

## ВІДКРИТТЯ МУТАГЕННОЇ ДІЇ ДНК У СВІТЛІ ЛАТЕРАЛЬНОЇ ГЕНОМІКИ

Одинадцятого лютого 2016 р. виповнилося 110 років із дня народження видатного вченого-генетика, академіка Академії наук України Сергія Михайловича Гершензона, який вважається автором щонайменше двох відкриттів світового рівня, за які його колеги на Заході пізніше отримали Нобелівські премії [1, 2].

Мета автора – донести до нового покоління науковців суть найбільш парадоксального в історії генетики відкриття свого вчителя – професора С.М. Гершензона, а саме мутагенної дії нуклеїнових кислот і вірусів, та показати його зв'язок із сучасними уявленнями про рушійні механізми мінливості й еволюції.

Парадоксальність феномену мутагенної дії ДНК, відкритого С.М. Гершензоном і співавторами [3], стає зрозумілою, якщо згадати, що в той віддалений період носіями генетичної інформації взагалі вважалися білкові молекули. На тлі подальшого відкриття у 50-х роках структури «подвійної спіралі» і встановлення провідної ролі ДНК у явищі спадковості, – явище мутагенної дії ДНК – свідчення впливу цієї макромолекули на мінливість здавалося не вартим уваги артефактом [4, 5].

Результати ранніх робіт із вивчення дії ДНК тимусу теляти на дрозофілу виявили дві основні особливості цього явища. По-перше, ДНК-мутагенез характеризувався специфічністю і радикально відрізнявся від спектра спонтанних мутацій або мутацій, індукованих хімічними чи фізичними мутагенами; по-друге, дія ДНК мала продовжений у часі характер. У цьому випадку мутації виникали не тільки в статевих і соматичних клітинах, наявних у момент введення ДНК, але й у наступних клітинних поколіннях. Про це свідчила генетична нестабільність індукованих генних мутацій, які часто ревертували до норми або переходили до іншого алейного стану [4].

Отримані результати дозволили С.М. Гершензону зробити пророчий висновок: «Особливо часте мутування деяких генів під впливом препа-

рату ДНК призводить до уявлень про різну хімічну будову ДНК різних генних молекул» (1948 р.).

Незважаючи на нерозуміння і скепсис колег, які ще довго супроводжуватимуть оригінальні дослідження С.М. Гершензона, роботи з індукції мутацій у дрозофіли за допомогою ДНК продовжувалися. На великому експериментальному матеріалі основні висновки ранніх робіт про мутагенну дію ДНК та її особливості було підтверджено та поглиблено [2, 4–6]. З'ясувалося, що препарати ДНК різного походження, виділені із тварин, рослин, вірусів, характеризуються локус-специфічністю, тобто викликають летальні мутації в обмеженому числі локусів. Результат залежав як від препарату ДНК, так і від певних ділянок хромосом, особливо чутливих до мутагенної дії цього біополімеру.

Отже, ці роботи вперше показали, що для мутагенної дії ДНК та прояву її особливостей є принциповим не стільки фізико-хімічні властивості молекули, скільки зміст генетичної інформації, закодованої у послідовності нуклеотидів [4, 7].

Під впливом ідей С.М. Гершензона дослідження мутагенної дії екзогенних ДНК було продовжено на рослинному об'єкті – кукурудзі і призвело до аналогічних результатів. Виявилось, що мутагенна дія ДНК на рослинний геном також залежала від походження біополімеру і характеризувалася високою специфічністю та подовженою мутагенною дією [8].

Спеціально для поглибленого вивчення як феноменології, так і можливих механізмів ДНК-мутагенезу С.М. Гершензон ініціював дослідження мутагенної дії ДНК на бактеріях, оскільки саме мікробні об'єкти у 70–80-ті роки минулого століття відіграли вирішальну роль у розкритті механізмів таких ключових генетичних процесів, як реплікація, транскрипція, трансляція. Бактеріальна модель із застосуванням здатності добре генетично вивченої бактерії *Bacillus subtilis* поглинати ДНК будь-якого походження продемонструвала універсальність мута-

генної дії ДНК і виявилась адекватною для наступного дослідження механізму такої дії [4, 6].

Раніше, базуючись на відкритті бактеріальних екстрахромосомних елементів – епісом (Жакоб і Вольман, 1958), С.М. Гершензон вперше висловив оригінальну гіпотезу щодо епісомоподібного механізму ДНК-мутагенезу [2].

Із розвитком «мобільної» генетики і розумінням тотального поширення в природі мобільних генетичних елементів (МГЕ) – невеликих інсерційних послідовностей та значно більших, здатних до самостійного переміщення транспозонів – гіпотеза С.М. Гершензона трансформується. Він постулює інсерційний механізм мутагенної дії ДНК: фрагмент чужорідної ДНК інтегрує до геному і набуває властивостей мобільного елемента або активує власні мобільні елементи хазяїна чи мають місце обидва згадані процеси [9]. На користь такого припущення свідчили численні приклади природної генетичної нестабільності, зумовленої мутагенною активністю мобільних елементів геному [10–13].

Для перевірки «інсерційної» гіпотези С.М. Гершензона в системі *B. subtilis* було зроблено акцент на дослідження особливостей рідкісних генетично нестабільних мутацій, індукованих за допомогою евкаріотної ДНК. Зокрема, знайдено транспозицію унікальної ауксотрофної мутації з потребою у лейцині, яка за частотою реверсій до прототрофності на сім порядків перевищувала спонтанний рівень, з лейцинового у триптофановий оперон, та деякі інші локуси за дією температурного стресу [14]. При цьому спостерігалось одночасне поєднання двох або більше мутаційних подій. Спеціальне дослідження показало, що прояви нестабільності досліджуваних мутацій не залежать від системи гомологічної рекомбінації. Цей результат є вагомим непрямым доказом на користь присутності та активності мобільного генетичного елемента [15].

Наступним кроком до розуміння механізму ДНК-мутагенезу було використання серії рекомбінантних плазмід, які мали спільне походження та відрізнялися «контекстом» вбудованої полінуклеотидної послідовності евкаріотного походження (*Alu*-повтор геному людини, ген інсуліну та ген аполіпопротеїну людини, *ARS*-послідовність кукурудзи). Підтвердилося, що мутагенний ефект гетерологічної ДНК, як це раніше було показано на дрозофілі та кукурудзі, у великій мірі залежить від «змісту» полінуклеотидної послідовності. За однакових умов одні послідовності зовсім не проявляли мутагенної активнос-

ті, активність інших була дещо вища за спонтанний рівень, проте знайдено послідовність, а саме *Alu*-повтор геному людини (представника поширеного класу SINE елементів – short interspersed elements), присутність якої у складі рекомбінантної молекули підвищувала її мутагенну активність більш ніж на порядок [16]. За даними дотта блот-гібридизації, а згодом і за допомогою методу ПЛР (показано для *Alu*-повтору) одержано прямі докази на користь інсерційної природи мутацій *B. subtilis*, спричинених дією рекомбінантних плазмід, які містять певні евкаріотні послідовності [17–19].

Відомо, що *Alu*-повтори не кодують білків, але у їх складі знайдено енхансероподібні структури, сайти зв'язування транскрипційних факторів, промотор РНК-полімерази III та інші регуляторні послідовності, які можуть впливати на функціонування багатьох генів [20]. Подальші спроби вплинути на частоту мутування нестабільних *Alu*-інтегрантів за допомогою температурного фактора, голодування та певних хімічних чинників продемонстрували їх підвищену мінливість та здатність швидко адаптуватися до несприятливих умов [21].

Таким чином, унікальна бактеріальна модель *B. subtilis*, спеціально розроблена для вивчення механізмів ДНК-мутагенезу, дозволила прослідкувати за поведінкою окремого мобільного елемента геному людини (*Alu*-послідовності) і спостерігати його адаптацію до нового генетичного оточення, яка супроводжувалася виникненням рідкісних мутацій, не описаних раніше для цього об'єкта. Сукупність одержаних результатів свідчила на користь припущення, що висока адаптивність бактеріальних мутантів є наслідком присутності в їх геномі мобільного елемента людини.

Тривалий час у біології панували уявлення про міжвидові бар'єри і репродуктивну ізоляцію, яка не дозволяє організмам вільно обмінюватися спадковою інформацією, що передається лише «по вертикалі» від батьків до нащадків. Застосування новітніх комп'ютерних технологій, що дозволяють порівнювати полінуклеотидні послідовності різних геномів, виявили багато прикладів горизонтального перенесення генів (horizontal gene transfer – HGT) між дуже віддаленими видами і великими таксономічними групами. Висловлюється думка, що чужорідні полінуклеотидні послідовності ще в далекому історичному минулому могли інтегрувати до геному нового живителя, утримуватись у наступних по-

коліннях і після тривалої селекції набувати важливих функцій [22].

Науковий напрямок із вивчення горизонтального обміну генетичною інформацією одержав назву «латеральної геноміки» [23–26]. Процес горизонтального обміну дуже поширений у прокариотів, що надає їм можливість швидкого пристосування до будь-яких змін умов існування, зокрема дії антибіотиків. Загальна ефективність горизонтального перенесення генів залежить від особливостей систем поглинання і транспортування екзогенної ДНК, системи рекомбінації, яка забезпечує інтеграцію полінуклеотидів та можливостей для експресії чужорідних генів. У разі виникнення ознак, які забезпечують певні переваги зміненним формам, вони зможуть закріпитися завдяки дії позитивного добору. В природі горизонтальне перенесення генів є характерним для протистів [27]. Наприклад, у коловертки *Adineta vaga* більше 30 генів є гомологами генів бактерій, нижчих грибів, а також деяких багатоклітинних організмів. Більшість цих чужорідних послідовностей локалізовано в теломерних ділянках, де саме концентруються мобільні генетичні елементи. Збудник малярії *Plasmodium falciparum* одержав понад 60 генів від різних бактерій. Деякі гени, можливо, отримано внаслідок поглинання ДНК людини в результаті лізису еритроцитів [26]. Цікавим об'єктом є слизовик *Dictyostelium discoideum*, який веде «хижий» спосіб життя, харчуючись мікроорганізмами в екосистемах ґрунту. У несприятливих умовах він від одноклітинного стану переходить до утворення багатоклітинного ансамблю з диференційованими функціями, який вважається прообразом первинних багатоклітинних організмів. У геномі *D. discoideum* виявлено 18 чужорідних генів із широким спектром функцій, а також систему мобільних елементів, які контролюють перехід від одноклітинного до багатоклітинного стану [28]. До регуляції згаданого фазового переходу причетні також вуглеводз'язувальні білки лектини (дискоїдини), на експресію яких впливають МГЕ [29].

У рослин поширеним є горизонтальне перенесення мітохондріальних генів [5]. Події перенесення генів між дуже філогенетично віддаленими організмами відомі і для тварин. Вивчення ендосимбіозу бактерії *Wolbachia* з різними реципієнтами (мухами, кліщами, осама, комарами, нематодами) показало, що прокариотний геном може частково або повністю інтегрувати до геному живителя [26]. При цьому лише незна-

чна частка перенесених генів транскрибується, а решта має дефектну структуру за рахунок мутацій. Зокрема, у дрозофіли перенесений фрагмент ДНК вольбахії містить ретроелементи, які блокують функціональну активність низки бактеріальних генів. Висловлюється припущення, що змінений внаслідок псевдогенізації сегмент бактеріального геному може бути матеріалом для формування нових генів, важливих для виживання організму хазяїна і процвітання виду.

Ці та багато інших прикладів показують, що біосфера функціонує як єдиний інформаційний простір, де тотально поширені мобільні генетичні елементи (МГЕ) і віруси, здатні суттєво впливати на виживання організмів шляхом контролю їх мінливості [5, 10, 12, 13]. Особливо насичені МГЕ геноми еукаріотів. Відомо, що інсерційний мутагенез за участі МГЕ є основним джерелом спонтанних мутацій у дрозофіли. Частка таких мутацій досягає 80 %. Цікаво, що у геномі людини «менделівські гени» займають усього 3 %, а на МГЕ різних класів припадає більше 45 %, де частка *Alu*-повторів перевищує 5 % [30].

На сучасному етапі розвитку загальної і молекулярної генетики докорінно змінюються класичні уявлення про спадкову мінливість як таку, що базується на некерованому стохастичному мутаційному процесі [31]. Результати багатьох досліджень свідчать на користь існування структурованих рушійних сил і систем контролю геномних перебудов. До таких систем залучено нуклеотидні послідовності, які не кодують білки, зокрема, повторювані послідовності ДНК, мобільні генетичні елементи різних класів, а також нещодавно відкриті послідовності, які відповідають малим РНК. Існує думка, що згадані системи здатні активуватися за стресових умов [32]. Це призводить до різкого підвищення частоти мутацій як матеріалу для добору і наступної адаптації об'єкта до нових умов за відносно короткої проміжок часу.

Треба підкреслити вагомий внесок у мінливість горизонтального перенесення генів як рушійної сили, яка здійснювала генетичну інженерію в природі шляхом перенесення генів та їх фрагментів між дуже віддаленими організмами і постачала матеріал для формування нових генів протягом еволюційної історії геномів [33].

У цьому контексті роботи С.М. Гершензона і колег із вивчення мутагенної дії гетерологічних нуклеїнових кислот першими в світовій науці продемонстрували, як у контрольованих експериментальних умовах можна відтворити

природний процес молекулярної еволюції. Цей процес базується на захопленні і наступній тривалій адаптації чужорідної генетичної інформації до нового генетичного оточення, а специфічні і нестабільні мутації є індикаторами цих складних взаємодій.

С.М. Гершензон першим здогадався, що клітині вигідно запасати певні полінуклеотидні послідовності як інформаційний резерв на випадок різких змін умов існування. У своїй «інсерційній» гіпотезі він інтуїтивно зробив акцент на мобільні елементи геному і підкреслив, що поведінка екзогенних ДНК нагадує ефекти МГЕ, які викликають мутації тільки тих генів, біля яких вони інтегрують до геному.

На превеликий жаль, професор С.М. Гершензон не дожив до офіційного визнання свого відкриття на батьківщині. Виконаний під його керівництвом цикл робіт «Мутагенна дія нуклеїнових кислот і вірусів» у 1998 році був удостоєний Державної премії в галузі науки і техніки [2].

## Висновок

Роботами С.М. Гершензона і його школи на великому експериментальному матеріалі із застосуванням різних методів та об'єктів показано, що ДНК є потужним фактором не тільки спадковості, але і мінливості. Особливості мутагенної дії нуклеїнових кислот, зокрема такі, як здатність із високою частотою викликати домінантні і рецесивні мутації окремих генів, а також подовжений мутагенний ефект у наступних поколіннях дозволили С.М. Гершензону сформулювати інсерційну гіпотезу мутагенної дії екзогенної ДНК, справедливості якої було доведено із застосуванням бактеріальної моделі. Таким чином, результати, одержані під час вивчення мутагенної дії ДНК, в світлі сучасної латеральної геноміки можна трактувати як моделювання природного процесу взаємодії гетерологічних ДНК, який супроводжується їх мутагенною активністю.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ратнер В.А. Памяти С.М. Гершензона. Впереди событий и в стороне от признания // Информационный вестник ВОГиС. – 1998. № 4. – С. 1–4.
2. Гершензон С.М. Тропою генетики. – К.: Наук. думка, 1992. – 176 с.
3. Гершензон С.М., Зильберман Р.А., Ситько П.О., Тарнавский Н.Д. Вызывание мутаций у *Drosophila* тимонуклеиновой кислотой // Журн. общ. биологии – 1948. – 9, № 2. – С. 69–88.
4. Гершензон С.М., Александров Ю.Н., Малюта С.С., Бужієвська Т.І., Карпова І.С., Ларченко К.А. Мутагенна дія нуклеїнових кислот і вірусів. – К.: Знання. – 1999. – 30 с.
5. Карпова І.С., Малюта С.С. Мутагенна дія нуклеїнових кислот і еволюційний процес // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2011. – 9, № 1. – С. 134–146.
6. Айзензон М.Г., Александров Ю.Н., Бужиевская Т.И., Гершензон С.М., Карпова И.С. и др. Мутагенное действие природных и синтетических полинуклеотидов. – К.: Наук. думка, 1990. – 128 с.
7. Gershenson S.M., Alexandrov Yu. N. Some new data concerning the mutagenic action of DNA // Биополимеры и клетка. – 1994. – 10, № 2. – С. 5–10.
8. Ларченко Е.А., Моргунов В.В. Экспериментальная изменчивость кукурузы. – Киев: Наук. думка, 1993. – 171 с.
9. Гершензон С.М. Мутагенное действие ДНК, инсерции, транспозиции и нестабильные гены // Генетика и благосостояние человечества. – М.: Наука, 1981. – С. 304–318.
10. Mobile genetic elements / Eds. J.A. Shapiro. – London: Academic Press, 1983. – 688 p.
11. Mc Clintock B. The significance of responses of the genome challenge // Science. – 1984. – 226, № 4676. – P. 792–801.
12. Хесин Р.Б. Непостоянство генома. – М.: Наука, 1984. – 472 с.
13. Кунах В.А. Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин. – К: Логос, 2013. – 288 с.
14. Карпова І.С. Історія дослідження мутагенної дії нуклеїнових кислот на бактеріальній моделі *Bacillus subtilis* // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2001. – 1. – С. 477–483.
15. Карпова І.С., Пидпала О.В. *RecE*-независимая нестабильность у *Bacillus subtilis* // Биополимеры и клетка. – 1991. – 7, № 2. – С. 15–19.
16. Карпова И.С., Пидпала О.В., Шульженко В.Н., Костецкий И.Е., Корецкая Н.В., Лукаш Л.Л. Мутагенная активность ДНК рекомбинантных плазмид в компетентной культуре *Bacillus subtilis* // Цитология и генетика. – 1994. – 28, № 1. – С. 66–73.
17. Карпова И.С., Пидпала О.В., Лукаш Л.Л. ДНК рекомбинантных плазмид приобретают мутагенную активность в культуре *Bacillus subtilis* после введения Alu-повтора генома человека // Цитология и генетика. – 1999. – 33, № 4. – С. 3–8.
18. Карпова И.С., Пидпала О.В., Рымарь С.Е. Генетическая нестабильность аукоотрофных мутантов *Bacillus subtilis*, вызванная инсерцией Alu-повтора генома человека // Доповіді НАН України. – 1998, № 2. – С. 206–209.
19. Карпова И.С., Горюченко Н.Г., Подольская С.В., Россоха З.И., Корецкая Н.В., Дмитренко В.В., Рымарь С.Е. Инсерционный механизм ДНК-мутагенеза // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2006. – 4, № 1. – С. 124–129.
20. Batzer M.A., Deininger P.L. Alu repeats and human genomic diversity // Nat. Rev. Genet. – 2002. – 3. – P. 370–379.
21. Карпова І.С., Корецька Н.В., Лялюцька Т.С. Розвиток ідей С.М. Гершензона у дослідженні адаптивності мутацій // Физиология и биохимия культурных растений. – 2006. – 38, № 2. – С. 124–133.
22. Марков А. Рождение сложности. Эволюционная биология сегодня. Неожиданные открытия и новые вопросы. – М: Corpus, 2010. – 552 с.

23. Doolittle W. F. Lateral genomics // Trends in Cell Biol. – 1999. – 9, N 12. – P. M5–M8.
24. Andersson J.O. Lateral gene transfer in eukaryotes // Cell. Mol. Life Sci. – 2005. – 62. – P. 1182–1197.
25. Dunning-Hottop J.C., Clark M.E., Oliveira D.C.S. et al. Widespread lateral gene transfer from intracellular bacteria to multicellular eukaryotes // Science. – 2007. – 317. – P. 1753–1756.
26. Шестаков С.В. Горизонтальный перенос генов у эукариот // Вестник ВОГиС. – 2009. –13, N 2. – С. 345–354.
27. Gladyshev E.A., Meselson M., Arkhipova I.R. Massive horizontal gene transfer in *Bdelloid rotifers* // Science. – 2008. – 320. – P. 1210–1213.
28. Wrinkler T., Dingermann T., Glockner G. Dictyostelium mobile elements: strategies to amplify in a compact genome // Cell. and Mol. Life Sci. –2002. – 59, № 12. – P. 2097–2111.
29. Alexander S., Leone S., Ostermeyer E. Translational control of discoidin lectin expression in drsA suppressor mutants of *Dictyostelium discoideum* // Mol. Cell. Biol. – 1991. – 11, № 6. – P. 3171–3179.
30. International Human Genome Sequencing Consortium // Nature. – 2001. – 409, № 6822. – P. 860–921.
31. Колотова Т.Ю., Стегний Б.Т., Кучма И. Ю. и др. Механизмы и контроль перестроек генома эукариот. – Харьков: Коллегиум, 2004 – 264 с.
32. Ратнер В.А. Васильева Л.А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – 6, № 6. – С. 14–20.
33. Jain R., Rivera M., Moore J., Lake J. Horizontal gene transfer accelerates genome innovation and evolution // Mol. Biol. Evol. – 2003. – 20. – P. 1598–1602.

### KARPOVA I.S.

*Institute of Molecular Biology and Genetics of Natl. Acad. of Sci. of Ukraine,  
Ukraine, 03680, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 150, e-mail: karpova\_is@mail.ru*

### DISCOVERY OF DNA MUTAGENIC ACTION IN THE LIGHT OF LATERAL GENOMICS

**Aim.** To acquaint new generation of scientists with S.M. Gershenson's discovery of mutagenic action of DNA and its relation to contemporary trends in Genetics. The article reviews experimental results of the extensive investigations on the phenomenology and peculiarity of DNA-mutagenicity obtained with help of different methods and objects are discussed in connection with the hypothesis of insertional mechanisms proposed by S.M. Gershenson. According to this hypothesis the mechanism of mutagenic action of heterological nucleic acids resembles the activation of mobile genetic elements (MGE), being factors of natural genetic engineering. Current data concerning lateral gene transfer between distantly related organisms show that uptake of heterological genetic information in the early period of beginnings of life might play a main role in molecular evolution and origin of species. **Conclusions.** So experiments on DNA mutagenicity in light of lateral genomics show that investigator in laboratory can effectively simulate the natural process of foreign DNA-DNA interactions which is accompanied by mutational events.

**Keywords:** mutagenic action of DNA, genetic instability, mobile elements, lateral genomics.