Школа №1260

**Реферат  
по теме: “Старение на клеточном уровне.”**

Выполнил  
ученик 9-А класса  
Шайтан  
Алексей Константинович  
  
Руководитель:  
Компанеец  
Наталья Анатольевна

Москва 1999**Содержание.**

1. Введение: Старение как особая биологическая функция.
2. История проблемы.
3. Молекулярные механизмы, обуславливающие старение клетки.
4. Индукция белков теплового шока.
5. Активные формы кислорода.
6. Теломеры.
7. Концевая недорепликация ДНК.
8. Как работает теломераза?
9. Теломераза, рак и старение.
10. Искусственное преодоление «лимита Хейфлика».
11. Заключение.

**Введение: Старение как особая биологическая функция.**

Когда известный учёный А. Вейсман сформулировал свою теорию о том, что смерть предков может быть способом расчистить путь более совершенным потомкам, он руководствовался только соображениями биологической целесообразности. Действительно, любой новый признак, возникший у детей, неизбежно разбавился бы океаном старых признаков отцов, дедов, прадедов и т.д. Таким образом, бессмертие особей того или иного вида затормозило бы прогрессивное развитие этого вида.

Продолжение вида зависит от выживания достаточного числа его представителей в течение времени, достаточном для размножения и воспитания потомства до самостоятельного состояния. Это фундаментальное положение ведёт к представлению о том, что лучший способ реализовать выживание состоит в том, чтобы в ходе естественного отбора преимущества получали животные, имеющие наиболее значительные физические резервы жизненно важных органов. Более высокий или избыточный уровень физиологических возможностей повышает вероятность дожития животного до репродуктивного успеха. Если животное достигло половой зрелости и воспитало потомство до самостоятельного состояния, то избыток физиологического резерва позволяет каждому продолжать активное существование после достижения жизненно важной цели. Более длительная жизнь каждого индивида определяется избытком резервов, которыми он располагает к тому сроку, когда цель уже достигнута. Таким образом, силы естественного отбора ослабевают после достижения животным репродуктивного успеха, поскольку жизнь за пределами этого события имеет меньшее значение для выживания вида. Энергия наилучшим образом используется на гарантирование репродуктивного успеха, а не на продление индивидуальной жизни. Вот почему после достижения репродуктивного успеха силы естественного отбора не способствуют удлинению жизни. Однако после достижения репродуктивного успеха животное имеет возможность жить в течение периода, длительность которого определяется уровнем избытка физиологического резерва, достигнутого на стадии полового созревания.

У разных видов скорость старения после репродуктивного успеха различна. Например, смерть горбуши тотчас после нереста или гибель бамбука, который десятками лет может размножаться вегетативно, но, зацвётши, умирает в тот же сезон. У других же видов старение может быть растянуто на много большее время.

Старение, растянутое во времени, призванное бороться с засорением популяции предками долгожителями, стимулируя тем самым прогрессивную эволюцию, работает на выполнение той же задачи ещё одним способом. Появление полезного признака позволяет компенсировать в известных временных пределах эффект старения. Крупный олень, даже достигнув преклонного возраста, может иметь больший шанс победить в весеннем бою за самку или спастись от волчьей стаи, чем его молодой, но низкий сородич.

На клеточном уровне запрограммированная смерть к настоящему времени точно доказана экспериментальным путём. Здесь прежде всего следует упомянуть доказательство «лимита Хейфлика», т.е. ограниченности числа делений определённых соматических клеток организма. Другим ярким примером такого рода служит апоптоз. В клетке заражённой вирусом включается, как оказалось, специальный механизм самоубийства, когда клетка расщепляет свои биополимеры, прежде всего ДНК и определённые ферменты, и гибнет, увлекая с собой и заразивший её вирус. Показано также, что подобный механизм позволяет организму освободиться от оказавшихся вредными или ненужными клеток и даже органов. Например, исчезновение хвоста у головастика.

**История проблемы.**

Проблемами старения живых организмов с давних времён занимались биогеронтологи. Но причины старения долгое время были непонятны.

Так, в начале этого века Алексис Каррель – известный специалист по культуре клеток, хирург, лауреат Нобелевской премии – описал эксперимент, поставленный, чтобы показать возможность последовательного и неограниченно долгого размножения в культуре фибробластов (фибробласт – клетка из семейства соединительных клеток, она может при необходимости превратиться в хрящевую, костную, жировую или гладкомышечную клетку), полученных из сердца цыплёнка. Рост культуры был произвольно прекращён экспериментаторами через 34 года. Это открытие вызвало интерес во всём мире.

Важность открытия о бессмертии культивируемых клеток цыплёнка была ясна для биогеронтологов. Если считать этот факт установленным, он позволяет предполагать, что клетки, выпущенные из-под управления живым организмом, имеют потенциальную способность нормально размножаться и функционировать в течении периода, превышающего продолжительность жизни вида ( максимальная зарегистрированнаядлительность жизни кур – 12 лет.) Это означает, что старение должно быть результатом физиологических взаимодействий между клетками только при их объединении в ткани или в органы. Результаты исследований Карреля и их интерпретация были чрезвычайно важны для биогеронтологов, так как явно предполагали, что старение не является результатом процессов, происходящих на клеточном уровне.

В течение нескольких лет после появления данных Карреля его интерпретация этих экспериментов получила подтверждение в работах нескольких лабораторий, где обнаружили, что популяции клеток, взятых у других видов, в том числе и у человека, также имели неограниченную способность к, казалось бы, неограниченной репликации. Сообщения о спонтанном возникновении иммортализованных популяций клеток большого числа тканей человека и животных поступили из десятков лабораторий за двадцатилетний период с начала 40-х до начала 60-х годов XX века. Иммортализованные популяции клеток и сейчас возникают случайно в культурах нормальных клеток.

Смерть клеток в культуре наблюдалась с тех пор, как Р. Харрисон создал первую общепризнанную культуру клеток в 1907 году. Однако распространилось мнение, в основном базирующееся на работах Карреля, что все клетки в культуре являются изначально иммортализованными, а гибель происходит лишь из-за того, что точные условия роста культуры неизвестны. В дальнейшем положение о врождённом бессмертии клеток стало догмой среди специалистов по культуре клеток. Это уводило внимание биогеронтологов от индивидуальной клетки как места возникновения возрастных изменений.

Однако то, что в 50-х годах считалось бесспорным доказательством бессмертия клеток в культуре, вскоре уступило место новым взглядам и противоположным результатам. Так в 1961 году Л. Хейфлик и П. Мурхед показали ограниченность репликативной способности нормальных фибробластов человека. Впервые они исключили артефакты или незнание адекватных условий культуры как возможные причины смерти нормальных клеток в культуре. Учёные объяснили этот феномен как следствие старения на клеточном уровне. Они показали, что смерть нормальных клеток человека в культуре не была вызвана какими-либо тривиальными причинами, а была внутренним свойством самих клеток. Учёные показали, что когда нормальные эмбриональные клетки человека растут в наиболее благоприятных условиях, старение и смерть неизбежно наступают после ~50 удвоений популяции. Этот эксперимент был впоследствии успешно воспроизведено в сотнях других лабораторий.

**Молекулярные механизмы, обуславливающие старение клетки.**

В начале 60-х годов работы Хейфлика были восприняты в штыки. Это было понятно, так как получалось, что вся шестидесятилетняя работа учёных была проделана не в том направлении. Хотя после признания сенсационных открытий Л. Хейфлика и П. Мурхеда больше внимание стало уделяться старению клетки как одноve из главных факторов старения организма в целом.

На данный момент чётко процесс старения клетки не изучен. Так, существует несколько теорий. Одни считают, что процесс старения связан с укорочением теломер. Другие считают, что сущность процесса состоит в увеличении концентраций активных форм кислорода с возрастом, а «лимит Хейфлика» является всего лишь барьером. Но большинство теорий сходится в том, что смерть клетки является её запрограммированной функцией.

Естественно, что число факторов и механизмов, вызывающих смерть клетки, велико, но всё же это число конечно. В этом реферате я бы хотел рассмотреть следующие механизмы:

* Индукция белков теплового шока.
* Активные формы кислорода.
* Укорочение теломер.

Эти три фактора на данный момент наиболее изучены. Наиболее изученным является механизм укорочения теломер.

**Индукция белков теплового шока.**

В любой живой клетке есть белки, ремонтирующие другие белки, если те приобрели неправильную конформацию. Если нормальные клетки на короткое время подвергнуть «тепловому шоку», повышая температуру, они начинают синтезировать в большом количестве белки-ремонтники. Белки-ремонтники получили название белков теплового шока, поскольку их количество резко возрастает в ответ на повышение окружающей температуры, сопровождающееся денатурацией белковых молекул. Подобный эффект вызывает не только высокая температура, но и любые другие воздействия, которые вызывают денатурацию белков клетки, в частности окислительный стресс. Предполагают, что белки теплового шока помогают переводить в раствор и вновь сворачивать денатурированные или неправильно свёрнутые белки.

Механизм этого явления состоит в том, что на денатурирующее воздействие клетка стимулирует тримеризацию (образование комплекса из трёх молекул) особого белка фактора I теплового шока (ФТШ I), который в обычных условиях находится в цитозоле (цитозоль – часть цитоплазмы, занимающая пространство между мембранными органеллами) в своей мономерной форме. Этот белок отправляется в ядро, находит там гены белков теплового шока и активирует их работу.

Оказалось, что степень индукции белков теплового шока и способность мономеров ФТШ I тримеризоваться в ответ на стрессовые воздействия обратно пропорциональны числу делений культуры фибробластов *in vitro*. Индукция теплового шока и индуцирующая активность ФТШ I в клетках, взятых у старых животных, всегда гораздо ниже, чем в клетках из молодых, а активность (но не количество) ФТШ I падает с возрастом. Эффект старения *in vivo* обращается при ограничении калорийности питания. Это навело учёных на мысль, что в деле как-то замешаны активные формы кислорода, образование которых зависит от количества окисляемых в организме пищевых продуктов.

**Активные формы кислорода.**

К активным формам кислорода (АФК) относятся супероксид (O2—), синглетный кислород, H2O2 и радикал гидроксида (OH ). В организме человека и животных первичной АФК служит супероксид, возникающий при одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода. Супероксид превращается в H2O2, а H2O2 в OH в присутствии ионов железа или меди. OH – сильнейший окислитель, способный разрушить практически любое органическое вещество биологического происхождения.

Одноэлектронное восстановление кислорода в принципе возможно за счёт окисления всех веществ с окислительно-восстановительным потенциалом ниже или равным –0,15 В (окислительно-восстановительный потенциал пары O2/супероксид).

В ходе эволюции в клетке был создан ряд мер, позволяющий свести к минимуму паразитные реакции образования супероксида и не допустить его превращение в очень опасный OH**.** .Существуют многоуровневые системы защиты от АФК. Например, вещества-антиоксиданты, механизмы, препятствующие накоплению веществ-восстановителей, ферменты, снижающие внутриклеточную концентрацию кислорода и тем самым замедляющие образование супероксида; системы выбраковывающие митохондрии и клетки, в которых образуется в силу тех или иных обстоятельств очень много супероксида, и т.д. У высших животных эти внутриклеточных механизмы дополнены физиологическими надклеточными системами, такими как уменьшение вентиляции лёгких и сужении капилляров при переходе от работы к покою, когда потребность в кислороде резко падает.

И, тем не менее, в среднем 2% кислорода клетка животного потребляет не за счёт безопасной реакции четырёхэлектронного восстановления кислорода до воды, а путём энергетически бессмысленной и опасной реакции O2 →O2— . В результате клетка оказывается не в состоянии полностью защитится от повреждающего действия АФК. Так, количество окислительных повреждений ядерной ДНК в клетке человека в среднем оценивается величиной порядка 10 000 повреждений в день, а в клетке крысы, имеющей более высокую скорость дыхания, -- 100 000 в день. На порядок выше чистота повреждений митохондриальной ДНК, расположенной в непосредственной близости от дыхательной цепи – главного генератора супероксида.

На первый взгляд, такую ситуацию можно было бы списать на несовершенство живой системы. Однако известно, что в клетке существует фермент ксантиноксидаза — фермент, который окисляет ксантин молекулярным кислородом. Такой процесс, например, обеспечивает стерильность молока, так как АФК — мощный бактерицид. Однако, как быть с внутриклеточной ксантиноксидазой, обнаруженной в целом ряде тканей? АФК слишком опасны, чтобы доверять им какие либо внутриклеточные функции, кроме одной — функции самоубийства живой системы, будь то митохондрия, клетка или организм.

Не исключено, что во всех этих событиях роковую роль играют митохондрии. Именно в митохондриях генерируется больше всего супероксида, причём этот процесс может приобретать характер саморазгоняющегося. Чем больше образуется супероксида, тем больше вероятность повреждения митохондриальной ДНК. Повреждение митохондриальной ДНК ведёт к нарушению синтеза белков — переносчиков электронов дыхательной цепи. Торможение дыхательной цепи приводит к генерации ещё большего количества супероксида. Таким образом, может возникнуть угроза уничтожения ядерной ДНК и клетки в целом.

Нарастание продукции АФК с возрастом — твёрдо установленный факт. Помимо повреждения ДНК этот эффект может отражаться и на белках. Увеличение окислительной денатурации белков усугубляется тем, что при старении такая денатурация уже не может полностью компенсироваться индукцией белков теплового шока.

**Теломеры.**

Теломерами называют особые концевые районы линейной хромосомной ДНК, состоящие из многократно повторяющихся коротких нуклеотидных последовательностей. В состав теломер входят также многие белки, специфически связывающиеся с теломерными ДНК-повторами. Таким образом, теломеры (так же, как и все другие районы хромосомы эукариот) построены из дезоксинуклеопротеидов, то есть комплексов ДНК с белками.

Существование специальных структур на концах хромосом было окончательно доказано в 1938 году классиками генетики, лауреатами Нобелевской премии Барбарой Мак-Клинток и Германом Мёллером. Независимо друг от друга они обнаружили, что фрагментация хромосом (под действием рентгеновского облучения) и появление у них дополнительных концов ведут к хромосомным перестройкам и деградации хромосом. В сохранности оставались лишь области хромосом, прилегающие к их естественным концам. Лишенные концевых теломер, хромосомы начинают сливаться с большой частотой, что ведет к тяжелым генетическим аномалиям. Следовательно, заключили они, естественные концы линейных хромосом защищены специальными структурами. Г. Мёллер предложил называть их теломерами (от греч. телос — конец и мерос — часть).

В последующие годы выяснилось, что теломеры не только предотвращают деградацию и слияние хромосом (и тем самым поддерживают целостность генома хозяйской клетки), но и, по-видимому, ответственны за прикрепление хромосом к специальной внутриядерной структуре (своеобразному скелету клеточного ядра), называемой ядерным матриксом (рис. 1,2). Таким образом, теломеры играют важную роль в создании специфической архитектуры и внутренней упорядоченности клеточного ядра. Более того, наличие на концах хромосом специальной теломерной ДНК позволяет решить так называемую проблему концевой недорепликации ДНК.

Теломерная ДНК (рис. 3,4) попала в поле зрения молекулярных биологов сравнительно недавно, когда были разработаны эффективные методы определения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах. Первыми объектами исследования были одноклеточные простейшие (ресничная инфузория тетрахимена, в частности), поскольку из-за особенностей строения ядерного и хромосомного аппарата они содержат несколько десятков тысяч очень мелких хромосом и, следовательно, множество теломер в одной клетке (для сравнения: у высших эукариот на клетку приходится менее ста теломер).

Многократно повторяющиеся блоки в теломерной ДНК простейших состоят всего лишь из шести—восьми нуклеотидных остатков. При этом одна цепь ДНК сильно обогащена остатками гуаниловой кислоты (G-богатая цепь; у тетрахимены она построена из блоков TTGGGG (2 тимин- 4 гуанин)), а комплементарная ей цепь ДНК соответственно обогащена остатками цитидиловой кислоты (С-богатая цепь).

У дрожжей повторяющиеся блоки в теломерной ДНК заметно длиннее, чем у простейших, и зачастую не столь регулярные. Каково же было удивление ученых, когда оказалось, что теломерная ДНК человека построена из TTAGGG-блоков (2 тимин-аденин-3 гуанин), то есть отличается от простейших всего лишь одной буквой в повторе. Более того, из TTAGGG-блоков построены теломерные ДНК (вернее, их G-богатые цепи) всех млекопитающих, рептилий, амфибий, птиц и рыб. Столь же универсален теломерный ДНК-повтор у растений: не только у всех наземных растений, но даже у их весьма отдаленных родственников —морских водорослей он представлен последовательностью TTTAGGG (3 тимин-аденин-3 гуанин). Впрочем, удивляться здесь особенно нечему, так как в теломерной ДНК не закодировано никаких белков (она не содержит генов), а у всех организмов теломеры выполняют универсальные функции, речь о которых шла выше. Правда, из этого общего правила есть редкие исключения. Наиболее известное из них — теломерная ДНК плодовой мухи дрозофилы. Она представлена не короткими повторами, а ретротранспозонами — подвижными генетическими элементами.

Очень важная характеристика теломерных ДНК — их длина. У человека она колеблется от 2 до 20 тыс. пар оснований (т.п.о.), а у некоторых видов мышей может достигать сотен т.п.о.

Известно, что около теломер есть специальные белки, обеспечивающие их работу и участвующие в построении теломер. Доказано, что для нормального функционирования каждая линейная ДНК должна иметь две теломеры: по одной теломере на каждый конец.

**Концевая недорепликация ДНК.**

Известно, что ДНК-полимеразы, синтезируя дочернюю цепь ДНК, прочитывают родительскую цепь в направлении от ее 3'-конца к 5'-концу. Соответственно дочерняя цепь синтезируется в направлении 5' → 3'. В противоположном направлении синтез цепи ДНК фермент катализировать не может (рис. 5). Кроме того, ДНК-полимераза начинает синтез только со специального РНК-праймера — короткой РНК-затравки, комплементарной ДНК. После окончания синтеза ДНК РНК-праймеры удаляются, а пропуски в одной из дочерних цепей ДНК заполняются ДНК-полимеразой. Однако на 3'-конце ДНК такой пропуск заполнен быть не может, и поэтому 3'-концевые участки ДНК остаются однотяжевыми, а их 5'-концевые участки — недореплицированными. Отсюда ясно, что каждый раунд репликации хромосом будет приводить к их укорочению. Понятно, что прежде всего должна сокращаться длина теломерной ДНК.

Этим-то и объясняется «лимит Хейфлика», так как после того, как длина теломерной ДНК становится угрожающе низкой, наступает период кризиса — неспособности клетки к дальнейшему делению, а затем и её смерть. Хотя в культурах клеток *in vitro* клетки и погибают от укорочения теломер, но для клеток *in vivo* нормального организма это практически невозможно. Так, согласно недавним наблюдениям Озавы (см. Ozawa, T., Biosci. Rep. (1997) in press) 89% митохондриальной ДНК в митохондриях сердца 97-летнего старика содержали обширные делеции, критичные для репликации и транскрипции. Тем не менее, этот человек умер не от сердечной недостаточности, а от рака желудка. Нетрудно представить себе, что дальнейшее нарастание дисфункции митохондриальной ДНК всё же привело бы старика в недалёком будущем к смерти и это вряд ли имело отношение к укорочению ядерной ДНК.

Первым на проблему "концевой недорепликации ДНК" обратил внимание А.М. Оловников в 1971 году. Он высказал гипотезу о том, что потеря концевых последовательностей ДНК вследствие их недорепликации ведет к старению клетки. Предполагалось, что процесс укорочения теломер и есть тот часовой механизм, который определяет репликативный потенциал "смертной" клетки, и когда длина теломер становится угрожающе короткой, этот механизм предотвращает дальнейшее деление клетки. А.М. Оловников предположил также, что в нестареющих клетках (а к ним кроме раковых относятся зародышевые, стволовые и другие генеративные клетки) должна существовать специализированная ферментативная система, которая контролирует и поддерживает длину теломерной ДНК.

Гипотеза А.М. Оловникова нашла убедительное подтверждение в последующие годы. Во-первых, было установлено, что теломеры нормальных (то есть обреченных на старение) клеток действительно укорачиваются на 50-60 нуклеотидных звеньев при каждом клеточном делении. Во-вторых, в 1984 году Э. Блэкберн и Э. Грайдер выделили фермент, который с помощью механизма, отличного от механизма реакций, лежащих в основе репликации ДНК, синтезирует теломерную ДНК. Этот фермент был назван, теломеразой.

**Как работает теломераза.**

Итак, основное назначение теломеразы — синтезировать повторяющиеся сегменты ДНК, из которых состоит G-цепь теломерной ДНК. Таким образом, она относится к классу ДНК-полимераз, причем оказалось, что теломераза — это РНК-зависимая ДНК-полимераза или обратная транскриптаза. Ферменты этого класса, синтезирующие ДНК на РНК-матрицах, очень хорошо известны молекулярным биологам. Они закодированы и содержатся в ретровирусах (например, в вирусе иммунодефицита человека, вызывающем заболевание СПИДом) и служат для синтеза ДНК-копий их геномов, который в ретровирусе представлен РНК. В клеточном геноме обратные транскриптазы закодированы в ретротранспозонах.

РНК, используемая теломеразой для синтеза теломерной ДНК в качестве матрицы, входит в состав этого фермента. В этом уникальность теломеразы: на сегодня это единственная известная РНК-содержащая обратная транскриптаза. Теломеразные РНК у разных организмов сильно различаются по длине и структуре. Теломеразы простейших содержат РНК длиной в 150—200 нуклеотидных остатков (н.о.), длина теломеразной РНК человека — 450 н.о., в то время как теломераза дрожжей содержит аномально длинную РНК (около 1300 н. о.).

Матричный участок представлен в теломеразной РНК только один раз. Его длина не превышает длину двух повторов в теломерной ДНК**,** которые он кодирует и которым он комплементарен.

Так как теломераза синтезирует сегменты ДНК, повторяющиеся много раз, используя только один сегмент своей РНК, она должна обладать способностью периодически (после завершения синтеза каждого повтора) перемещать (транслоцировать) матричный участок в район 3'-конца синтезируемой теломерной ДНК. Источником энергии для такого перемещения, по-видимому, служит сама реакция синтеза цепи теломерной ДНК, поскольку дезоксинуклеозидтрифосфаты — субстраты этой реакции — высокоэнергетические вещества.

На рис. 6 изображена общепринятая схема механизма синтеза теломерных повторов, катализируемого теломеразой. На первой стадии теломераза находит 3'-конец теломерной ДНК, с которым часть матричного участка теломеразной РНК образует комплементарный комплекс. При этом теломераза использует 3'-конец хромосомной ДНК в качестве праймера. Далее наступает очередь РНК-зависимой ДНК-полимеразной активности теломеразы. Она обеспечивается специальной субъединицей теломеразы, которая по устройству своего каталитического центра во многом сходна с обратными транскриптазами ретровирусов и ретротранспозонов. Когда синтез ДНК-повтора заканчивается, происходит транслокация, то есть перемещение матрицы и белковых субъединиц фермента на заново синтезированный конец теломерной ДНК, и весь цикл повторяется вновь.

Это схематичное представление является весьма условным, так как для построения теломер требуется еще много субъединиц, например, отвечающих за нахождение 3’-конца ДНК, или субъединицы, отвечающие за транслокацию, и т.д.

**Теломераза, рак и старение.**

Рассмотрим данные о длине теломерной ДНК и активности теломеразы в различных клетках человека, приведенные в таблице.

Высокая теломеразная активность наблюдается в половых клетках человека в течение всей его жизни. Соответственно их теломеры состоят из наибольшего числа ДНК-повторов и содержат все необходимые белки для нормальной репликации клеток.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Тип клеток | Теломеры, т. п. н. | Теломеразная активность |
| Половые  Соматические  Раковые | 15-20  10-12 при рождении, уменьшаются с возрастом  4-6,10-15 | Высокая  Отсутствует  Присутствует в 80% случаев |

Аналогичная ситуация наблюдается и для стволовых клеток, которые делятся неограниченно долго. Однако у стволовой клетки всегда есть возможность дать две дочерние клетки, одна из которых останется стволовой ("бессмертной"), а другая вступит в процесс дифференцировки. Благодаря этому стволовые клетки служат постоянным источником разнообразных клеток организма. Например, стволовые клетки костного мозга дают начало гемопоэзу — процессу образования клеток крови, а из базальных клеток эпидермиса происходят разнообразные клетки кожного покрова. Как только потомки половых или стволовых клеток начинают дифференцироваться, активность теломеразы падает и их теломеры начинают укорачиваться. В клетках, дифференцировка которых завершена, активность теломеразы падает до нуля, и с каждым клеточным делением они с неизбежностью приближаются к состоянию сенесенса (перестают делиться). Вслед за этим наступает кризис, и большинство клеток погибают (рис. 7). Эта картина характерна для подавляющего большинства известных культур клеток эукариот. Одна­ко и здесь есть редкие, но важные исключения: теломеразная активность обнаруживается в таких "смертных" клетках, как макрофаги и лейкоциты.

Недавно было установлено, что нормальные соматические клетки потому лишены теломеразной активности, что в них полностью подавлена экспрессия гена ее каталитической субъединицы (обратной транскриптазы). Другие же составляющие теломеразы, включая теломеразную РНК, образуются в этих клетках, хотя и в меньших количествах, чем в их "бессмертных" прародителях, но постоянно. Открытие этого важного факта Дж. Шеем, В. Райтом и их сотрудниками и стало основой для сенсационной работы по преодолению «лимита Хейфлика».

**Искусственное преодоление «лимита Хейфлика».**

Итак, достаточно недавно Дж. Шей и В. Райт провели сенсационную работу по преодолению «лимита Хейфлика». В нормальные соматические клетки были внесены гены теломеразной обратной транскриптазы с помощью специальных векторов, сконструированных из вирусных ДНК. Уровень экспрессии гена в эукариотической клетке зависит от многих факторов, в том числе от белков — факторов транскрипции, связывающихся со специализированными участками ДНК, расположенными в хромосоме по соседству с этим геном. Геномы вирусов, которым нужно быстро размножиться в клетке-хозяине, несут в себе участки ДНК, способные во много раз усилить экспрессию того или иного гена. Исследователи позаботились о том, чтобы в их конструкциях ген теломеразной обратной транскриптазы человека оказался в окружении именно таких участков вирусной ДНК. Результаты их экспериментов можно определить так: клетки, в которых теломераза поддерживала длину теломер на уровне, характерном для молодых клеток, продолжали делиться и тогда, когда контрольные клетки (без теломеразы) дряхлели и умирали.

В этой и аналогичной ей работах особенно тщательно контролируется отсутствие в культуре раковых клеток. Известно, что клетки большинства исследованных на сегодня раковых опухолей характеризуются достаточно высокой активностью теломеразы, которая поддерживает длину теломер на постоянном уровне. Этот уровень заметно ниже, чем, например, у эмбриональных клеток, но он достаточен, чтобы обеспечить безграничное деление раковых клеток в культуре. Существует гипотеза, у которой немало сторонников, предполагающая, что потеря теломеразной активности соматическими клетками современных организмов есть благоприобретенное в процессе эволюции свойство, уберегающее их от злокачественного перерождения.

Сравнительно небольшая длина теломер у большинства раковых клеток наводит на мысль о том, что они происходят из нормальных клеток, достигнувших предкризисного состояния. Это состояние характеризуется нарушением регуляции многих биохимических реакций. В таких клетках происходят многочисленные хромосомные перестройки, которые в том числе ведут и к злокачественной трансформации. Большинство этих клеток погибают, но в части из них в результате случайных мутаций может активироваться постоянная экспрессия генов теломеразы, которая будет поддерживать длину теломер на уровне, необходимом и достаточном для их функционирования.

Некоторое время вызывал недоумение тот факт, что примерно пятая часть проанализированных раковых опухолей и клеток вообще не содержала активной теломеразы. Оказалось, однако, что длина теломер в них поддерживается на должном уровне. Таким образом, в этих клетках действует другой (не теломеразный, а скорее рекомбинационный) механизм образования теломерной ДНК. Иными словами, такие клетки находятся в том же ряду исключений из правила, что и дрозофила.

В последнее время проводится много работ аналогичные работе Дж. Шея, В. Райта. Были сообщения о том, что клетки с искусственно активированной теломеразой преодолели 220 циклов деления. Последние сообщение пришло из Юго-западного Медицинского Центра в Далласе, в нём говорится, что уже 220 поколений клеток преодолели 70-75 циклов деления.

**Заключение.**

Функция старения клеток и организма в целом является, несомненно, очень важным фактором прогрессивного развития всех живых организмов на земле. Сама функция старения обеспечивается многими системами и механизмами. Такой параллелизм повышает вероятность выполнения этой функции. Неслучайно, что получить линию бессмертных клеток можно, только преодолев противодействие как минимум трёх генетических механизмов, о которых было написано в этом реферате. В организме таких барьеров, конечно же, больше. Однако, как сказал академик Скулачёв, “сам факт, что их число должно быть конечным, может вселить оптимизм в души борцов за человеческое бессмертие”.

**Библиография.**

1. Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1994, Т. 1-3
2. А. А. Богданов Теломеры и теломераза // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 12. С. 12-18
3. Д. Г. Кнорре Биохимия нуклеиновых кислот // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 3. С. 11-16
4. В.А. Гвоздев "Подвижная ДНК эукариот. Ч. 1—2" //Соросовский Образовательный Журнал 1998 № 8. С. 8-22.
5. В. П. Скулачёв Старение организма – особая биологическая функция, а не результат поломки сложной биологической системы: биохимическое обоснование гипотезы Вейсмана // Биохимия, 1997, том 62, вып. 11, с. 1394-1399
6. Л. Хейфлик Смертность и бессмертие на клеточном уровне // Биохимия, 1997, том 62, вып. 11, с. 1380-1393
7. Х. Д. Осивац, А. Хаманн Реорганизация ДНК и биологическое старение // Биохимия, 1997, том 62, вып. 11, с. 1491-1502
8. UniSci Science & Research News, 1999 №1 http://unisci.com
9. Laura DeFrancesco Looking Into Longevity with Telomere Detection Kits, 1998
10. Cech Lab — University of Colorado at Boulder http://petunia.colorado.edu