

ПРИСПОСОБЛЕНИЕ КЛЕТОК К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ. ИНДУКЦИЯ ГЕНОМНЫХ ПЕРЕСТРОЕК

Обсуждаются вопросы стресс-индуцированной нестабильности генома. Повышение геномной нестабильности при действии на клетку неблагоприятных факторов интерпретируется как один из компонентов клеточного ответа на стресс.

Предполагается, что системы, контролирующие геномные перестройки, связаны с системой индуцибельных генов, активирующихся в ответ на внешние воздействия.

Ранее мы проанализировали адаптивные клеточные ответы, генерирующиеся в ответ на действие ряда неблагоприятных факторов, и пришли к выводу, что они обладают свойством избыточности и неспецифичности. Избыточность адаптивного ответа обусловлена наличием множества защитных реакций, каждая из которых способна приводить к устойчивости клеток к воздействию неблагоприятного фактора.

Неспецифичность адаптивного ответа может быть обусловлена по меньшей мере двумя причинами: способностью защитных продуктов (белков теплового шока, металлотронеинов, пролина, белков, формирующих устойчивость к лекарственным препаратам) выполнять различные и/или неспецифические функции, а также наличием системы индуцибельных генов, в состав которой входят гены, кодирующие защитные белки, и способной активироваться различными внешними индукторами.

Настоящая работа посвящена анализу второго компонента клеточного ответа на стресс: индукции геномной нестабильности.

Повышение геномной нестабильности при стрессе. Хорошо известно, что различные стрессовые условия индуцируют геномную нестабильность. Показано, например, что тепловой шок способен приводить к индукции митотической рекомбинации в клетках *Ustilago maydis* [1], утрате хромосом у дрожжей *Candida bicans* [2], к увеличению скорости транспозиции мобильных элементов у дрозофилы и дрожжей на 2—3 порядка [3—5]. Для высших растений существуют по меньшей мере три примера (перевод клеток в культуру, гибридизация несходных геномов и питательный стресс), когда стрессовые факторы могут вызывать быстрые и существенные изменения генома, включающие транспозиции и амплификации геномных последовательностей [6—8]. Сходное явление (активация транспозиции мобильных элементов) обнаружено у некоторых линий дрозофилы, возникших в условиях гибридного дисгенеза [10]. Эти и другие данные [17] демонстрируют, что стрессовые факторы способны приводить к вспышке геномной изменчивости, которую можно рассматривать как одну из сторон клеточного ответа на стресс.

Адаптивность геномных перестроек. Активация мобильных генетических элементов в ответ на незапрограммированные внешние воздействия, позволила Б. МакКлинтоку сформулировать гипотезу «геномного стресса» [9], согласно которой наличие структур, способных быстро реконструировать геном, имеет эволюционное значение. Эта гипотеза находит много сторонников, поскольку все большее признание получают представления о том, что главным источником наследственной изменчивости являются не точечные мутации, а крупные перестройки генома: инсерции, делеции, амплификации последовательностей [18]. Существование корреляции между уровнем приспособляемости линий дрозофилы и транспозициями мобильных диспергированных генов [11, 12] может означать, что наличие внутриклеточных структур, способных обеспечивать геномные перестройки, имеет не только эволюционное, но и непосредственное адаптивное значение. На это указывает тот факт,

что популяция клеток *Escherichia coli*, несущая мобильный элемент Tn10, обладает значительными селекционными преимуществами в жестких условиях отбора по сравнению с популяцией, лишенной транспозона [19]. Еще один подобный пример описан в работе [36], где показано, что устойчивость *Saccharomyces cerevisiae* к различным стрессовым факторам обусловлена внедрением *Ty*-транспозона в кодирующий участок аденилатциклазного гена, отсутствие которой, как показано в [37], обуславливает конститутивную термотолерантность *Neurospora crassa*.

Аmplификация специфических генов как проявление геномной нестабильности является, как известно, основным механизмом устойчивости клеток к различным лекарственным препаратам [13]. По данным авторов [14], клетки, селекционируемые на устойчивость к ядам, обладают повышенной скоростью мутаций в ряде независимых генетических локусов. Есть основания считать, что в процессе селекции устойчивых к лекарственным препаратам клеток отбираются не клетки с амплифицированными копиями фермента-мишени, а клетки с амплификаторным фенотипом [15], в которых в результате генетических или эпигенетических изменений амплифицируются независимые генетические локусы, в том числе и гены, кодирующие белки-мишени.

Индукцибельная «SOS»-система бактерий, которая в отличие от конститутивной системы репарации ассоциирована с репарационным мутагенезом [16], несомненно, способствует выживаемости при повреждении бактериальной ДНК различными агентами. То обстоятельство, что при этом индуцируется новая (или модифицируется конститутивная) ДНК-полимераза, обладающая пониженной требовательностью к матрице [20], свидетельствует о том, что индуцированный мутагенез не есть следствие сильных повреждений матрицы, а является свойством индуцибельной системы. Подтверждает это тот факт, что трансфекция локально поврежденной матрицы приводит к индукции широкого спектра рекомбинаций, выходящих далеко за пределы поврежденного участка, более того, распространяется на неповрежденную ДНК, контрастированную с поврежденной [21]. Может оказаться, что индуцибельная «SOS»-система призвана не столько репарировать, сколько служить одним из способов (наряду с подвижными элементами), способных привести к быстрой реконструкции генома.

Что касается эукариот, то к настоящему времени подобная система не обнаружена. Однако тот факт, что клетки млекопитающих, подверженные различным воздействиям (тепловой шок, УФ-облучение и др.), способны реактивировать УФ-облученные вирусы [22], указывает на то, что «SOS»-подобные функции присущи эукариотическим клеткам. Кроме того, нельзя не отметить феноменологического сходства между «SOS»-ответом у бактерий и индукцией геномной нестабильности у эукариот. Подтверждением этого сходства является способность ряда агентов, повреждающих ДНК (например, митомицин С), индуцировать «SOS»-ответ и перемещение транспозонов у *E. coli* [23], усиливать транспозиции мобильных генетических элементов растений [9], дрозофилы [23] и амплификацию геномных последовательностей в культивируемых клетках млекопитающих [13].

Приведенные данные формируют впечатление, что в клетках про- и эукариот существуют индуцибельные системы, способные приводить к существенной реконструкции генома. Не исключено, что степень выражения этой системы ассоциируется с повышенной выживаемостью клеток при действии неблагоприятных внешних факторов.

Геномная нестабильность как контролируемый процесс. Для обсуждения правомерен следующий вопрос: индукция геномной нестабильности есть следствие поломки нормально функционирующего внутриклеточного механизма или является результатом реализации программы? По модели Шимке [13], амплификация последовательностей в культивируемых клетках происходит вследствие неспособности клеточного аппарата нормально реплицировать ДНК в S-фазе. Подтвер-

ждается это тем, что различные агенты, ингибирующие синтез ДНК, усиливают амплификацию гена дигидрофолатредуктазы культивируемых клеток млекопитающих [13]. Тот факт, что индукция геномной нестабильности наблюдается при психо-эмоциональном стрессе [17], указывает на то, что этот процесс может быть не связан с повреждающим действием стрессового фактора. Существует ряд примеров индукции геномных перестроек, связанных с определенными стадиями индивидуального развития: переключение типов спаривания у дрожжей, диминуция хромосом у нематод, перестройки генов иммуноглобулинов у позвоночных и азотфиксирующих генов у цианобактерий [24], амплификация рДНК в ооцитах *Xenopus* и хорионовых генов *Drosophila* [25]. Они свидетельствуют о том, что индукция геномных перестроек может быть программируемым событием.

Авторами [29] обнаружено, что началу амплификации хорионовых генов предшествует транзитная индукция транскрипции соответствующей мРНК. Это может указывать на транскрипционный уровень регуляции амплификации [13]. Открытие цис-регуляторных элементов, ответственных за амплификацию прилегающих последовательностей [25, 28], подтверждает такую точку зрения. Более того, весьма вероятно, что одни и те же цис-регуляторные последовательности могут контролировать как транскрипцию, так и амплификацию специфических генов [35]. Подтверждением этому служат и те данные, что ионы тяжелых металлов способны не только индуцировать транскрипцию, но и амплификацию гена металлотионеина 1 мыши [27]. В свете изложенного весьма правдоподобным является предположение Шимке и соавт. [26] об индуцированной метотрексатом амплификации гена дигидрофолатредуктазы в культивируемых клетках млекопитающих, что приводит к быстрому возникновению метотрексат-устойчивых вариантов.

То обстоятельство, что различные проявления геномной нестабильности могут носить индуцибельный характер, дает основание предположить, что системы, оперирующие стресс-индуцированными геномными перестройками, связаны с системой индуцибельных генов, активирующихся в ответ на внешние воздействия, или находятся в ее составе. На это указывают следующие факты.

1. Агенты, являющиеся классическими индукторами «SOS»-ответа (УФ-облучение, налидиксовая кислота), способны индуцировать также синтез белков теплового шока у *E. coli* и *S. cerevisiae* [30, 34]. С другой стороны, тепловой шок усиливает реактивацию УФ-облученного вируса в клетках млекопитающих [22] и индуцирует экспрессию гена, активирующегося при повреждении ДНК у дрозофиллы [34].

2. Тепловой шок и гибридный дисгенез, как отмечалось ранее, могут вызывать перемещение мобильных генетических элементов у дрозофилы [4, 5]. Некоторые агенты, вызывающие классический ТШ-ответ (повышенная температура, перекись водорода, азид натрия), способны активировать транскрипцию *copia*-подобных элементов [31]. Активация транскрипции как первый этап транспозиции происходит из-за наличия в длинных концевых повторах этих элементов последовательности, гомологичной консенсусным промоторным последовательностям генов теплового шока [31].

3. Ультрафиолетовое облучение, митоцин С и форболовый эфир ТФА (агенты, способствующие амплификации генов в культивируемых клетках млекопитающих) индуцируют экспрессию ряда клеточных генов, входящих в индуцибельную систему: онкогена *c-fos*, металлотионеина и секретиремого фактора, активирующего транскрипцию генов в клетках, не подвергшихся стрессовому воздействию [32].

Заключение. Представленные данные формируют впечатление, что стрессовые факторы индуцируют клеточный ответ, состоящий из защитной и мутабельной компоненты. Природа триггера, генерирующего такой ответ, остается неизвестной, однако кажется маловероятным, что

он является единственным даже для одного типа клонков. Не исключено, что культивируемые клетки животных и растений, некоторые линии дрозофилы, обладающие устойчивой способностью к перемещениям мобильных элементов [33], а также опухолевые клетки, в которых обнаружены все типы обсуждаемых здесь геномных перестроек [13, 33], являются примерами стабильной экспрессии в норме индуцибельной системы, оперирующей степенью геномной нестабильности.

Резюме

Обговорюються питання стрес-індукованої нестабільності геному. Збільшення геномної нестабільності при дії на клітину шкідливих факторів інтерпретується як один із компонентів її відповіді на стрес.

Припускається, що системи, контролюючі геномні перебудови, зв'язані з системою індукційних генів, що активуються у відповідь на зовнішній вплив.

Summary

Some aspects of stress-induced genome instability is interpreted as one of the components of cellular response to stress.

The systems controlling genome rearrangements are supposed to be related to the systems of stress-responsible genes.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taylor S. Y., Holliday R. Induction of thermotolerance and mitotic recombination by heat-shock in *Ustilago maydis* // Curr. Genet.—1984.— 9, N 1.— P. 59—63.
2. Heat shock induces chromosome loss in the yeast *Candida albicans* / C. Hilton, D. Markie, B. Corner et al. // Mol. and Gen. Genet.—1985.— 200, N 1.— P. 162—168.
3. Paquin C. E., Williamson V. M. Temperature effects on the rate of *Ty* transposition // Science.—1984.— 226, N 4670.— P. 53—55.
4. Barsanti P., Palumbo G. Heat-shock or hybrid disgenesis induced instability of the W^a mutation of *Drosophila melanogaster* // Atti. Assoc. genet. ital.—1985.— 31, N 1.— P. 7—8.
5. Transposition of copia-like nomadic elements can be induced by heat shock / N. Yunakovic, C. Di Franco, F. Barsanti, G. Palumbo // J. Mol. Evol.—1986.— 24, N 1—2.— P. 89—94.
6. Marx J. Instability in plants and the ghost of Lamarck // Science.—1984.— 225, N 4656.— P. 1415—1416.
7. Watbot V. Rapid genomic change in higher plants // Annu. Rev. Plant Physiol.—1985.— 36.— P. 367—396.
8. Cullis C. A. Phenotypic consequences of environmentally induced changes in plant DNA // Trends Genet.—1986.— 2, N 12.— P. 307—309.
9. McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge // Science.—1984.— 226, N 4676.— P. 792—801.
10. Герасимова Т. И., Мирзохи Л. Ю., Георгиев Г. П. «Транспозиционные взрывы» в отдельных зародышевых клетках при генетической дестабилизации у *Drosophila melanogaster* // Докл. АН СССР.—1984.— 274, № 6.— С. 1473—1476.
11. Транспозиции мобильных диспергированных генов, коррелирующие с изменением приспособленности у *Drosophila melanogaster* / Е. Г. Пасюкова, Е. С. Беляева, Г. Л. Коган и др. // Генетика.—1984.— 20, № 11.— С. 1772—1782.
12. Согласованные изменения локализации мобильных элементов в геноме *Drosophila melanogaster*, отражающие результаты направленного отбора по количественным признакам / Е. Г. Пасюкова, Г. Л. Коган, О. В. Иовлева и др. // Докл. АН СССР.—1985.— 283, № 6.— С. 1476—1480.
13. Schimke R. T. Gene amplification in cultured animal cells // Cell.—1984.— 37, N 3.— P. 705—713.
14. Drobetsky E., Menth M. Increased mutational rates in chinese hamster ovary cells serially selected for drug resistance // Mol. and Cell. Biol.—1983.— 3, N 10.— P. 1882—1885.
15. Giulotto E., Knights C., Stark G. R. Hamster cell with increased rates of DNA amplification, a new phenotype // Cell.—1987.— 48, N 5.— P. 837—845.
16. Witkin E. M. Ultraviolet mutagenesis and inducible DNA repair in *Escherichia coli* // Bacteriol. Rev.—1976.— 40.— P. 869—907.
17. Бородин П. М. Стресс и генетическая изменчивость // Генетика.—1987.— 23, № 6.— С. 1003—1011.
18. Эволюция генома / Ред. Г. Д. Доувер, Р. Флейвелл.— М.: Мир, 1986.— 368 с.
19. Сазанник Р. И. Молекулярные механизмы стресс-индуцируемой наследственной изменчивости // Генетика.—1987.— 23, № 6.— С. 1050—1064.

20. Тарасов В. А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза.— М.: Наука, 1982.— 220 с.
21. Индукция широкого спектра рекомбинаций в результате сайт-направленного повреждения плазмидной ДНК химическими мутагенами / Р. И. Салганик, Г. Л. Дянов, Е. А. Васюткина и др. // Докл. АН СССР.— 1984.— 274, № 6.— С. 1483—1487.
22. Yager J. D., Zurlo J., Pehn A. L. Heat-shock-induced reactivation of UV-irradiated Herpes virus // Mutat. Res.— 1985.— 146, N 2.— P. 121—128.
23. Индукция одиночных транспозиций мобильных генетических элементов у *Drosophila melanogaster* с помощью митомицина С / Г. П. Георгиев, С. Е. Корочкина, В. А. Могила, Т. И. Герасимова // Генетика.— 1988.— 24, № 3.— С. 461—468.
24. Developmental rearrangement of cyanobacterial nitrogen-fixation genes / R. Haselkorn, J. W. Golden, P. J. Lammers, M. E. Mulligan // Trends Genet.— 1986.— 2, N 10.— P. 255—259.
25. Delidakis C., Kafatos F. C. Amplification of a Chorion gene cluster in *Drosophila* is subject to multiple cis-regulatory elements and to long-range position effects // J. Mol. Biol.— 1987.— 197, N 1.— P. 11—26.
26. Rath H., Tlsty T., Schinke R. T. Rapid Emergence of methotrexate resistance in cultured mouse cells // Cancer Res.— 1984.— 44, N 8.— P. 3303—3306.
27. Acute treatment of mice with cadmium salt results in amplification of the metallothionein-1 gene in liver / J. Koropatnick, R. Winning, E. Wiese et al. // Nucl. Acids Res.— 1985.— 13, N 15.— P. 5423—5439.
28. Biswas D. K., Hartigan J. A., Pichler M. H. Identification of DNA sequence responsible for 5-bromodeoxyuridine-induced gene amplification // Science.— 1984.— 225, N 4665.— P. 941—943.
29. Thireos G., Griffin-Shea R., Kafatos F. C. Untranslated mRNA for a chorion protein of *Drosophila melanogaster* accumulates transiently at the onset of specific gene amplification // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1980.— 77, N 6.— P. 5789—5793.—
30. Krueger J. H., Walker G. C. *groEL* and *deaf* genes of *Escherichia coli* are induced by UV irradiation and nalidixic acid in an *htpR*⁻-dependent fashion // Ibid.— 1984.— 81, N 5.— P. 1499—1503.
31. Strand D. J., McDonald J. F. *Copia* is transcriptionally responsive to environmental stress // Nucl. Acids Res.— 1985.— 13, N 12.— P. 4401—4410.
32. The stress response of human primary fibroblasts and its implication for carcinogenesis / P. Herrlich, P. Angel, H. Rahmorsdori et al. // J. Cell Biochem.— 1985.— Suppl. N 19C.— P. 17.
33. Георгиев Г. П. Молекулярная генетика эукариотической клетки // Генетика.— 1987.— 23, № 10.— С. 1734—1740.
34. Vivino A. A., Sinith M., Minton K. W. A DNA damage-responsive *Drosophila melanogaster* gene is also induced by heat shock // Mol. and Cell. Biol.— 1986.— 6, N 12.— P. 4767—4769.
35. Orr-Weaver T. L., Spradling A. C. *Drosophila* Chorion gene amplification requires an upstream region regulating *S18* transcription // Ibid.— P. 4624—4633.
36. Hide Toshi I. Multistress resistance of *Saccharomyces cerevisiae* is generated by insertion of retrotransposon *Ty* into the 5' coding region of the adenylate cyclase gene // Ibid.— 1988.— 8, N 12.— P. 5555—5560.
37. Cyclic AMP-dependent, constitutive thermotolerance in the adenylate cyclase-deficient *cr-1* (crisp) mutant of *Neurospora crassa* / A. K. Cruz, H. F. Terenzi, J. A. Zorge, H. F. Terenzi // Curr. Genet.— 1988.— 13, N 3.— P. 451—454.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 26.04.90