возможной (эпигенетические метки, поддерживая связь хромосом с ядерной ламиной, в норме предотвращают его функционирование). Гибель клеток при этом, несмотря на раскрытие концов теломер, отменяется благодаря несанкционированной активизации антиапоптозных механизмов. Возрастное увеличение онкозаболеваемости, на наш взгляд, обусловлено, в частности, и тем, что именно при старении организма значительное число его клеток достигает предела спонтанной активизации дремлющих мобильных элементов генома, при этом гибель основной массы таких клеток и вызывает старение как биологическое явление.

Вероятно, уровень стабильности генома и длина теломер хромосом зависят от степени изменчивости условий экологической ниши, в которой тот или другой вид существует. В более изменчивых условиях лучше выживают и дают потомство организмы, геном которых имеет меньшую стабильность (и, следовательно, может быстрее накапливать полезные мутации), в то время как долгоживущие организмы быстро становятся все менее приспособленными к изменяющимся условиям существования и вытесняются. При данных обстоятельствах эволюция отбирает организмы со все более низким уровнем репрессии мобильных элементов генома. И наоборот, в условиях стабильности экологической ниши преимуществом пользуются долгоживущие организмы. Эволюционный процесс при этом отбирает организмы с как можно более высоким уровнем сайленсинга мобильных элементов генома. Также более стабильный геном и соответственно меньший риск развития опухолевых процессов в сочетании с большей продолжительностью жизни должны позволить организм закреплять в ходе эволюции большие размеры и (или) более сложное строение, что отражается в известных в геронтологии корреляциях между видовой продолжительностью жизни и массой тела или объемом головного мозга.

Заключение

Таким образом, старение является побочным явлением, сопровождающим дифференцировку клеток. Оно вызывается, как мы предполагаем, депрессией в дифференцированных клетках мобильных элементов генома, что провоцирует ускоренную эрозию теломер, вследствие которой клетки организма преждевременно гибнут. Вероятно, данный процесс прежде всего происходит в клетках соединительной ткани (так как именно их дисфункция является основой преждевременного старения Хатчинсона—Гилфорда, проявления которого весьма сходны с обычным старением), что приводит к дефициту синтезируемых цитокинов, последующему апоптозу зависимых от них других клеток организма и прогрессирующему распаду межклеточных взаимодействий.

По существу, старение весьма близко к медленной инфекции (или и есть инфекция, если выявится, что мобильные элементы генома, прежде всего ретротранспозоны, высвободившиеся в одних клетках, способны поражать другие клетки организма). Теоретически, если бы оказались возможными нокаут или устранение из генома мобильных элементов, играющих ключевую роль в его дестабилизации, или предотвращение их несанкционированной активизации, или же подавление рекомбинационного процесса в теломерах, старение было бы отменено или существенно замедлено. Однако ожидаемые молекулярные основы старения настолько тесно связаны с функционированием фундаментальных генетических и эпигенетических механизмов, что пока трудно предположить, как этого достичь без нежелательных побочных эффектов, в частности последствий подавления рекомбинации ДНК, в норме сопровождающей процессы репарации ДНК, мейоз и лимфопоэз.

Очевидно, что пока лишь восстановление экспрессии генов всех *mi* РНК, свойственных наиболее недифференцированным клеткам, способно полностью переинсталлировать профиль эпигенетических маркеров, необходимый для репрессии транспозонов и восстановления стабильности клеточного генома. Вероятно, это и происходит сразу после оплодотворения яйцеклетки, а также после трансплантации ядер дифференцированных клеток в цитоплазму денуклеированных яйцеклеток.

Список литературы

- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. 2002. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York; London: Garland Sci. Publ. 1400 p.
- Anisimov V. N. 2001. Life span extension and cancer risk: myths. and reality. *Exp. Gerontol.* 36 : 1101—1136.
- Bhatia S. K., Tygrett L. T., Grabstein K. H., Waldschmidt T. J. 1995. The effect of *in vivo* IL-7 deprivation on T cell maturation. *J. Exp. Med.* 181 : 1399—1409.
- Blasco M. A. 2004. Telomere epigenetics: a higher-order control of telomere length in mammalian cells. *Carcinogenesis.* 25 : 1083—1087.
- Bullock P., Champoux J. J., Botchan M. 1985. Association of crossover points with topoisomerase I cleavage sites: a model for nonhomologous recombination. *Science.* 230 : 954—958.
- Cherif H., Tarry J. L., Ozanne S. E., Hales C. N. 2003. Ageing and telomeres: a study into organ- and gender-specific telomere shortening. *Nucl. Acids Res.* 31 : 1576—1583.
- De Sandre-Giovannoli A., Bernard R., Cau P., Navarro C., Amiel J., Boccaccio I., Lyonnet S., Stewart C. L., Munnich A., Le Merrer M., Lévy N. 2003. Lamin A truncation in Hutchinson—Gilford progeria. *Science.* 300 : 2055.

- Dreesen O., Li B., Cross A. M. 2005. Telomere structure and shortening in telomerase-deficient *Trypanosoma brucei*. *Nucl. Acids Res.* 33 : 4536—4543.
- Eriksson M., Brown W. T., Gordon L. B., Glynn M. W., Singer J., Scott L., Erdos M. R., Robbins C. M., Moses T. Y., Berglund P., Dutra A., Pak E., Durkin S., Csoka A. B., Boehnke M., Glover T. W., Collins F. S. 2003. Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson—Gilford progeria syndrome. *Nature*. 423 : 293—298.
- Felli N., Fontana L., Pelosi E., Botta R., Bonci D., Facchiano F., Liuzzi F., Lulli V., Morsilli O., Santoro S., Valtieri M., Calin G. A., Liu C.-G., Sorrentino A., Croce C. M., Peschle C. 2005. MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 102 : 18 081—18 086.
- Forsyth N. R., Evans A. P., Shay J. W., Wright W. E. 2003. Developmental differences in the immortalization of lung fibroblasts by telomerase. *Aging Cell*. 2 : 235—243.
- Frick D. N., Richardson C. C. 2001. DNA primases. *Ann. Rev. Biochem.* 70 : 39—80.
- Frolkis V. V., Muradian K. K. 1991. Experimental life prolongation. CRC Press. 448 p.
- Georgantas R. W., Hildreth R., Morisot S., Alder J., Liu C. G., Heimfeld S., Calin G. A., Croce C. M., Civin C. I. 2007. CD34⁺ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 104 : 2750—2755.
- Goldman R. D., Gruenbaum Y., Moir R. D., Shumaker D. K., Spann T. P. 2002. Nuclear lamins: building blocks of nuclear architecture. *Genes Develop.* 16 : 533—547.
- Goldman R. D., Shumaker D. K., Erdos M. R., Eriksson M., Goldman A. E., Gordon L. B., Gruenbaum Y., Khuon S., Mendez M., Varga R., Collins F. S. 2004. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson—Gilford progeria syndrome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 8963—8968.
- Gonzalo S., Jaco I., Fraga M. F., Chen T., Li E., Esteller M., Blasco M. A. 2006. DNA methyltransferase control telomere length and telomere recombination in mammalian cells. *Nat. Cell Biol.* 8 : 416—424.
- Griffith J. D., Comeau L., Rosenfield S., Stansel R. M., Bianchi A., Moss H., de Lange T. 1999. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*. 97 : 503—514.
- Grimson A., Farh K. K.-H., Johnston W. K., Garrett-Engle P., Lim L. P., Bartel D. P. 2007. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing. *Mol. Cell*. 27 : 91—105.
- Halytskyi V. A. 2007. Mechanism of the initiation of DNA methylation *de novo* by small RNA. *Eur. J. Cancer Suppl.* 5 : 75.
- Halytskyi V. A. 2008. Hypothesis of initiation of DNA methylation *de novo* and allelic exclusion by small RNAs. *Cell Tissue Biol.* 2 : 97—106.
- Hayflick L., Moorhead P. S. 1961. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Aging Res.* 25 : 585—621.
- He L., Hannon G. J. 2004. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat. Rev. Genet.* 5 : 522—531.
- Huang S., Risques R. A., Martin G. M., Rabinovitch P. S., Oshima J. 2008. Accelerated telomere shortening and replicative senescence in human fibroblasts overexpressing mutant and wild-type lamin A. *Exp. Cell Res.* 314 : 82—91.
- Hutvagner G., Zamore P. D. 2002. RNAi: nature abhors a double-strand. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 12 : 225—232.
- Kawasaki H., Taira K. 2004. Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. *Nature*. 431 : 211—217.
- Lai E. C. 2005. miRNAs: whys and wherefores of miRNA-mediated regulation. *Curr. Biol.* 15 (12) : R458—R460.
- Lewis B. P., Burge C. B., Bartel D. P. 2005. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 120 : 15—20.
- Lin S.-L., Miller J. D., Ying S.-Y. 2006. Intronic microRNA (miRNA). *J. Biomed. Biotechnol.* 2006 : 1—13.
- Liu B., Wang J., Chan K. M., Tjia W. M., Deng W., Guan X., Huang J. D., Li K. M., Chau P. Y., Chen D. J., Pei D., Pendas A. M., Cadiñanos J., López-Otín C., Tse H. F., Hutchison C., Chen J., Cao Y., Cheah K. S., Tryggvason K., Zhou Z. 2005. Genomic instability in laminopathy-based premature aging. *Nat. Med.* 11 : 780—785.
- Orphanides G., Reinberg D. 2000. RNA polymerase II elongation through chromatin. *Nature*. 407 : 471—475.
- Pawelec G., Barnett Y., Mariani E., Solana R. 2002. Human CD4⁺ T cell clone longevity in tissue culture: lack of influence of donor age or cell origin. *Exp. Gerontol.* 37 : 265—269.
- Piriyapongsa J., Jordan I. K. 2007. A family of human microRNA genes from miniature inverted-repeat transposable elements. *PLoS One*. 2 : e203.
- Quinlan R., Hutchison C., Lane E. B. 1995. Intermediate filaments proteins. *Protein Profile*. 2 : 795—952.
- Riggs A. D., Xiong Z. 2004. Methylation and epigenetic fidelity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 4—5.
- Rober R.-A., Weber K., Osborn M. 1989. Differential timing of nuclear lamin A/C expression in the various organs of the mouse embryo and the young animal: a developmental study. *Development*. 105 : 365—378.
- Sabbattini P., Dillon N. 2005. The $\gamma 5$ -VpreB1 locus — a model system for studying gene regulation during early B cell development. *Sem. Immunol.* 17 : 121—127.
- Scaffidi P., Misteli T. 2005. Reversal of the cellular phenotype in the premature aging disease Hutchinson—Gilford progeria syndrome. *Nat. Med.* 11 : 440—445.
- Scaffidi P., Misteli T. 2006. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science*. 312 : 1059—1063.
- Schaetzlein S., Lucas-Hahn A., Lemme E., Kues W. A., Dorsch M., Manns M. P., Niemann H., Rudolph K. L. 2004. Telomere length is reset during early mammalian embryogenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 8034—8038.
- Shay J. W., Wright W. E. 2005. Senescence and immortalization role of telomeres and telomerase. *Carcinogenesis*. 26 : 867—874.
- Stansel R. M., de Lange T., Griffith J. D. 2001. T-loop assembly *in vitro* involves binding of TRF2 near the 3' telomeric overhang. *EMBO J.* 20 : 5532—5540.
- Stewart C. L., Roux K. J., Burke B. 2007. Blurring the boundary: the nuclear envelope extends its reach. *Science*. 318 : 1408—1412.
- Sullivan T., Escalante-Alcalde D., Bhatt H., Anver M., Bhat N., Nagashima K., Stewart C. L., Burke B. 1999. Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity leading to muscular dystrophy. *J. Cell Biol.* 147 : 913—920.
- Taganov K. D., Boldin M. P., Baltimore D. 2007. MicroRNAs and immunity: tiny players in a big field. *Immunity*. 26 : 133—137.
- Tijsterman M., Plasterk R. H. A. 2004. Dicers at RISC: the mechanism of RNAi. *Cell*. 117 : 1—3.
- Trask D. K., Muller M. T. 1988. Stabilization of type I topoisomerase — DNA covalent complexes by actinomycin D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 85 : 1417—1421.
- Vanyushin B. F., Nemirovsky L. E., Klimenko V. V., Vasilev V. K., Belozersky A. N. 1973. The 5-methylcytosine in DNA of rats. Tissue and age specificity and the changes induced by hydrocortisone and other agents. *Gerontologia*. 19 : 138—152.
- Vaughan A. O., Whitfield W. G. F., Hutchison C. J. 2000. Lamina function in nuclear envelope growth and DNA replication. *Protoplasma*. 211 : 1—7.
- Von Zglinicki T., Saretzki G., Ladhoff J., d'Adda di Fagagna F., Jackson S. P. 2005. Human cell senescence as a DNA damage response. *Mech. Ageing Develop.* 126 : 111—117.
- Wallis C. V., Sheerin A. N., Green M. H., Jones C., Kipling D., Faragher R. G. 2004. Fibroblast clones from patients with Hutchinson—Gilford progeria can senesce despite the presence of telomerase. *Exp. Gerontol.* 39 : 461—467.
- Wu H., Nelson J. R., Kumar P., Manocha M., Shankar P., Sharp P. A., Manjunath N. 2007. miRNA profiling of naive, effector and memory CD8 T cells. *PLoS One*. 2 : e1020.

Zakian V. A. 1995. Telomeres: beginning to understand the end. *Science*. 270 : 1601—1607.

Zamore P. D. 2002. Ancient pathways programmed by small RNAs. *Science*. 296 : 1265—1269.

Zhou B.-B. S., Elledge S. J. 2000. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature*. 408 : 433—439.

Поступила 29 XII 2008

EPIGENETIC NATURE OF AGEING

V. A. Halyskiy

A. V. Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Science of Ukraine, Kiev;
e-mail: volha@biochem.kiev.ua

The idea proposed in this article is that a specific set of microRNAs expressing in stem cells can restore the initial profile of their epigenetic markers through RNAi-directed DNA methylation, and owing to that the pluripotent immortal status of these cells is supported unlimitedly and possibly minimum level of the mobile genomic elements activity is achieved. However, cell differentiation, starting with the earliest stages, must be accompanied with repression of genes of some microRNAs out of the primary set, otherwise these microRNAs would prevent expression of genes participating in the differentiation processes. Eventually, it results in that the cells slowly lose the repressive chromatin markers and this, sooner or later, will cause derepression of silent transposons and other mobile elements. This, accordingly, leads to the increase in DNA damage induced by these elements, and to following activation of cell systems of the DNA repair including mechanisms based on homologous recombination. In our opinion, these mechanisms cause not only DNA repair, but also unauthorized recombination on telomere capping structures, since they are pre-recombination structures. It is also possible that transposases in itself can initiate such recombination. As a result, the T-loops converse into rings and, accordingly, telomeres are shortened for the length of the lost circled DNA. This process can cause quick exhaustion of one or more cell telomeres and, therefore, subsequent senescence, cell cycle arrest and apoptosis of the cells. In which the illegitimate activation of recombination process becomes apparent. Apparently, large quantity of organism cells reaches with age the threshold of illegitimate activation of silent mobile genomic elements; subsequent apoptosis of most of these cells causes ageing as a biological phenomenon.

Key words: microRNA, DNA methylation, cell differentiation, transposon, telomere, recombination, ageing.
