

МОБИЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ И СТРЕСС

С.В. Чересиз, Н.Н. Юрченко, А.В. Иванников, И.К. Захаров

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: cheresiz@yandex.ru

В данном обзоре аналитически рассмотрена концепция Б. Мак-Клинток об активизации мобильных элементов в ответ на воздействие внешних и внутриклеточных стрессовых факторов. Она предполагает, что такая мобилизация является системным геномным ответом на стрессовые для организма события, и именно этот механизм видообразования, как указывается, и привел к возникновению ряда известных нам видов. Подобный геномный стрессовый ответ приводит к образованию широкого спектра генетического разнообразия посредством инсерционного мутагенеза, что позволяет видам/популяциям, резервуарам мобильных элементов (МЭ), успешнее адаптироваться к изменениям. Более того, как показывают последние исследования, результат такого геномного ответа можно рассматривать как «направленные»/адаптивные мутации.

На примере стрессового клеточного ответа у прокариот и эукариот обсуждена вероятность образования адресных адаптивных мутаций, генерируемых инсерциями МЭ в ответ на специфические стрессовые воздействия. Кратко изложены соображения сторонников эволюционного градуализма против придания значимости роли МЭ в эволюционном процессе в связи с «несвоевременностью»/случайностью возникновения инсерционных мутаций, в том числе и потенциально адаптивных, вследствие чего вероятность их появления в «нужный» для популяции/вида момент исчезающе мала. Контраргументация эволюционистов, признающих значение мобилизации МЭ, построена на апелляции к неравномерности темпа мутационного процесса, и в частности к феномену волн популяционных мутаций.

В статье рассматриваются данные о мобилизации прокариотических и эукариотических МЭ, индуцированной широким набором внешних и внутриклеточных стрессовых факторов, таких, как рентгеновское и ультрафиолетовое облучение, магнитные поля, высокие и низкие температуры, различные химические соединения, pH среды, вирусные, бактериальные и грибковые инфекции, перевод в клеточную культуру тканей и неблагоприятные экологические факторы, такие, как голодание и рост на бедных питательных средах. Описаны уже подтвержденные или предполагаемые молекулярные каскады клеточных стрессовых ответов, контролирующие факторы которых одновременно ведут к мобилизации МЭ. Особое внимание уделено возможной роли *L1*-элемента человека как специфического мутагенного фактора, участие которого в патогенезе ряда генетических заболеваний человека уже подтверждено и который, с одной стороны, может активироваться появлением ряда повреждений ДНК, вызываемых другими генотоксическими факторами, а с другой – участвовать в репарации таких повреждений.

Введение

Когда в своей Нобелевской речи, опубликованной отдельной работой в следующем, 1984 г., Б. Мак-Клинток предложила гипотезу о том, что индукция перемещений мобильных элементов (МЭ) стрессовыми факторами, вероятнее всего, является реакцией генома на неожиданные изменения (McClintock, 1984), сам феномен транспозиций повторенных геномных последовательностей, связанных с

воздействием стрессовых внутриклеточных факторов и факторов окружающей среды, уже был знаком исследователям. За предшествующее этому десятилетие были получены данные о таких событиях у бактерий, дрожжей, кукурузы и дрозофилы (Cameron *et al.*, 1979; Kretschmer, Cohen, 1979; Datta *et al.*, 1983; Paquin, Williamson, 1984). Новым и неожиданным на фоне господствовавшего тогда представления об «эгоистической» природе МЭ было само предположение о том, что эти

события представляют собой ответную реакцию генома на «шок», причем реакцию особого рода. Наряду с ответом «теплого шока» у эукариот или SOS-ответом у бактерий, которые представляют собой жестко запрограммированную последовательность клеточных событий, позволяющих смягчить эффект шока, как отмечала Мак-Клинток, геному свойственны и менее запрограммированные реакции на непредвиденные изменения стрессового характера, в число которых входит и индукция перемещений МЭ (McClintock, 1984).

Любопытно, что еще одной подобной «незапрограммированной» реакцией генома, позволяющей ему модифицироваться в ответ на неожиданную смену условий, она назвала события, происходящие с геномом при переведении клеток из нормального для них микроокружения в клеточную культуру. На тот момент исследователи вполне представляли, какой широкий спектр изменений (фенотипических, кариотипических, генотипических) претерпевают клетки при культивировании *in vitro*, однако то, что при этих условиях индуцируются перемещения мобильных элементов, тогда практически не было известно. Впрочем, этот пример был упомянут ей явно не случайно – среди прочих случаев подобных реакций генома на «события травматического характера» (как она характеризовала их) приводятся и вирусные инфекции, и межвидовые скрещивания, и различные ядовитые химические соединения. Все эти виды стресса, как мы знаем сегодня, способны вызывать транспозиции МЭ.

В этой же работе (McClintock, 1984) было высказано еще одно предположение, предвосхитившее современные научные представления о процессе образования видов: по крайней мере, некоторые биологические виды образовались в результате реструктуризации генома в ответ на некий «геномный шок». Можно предполагать, что таким «шоком» могла быть межвидовая гибридизация, которая, как продемонстрировано рядом исследований, может в числе прочих эффектов вызывать массовые перемещения МЭ («вспышки транспозиций»). На сегодня считается доказанным, что целый ряд видов в эволюционной истории, а также и в истории селекции произошел в результате действия этого механизма (Fontdevila, 2005).

Четверть века исследований МЭ, в том числе и их стрессовой индукции, в основном подтвердили гипотезу Б. Мак-Клинток и сдвинули парадигму от представления о транспозонах как «геномных паразитах» биологических видов к идее о доместикации МЭ видами-хозяевами в ходе их коэволюции. Считается, что виды, несущие в своем геноме МЭ (а таких подавляющее большинство), выработали механизмы клеточного контроля, позволяющие контролировать их перемещения в нормальных условиях окружающей среды и клеточного гомеостаза. В таких условиях мобильные элементы или стабильны, или перемещаются в областях гетерохроматина, где их инсерции или опосредованные ими хромосомные перестановки не ведут к образованию мутаций, способных отразиться на приспособленности хозяина. В условиях стресса, однако, происходит индукция МЭ, которая приводит к повышению мутабельности за счет более высокой частоты их перемещений и/или «перенаправлению» их инсерций в районы активного эухроматина. Это ведет к повышению уровня генетической вариабельности популяции, что, как считается, повышает ее шансы приспособиться к изменившимся условиям.

Феномен увеличения амплитуды генетической вариабельности многих количественных признаков в популяции под действием стресса описывался в ряде работ (см., например, Imasheva *et al.*, 1998). Среди таких признаков, отмеченных у *Drosophila melanogaster*, – жизнеспособность и длительность периода развития, а также ряд морфологических признаков. Эта вариабельность может иметь различные источники, не обязательно связанные с индукцией МЭ. Разные гены могут по-разному экспрессироваться в нормальных и стрессовых условиях. Кроме того, существует такой феномен, как скрытая вариабельность: например, шаперон теплового шока Hsp90 способен «маскировать» мутантные фенотипы многих клеточных белков системы сигнальной трансдукции (рецепторов стероидных гормонов, циклин-зависимых и Src-протеинкиназ), несущих в себе аминокислотные замены, которые ведут к изменению конформации этих молекул. Однако он способен делать это только в нормальных физиологических условиях, что определяется его бинарной

функцией – молекулярного шаперона систем сигнальной трансдукции и белка теплового шока. При повышении температуры он вынужден переключать свою буферную функцию и на прочие денатурированные клеточные белки, помимо своих естественных мишеней. Это приводит к экспрессии до того маскировавшихся им криптических генетических детерминант и увеличению индуцированной вариабельности, теперь уже подверженной процессу отбора и сохраняющейся даже после того как функция этого шаперона будет восстановлена (Rutherford, Lindquist, 1998). Кроме того, показано включение разнообразных механизмов мутагенеза в ответ на изменение условий окружающей среды. Среди них чаще всего упоминаются SOS-ответ, активирующий мутагенную активность, и MRS-ответ, ингибирующий антимутагенную систему репарации, mismatch repair system (Taddei *et al.*, 1997; Rocha *et al.*, 2002), а также индукция МЭ (Caru *et al.*, 2000). Следует отметить, впрочем, что только у бактерий есть еще несколько механизмов повышения мутабельности в ответ на стресс. Наличие таких механизмов у эукариот можно предполагать: например, дерепрессия эпигенетического сайленсинга, которая может происходить в ответ на стресс, часто ведет к активации МЭ и повышению мутабельности.

Имеет ли индуцированное стрессом повышение мутабельности и, вследствие этого, вариабельности случайный или «направленный» характер, иными словами, может ли популяция, находящаяся под селективным отбором (стрессом), задействовать мутирование именно тех генов, которые могли бы ослабить это селективное давление? Последние 20 лет исследований лабораторных и природных популяций показывают, что появление таких адаптивных мутаций, возможно, и раскрывает многочисленные механизмы (более детально изученные у бактерий и в меньшей степени – у эукариот), приводящие к их возникновению. Теоретически существуют только два механизма направленного появления мутаций – их селективное возникновение или селективная фиксация. Единственным примером селективного возникновения мутаций являются транскрипционно-индуцированные мутации в генах, которые сами подвержены сильной индукции некоторыми стрессовыми условиями (Foster,

2007). Следует отметить, что этот механизм действительно иногда реализуется. С этим связывают феномен «транскрипционного стресса», который способен приводить к образованию двойных разрывов ДНК и сопутствующих им хромосомных перестановок в областях высокой транскрипционной активности (Hedges, Deininger, 2007). Эти двойные разрывы, как будет показано далее, могут служить сайтами преимущественной инсерции для целого ряда эукариотических ретротранспозонов, которые, таким образом, встраиваются и изменяют экспрессию генов, активно транскрибирующихся в определенных стрессовых условиях.

Селективная фиксация, напротив, может быть постоянной характеристикой мутирования под действием отбора, по крайней мере, у бактерий: клетки под его давлением испытывают потенциально мутагенные изменения ДНК, однако непригодные изменения репарируются или «вычищаются» отбором. Но потенциально полезные фенотипы начинают размножаться, и если клетка не способна репарировать такую премутацию, то та фиксируется. У бактерий, экологический «стиль» которых часто описывается как «пир или голод», т. е. регулярно подверженных стрессу, таким способом спонтанно генерируются мутации в генах репарации, приводящие к постоянному или стресс-индуцируемому мутантному фенотипу. Способность мутировать с высокой частотой для организмов, живущих под постоянным или регулярным давлением пищевого стресса, безусловно, является адаптивной. Пока непонятно, впрочем, насколько часто такие направленные мутации в генах репарации у бактерий обусловлены МЭ.

Происходят ли адаптивные мутации у эукариот и обусловлено ли их появление МЭ? Недавнее исследование инсерций МЭ в проксимальный промотор гена теплового шока *hsp70*, проведенное в нескольких десятках природных популяций *Drosophila melanogaster*, показало, что 94 % всех инсерций P-элемента и все (немногочисленные) инсерции других элементов (*jockey* и *gypsy*) в промоторные области генов приходились на *hsp70*. Учитывая тот факт, что у дрозофилы инсерции в области работающих генов вообще крайне редки, а также то, что экологической нише, которую занимают фруктовые мушки (гниющие фрукты), свойственна постоян-

ная или периодическая гипертермия, первичным ответом организма на которую будет индукция шаперонов теплового шока, можно говорить о том, что в этом случае мутации, опосредованные МЭ, носят «направленный» характер. Механизм таких адаптивных мутаций не до конца ясен, но авторы связывают его с доступностью постоянно деконденсированного хроматина и отсутствием нуклеосомной организации в области промотора (Walser *et al.*, 2006).

Один из ответов на вопрос, какие механизмы могут индуцировать МЭ в ответ на стрессовые условия, заключается в сходстве промоторов ряда МЭ с промоторами генов защитного ответа у некоторых организмов. Говоря о стрессовом ответе, принято разделять его на физиологический (то, что Б. Мак-Клинтон называла «запрограммированным ответом генома») и генетический ответы (незапрограммированная реакция генома на стрессовые условия, направленная на возможное повышение приспособленности в следующих поколениях). Корреляция между стрессовой индукцией МЭ и активацией физиологических клеточных механизмов защиты клетки от стресса может определяться наличием у МЭ сайтов связывания транскрипционных факторов, которые участвуют в индукции генов защитных систем клетки (Caru *et al.*, 2000). Описанная выше ситуация имеет место у растений, ретротранспозоны которых несут в своем промоторе множественные сайты посадки ТФ, участвующих в индукции специфических клеточных стрессовых каскадов (Casacuberta, Santiago, 2003).

Как уже отмечалось, гипотеза Б. Мак-Клинтон о роли стресса в индукции МЭ и о месте таких событий в эволюции была подтверждена многочисленными исследованиями на разных экспериментальных моделях и в природных популяциях и была принята большинством исследователей. Следует отметить, впрочем, что против нее выдвигались соображения как теоретического, так и практического характера. Так, сторонники градуализма в эволюции утверждали, что инсерции МЭ вряд ли могут быть адаптивными и важными для эволюции, поскольку таковые с малой вероятностью могут возникать именно в то время, когда популяция в них нуждается, например, когда появляется новая экологическая ниша. Однако популяционные

исследования показали, что скорость появления индуцированных мобильными элементами мутаций в популяциях непостоянна, высокая частота мутирования приходит волнами («вспышками нестабильности»), напоминая явления гибридного дисгенеза, сопровождающего инвазии МЭ в новых популяциях или видах. Природа таких вспышек не вполне ясна, но, вероятно, они связаны с инбридингом или какой-либо формой геномного стресса, о котором говорила Б. Мак-Клинтон (Kidwell, Lisch, 1997).

Надо отметить, что в противовес большинству генетиков, признающих выводы Б. Мак-Клинтон непротиворечивыми и обоснованными, остаются и те, кто считают мобильные элементы скорее курьезом, важность которого для общей биологии еще предстоит продемонстрировать, если для этого предоставится возможность. В своем выступлении на симпозиуме, посвященном сорокалетию молекулярной биологии, в Париже в 1993 г. П. Старлингер охарактеризовал предположение Б. Мак-Клинтон о ведущей роли мобильных элементов в эволюции как маловероятное, а определение МЭ как факторов, опосредующих ответ организма на геномный стресс, счел неясным. Не известны случаи среди растений, когда молчащий ген был бы включен или бы стала возможной его экспрессия в другой ткани в результате инсерции мобильного элемента и, кроме того, нет информации о том, чтобы хоть один из хорошо изученных генов растений с контролируемой экспрессией имел бы признаки присутствия мобильного элемента вблизи него (Starlinger, 1993).

В последующих двух разделах нашей статьи приводятся данные об индукции перемещений мобильных элементов прокариот и эукариот, большая часть которых получена уже после этого выступления и дает большие возможности судить, насколько современными представляются сейчас доводы оппонента Б. Мак-Клинтон.

Взаимодействие прокариотических мобильных элементов с факторами абиотического, биотического и геномного стресса

Зависимость активности МЭ бактерий (от простейших инсерционных последовательностей, транспозонов и интегрирующих бакте-

риофагов до интегрирующих конъюгирующих элементов (ICE) и геномных островов-фрагментов ДНК размером 10–100 т.п.н., способных к интеграции и вырезанию из бактериального генома) от различных факторов окружающей среды отмечается в литературе на протяжении трех десятилетий, и сама такая связь представлялась естественной для исследователей. Первоначально сама «эгоистическая» природа таких элементов подсказывала необходимость их мобилизации в результате бактериальных стрессовых ответов. Индукция повреждений и перестановок ДНК перемещением МЭ делала неизбежной ответную реакцию клеток-хозяев, направленную на регулирование передвижений в них МЭ (Foster, 2007). Вообще, жесткий многоуровневый контроль бактериальных МЭ, обеспечивающий низкий уровень их перемещений в нормальных физиологических условиях, считается общим феноменом для бактериальных транспозонов (Nagy, Chandler, 2004). Кроме того, индукция перемещений МЭ стрессовыми факторами окружающей среды тщательно документировалась, в частности, была показана зависимость перемещений бактериальных инсерционных последовательностей (IS) от разных типов пищевого стресса.

Так, было показано, что в культуре клеток *E. coli*, сохранявшейся в течение 30 лет в срезе агара, происходило постоянное перемещение инсерционных последовательностей, причем из 8 типов IS, присутствующих в геноме *E. coli*, 4 демонстрировали высокий уровень транспозиционной активности (IS2, IS3, IS30 и в особенности IS5), мобильность 3 была слабой (IS186, IS150 и IS4), а IS1 оставалась неподвижной (Naas *et al.*, 1994). Криптический оперон *bgl* *E. coli* может активироваться перемещением IS в его контролирующую область, что дает бактериям возможность расти на β-глюкозидах (салицине или арбутине), причем частота появления мутантов растет на протяжении нескольких дней после того как единственным источником углерода для клеток становится арбутин (Foster, 2007). В линии *E. coli* MCS2, полученной встройкой бактериофага *Mu* между генами *araB* и *lacZ* и имеющей *Lac*⁻-фенотип, эксцизия этого элемента восстанавливает *Lac*⁺-фенотип посредством слияния регуляторной области *araB* с генами *lacZ* и *lacY* в одной рамке счи-

тывания. Появление *Lac*⁺-клеток в результате такого слияния стимулируется при инкубации родительских клеток *Lac*⁻ в среде с лактозой как единственным источником углерода и низкой концентрацией арабинозы в качестве индуктора (Shapiro, 1984) или при длительной аэробной инкубации в безуглеродной среде. Следует в дополнение отметить, что *ara-lac*-структуры, индуцированные этими двумя путями, различаются между собой (Foster, 2007). Пищевой стресс при инкубации клеток *Phe*⁻-линии *Pseudomonas putida* на минимальной фенольной среде ведет к появлению утилизирующих фенол мутантов в результате активации беспромоторного каскада генов деградации фенола *pheBA* (расположенного на плазмиде) транспозицией хромосомного транспозона *Tn4652* в область перед геном фенолмонооксигеназы *PheA*, при этом частота транспозиций зависит от длительности голодания (Ilves *et al.*, 2001). Была зафиксирована вспышка транспозиций инсерционной последовательности *ISH27* у археобактерии *Halobacterium halobium* в результате комбинированного воздействия пищевого и температурного стресса – в ходе двухгодичного хранения культуры при 4 °C (Pfeifer, Blaseio, 1990). Также была показана зависимость транспозиционной активности ряда бактериальных инсерционных последовательностей от температуры. Так снижение на несколько порядков величин частоты делеций, вызванных транспозициями *IS1*, при повышении температуры культивирования бактерий до 42 °C было отмечено уже 30 лет назад. Выявление температурного оптимума, равного 30 °C, для транспозиций транспозона *Tn3* (Kretschmer, Cohen, 1979) и инсерционных последовательностей *IS30* (Nagy, Chandler, 2004) и *IS911* (Haren *et al.*, 1997) стало свидетельством того, что зависимость транспозиций от температуры может быть достаточно распространенным феноменом. Модуляция транспозиционной активности мобильных элементов факторами окружающей среды (в том числе температурой) может осуществляться на двух уровнях: 1) посредством регуляции экспрессии генов, ответственных за транспозицию, и/или активности их продуктов, т. е. факторов, кодируемых самим транспозоном; 2) посредством регуляции экспрессии и/или активности фундаментальных факторов клетки-хозяина (сигма-факторов

транскрипции, ДНК-шаперонов, белковых шаперонов систем теплового и холодового шока, белков систем рекомбинации и репарации, включая SOS-систему), которые в свою очередь могут изменять транспозиционную активность (Ohtsubo *et al.*, 2005). Все приведенные выше случаи являют собой примеры первого уровня регуляции, когда температурная зависимость связана исключительно с активностью или уровнем экспрессии фермента транспозазы (Nagy, Chandler, 2004). Существует свидетельство массовой транспозиционной активности 7 мобильных элементов, принадлежащих к 4 различным семействам, в клетках *Burkholderia multivorans* под действием теплового шока (42 °C), что, по мнению авторов, служит указанием на участие неких фундаментальных факторов клетки-хозяина в индукции транспозиций при повышенной температуре (Ohtsubo *et al.*, 2005). Однако вследствие сложности и разветвленности регуляторных генных сетей клетки-хозяина, способных опосредовать влияние фактора внешней среды на транспозиционную активность мобильного элемента, трудно представить себе, чтобы один простой стимул приводил к массовой глобальной индукции транспозиций, и, действительно, свидетельств этому очень мало (Nagy, Chandler, 2004).

В связи с вышеизложенным следует, по-видимому, с осторожностью относиться к сообщениям о повышенном уровне транскрипции *IS*-элементов под действием высоких концентраций ионов некоторых металлов (Zn(II), Cd(II) и Co(II)) (Brocklehurst, Morby, 2000), индукции транспозона *Tn10* ультрафиолетовым излучением (Eichenbaum, Livneh, 1998), индукции транспозиций *Tn5* воздействием низкочастотного (50 Гц) магнитного поля (Chow, Tung, 2000), снижении или повышении частот транспозиций *Tn10* под действием синусоидального и пульсирующего низкочастотного магнитного сигнала, соответственно, индукции транспозиций *Tn5*, *Tn9* и *Tn10* некоторыми химическими соединениями (ацетатом, ДМСО, детергентами) (Datta *et al.*, 1983; Del Re *et al.*, 2004). Такие результаты следует рассматривать как требующие дальнейшего уточнения и «привязки» к конкретным элементам систем бактериального стрессового ответа на действие факторов внешней среды, опосредующих подобные эффекты на транспо-

зиционную активность отдельных мобильных элементов.

Для более ясного понимания того, как различные экологические факторы могут влиять на поведение бактериальных МЭ, имеет смысл вкратце рассмотреть систему стрессовых ответов бактерий (на примере *E. coli*) и определить те молекулярные компоненты этих систем, которые могут иметь непосредственное отношение к подвижности МЭ. Поскольку целью этого обзора не является детальное описание физиологии стрессовых ответов бактерий, можно ограничить рассмотрение лишь наиболее изученными системами: теплового и холодового шока, стресса клеточной стенки (heat-shock-, cold-shock-, envelope stress responses), направленными на адаптацию к температурному стрессу, системами общего и жесткого ответа (general stress- and stringent responses), направленными на адаптацию к пищевому стрессу, и SOS-ответа, защищающего клетки от мутагенного влияния повреждающих ДНК веществ.

Реакция теплового шока является ответом клетки не только на повышенную температуру окружающей среды, но и на воздействие ряда химических веществ, гиперосмотический шок или перепроизводство чужеродных или собственных белков, т. е. на те факторы, которые могут приводить к образованию некорректно собранных или поврежденных белков в клетке, имеющих тенденцию к образованию белковых агрегатов, угрожающих функционированию всех клеточных компартментов. Во избежание этой угрозы при реакции теплового шока происходит усиленная экспрессия белковых шаперонов (DnaK, DnaJ, GrpE, ClpB, GroEL, GroES, HtpG, IbpA, IbpB) и АТФ-зависимых протеаз (Lon, ClpAP, ClpXP, HslUV (= ClpYQ), FtsH), т. е. белков, участвующих в организации третичной структуры и в деградации некорректно собранных клеточных белков. Весь регулон теплового шока (более 30 белков) находится под контролем альтернативного сигма-фактора транскрипции σ^{32} , экспрессия которого у *E. coli* индуцируется, помимо повышенной температуры, также этанолом, некоторыми антибиотиками (пурамицин, налидиксовая кислота), вирусными инфекциями, метилирующими и алкилирующими агентами, CdCl₂, перекисью водорода, аминокислотным и углеродным го-

лоданием, а также ингибиторами ДНК-гиразы. Релаксация ДНК под действием ингибиторов гиразы или температуры ведет к активации транскрипции регулона теплового шока, в первую очередь гена σ^{32} *rpoH*. Таким образом, топология ДНК служит сенсором теплового стресса. Как и при большинстве стрессовых ответов, релаксация ДНК кратковременна, и обычный уровень спирализации возвращается в результате взаимодействия белка теплового шока DnaK с гиразой по принципу отрицательной обратной связи (Wick, Egli, 2004).

Отметим, что обнаруженное подавление или индукция транспозиций *Tn10* синусоидальным или пульсирующим сверхнизкочастотным магнитным сигналом соответственно (Del Re *et al.*, 2004) демонстрируют явную корреляцию с повышением или понижением концентраций шаперонов теплового шока DnaK и GroEL в ответ на действие этих стрессовых факторов (Del Re *et al.*, 2006).

Условия окружающей среды, нарушающие экстрацитоплазматическое пространство грамотрицательных бактерий, состоящее из внутренней мембраны, периплазма и внешней мембраны, вызывают реакцию стресса клеточной стенки: одним из таких условий является температура, еще более высокая, чем та, которая индуцирует регулон теплового шока (45–50 °C). У *E. coli* существуют, как минимум, две системы стресса клеточной стенки, одна зависит от альтернативного сигма-фактора транскрипции σ^E , другая контролируется мембранной сигнальной гистидинкиназой CpxA. Эти два стрессовых ответа различны как в отношении спектров стрессорных факторов, на которые они отвечают, так и генов, которые они активируют: так, σ^E -ответ запускается в первую очередь неправильно свернутыми белками внешней мембраны, а CpxA-ответ – белками периплазма и внутренней мембраны. В последнее время выясняется, что второй регулон участвует еще в ряде клеточных процессов помимо защиты клеточной стенки: образовании бактериальных биопленок, хемотаксисе, адаптации к стационарной фазе и восстановлении после нее. В общем, оба регулона в первую очередь увеличивают синтез экстрацитоплазматических протеаз, фолдаз и шаперонов для восстановления целостности клеточной стенки (Wick, Egli, 2004).

Холодовой шок, с которым нередко приходится сталкиваться бактериям, вызывает несколько проблем на клеточном уровне: в первую очередь при снижении температуры ниже 20 °C ингибируется трансляция на рибосомах, РНК и ДНК образуют стабильные вторичные структуры, кроме того, снижается текучесть мембраны. Именно этим негативным для клетки эффектом противодействует ответ холодного шока, в ходе которого индуцируется синтез белков CspA, CspB, CspG и CspI – ДНК- и РНК-связывающих белков, действующих как активаторы транскрипции или РНК-шапероны, препятствующие стабилизации вторичных структур РНК. Последнее ведет к антитерминации транскрипции прочих белков холодного шока и к устранению вторичных структур РНК, препятствующих трансляции. Синтез других белков холодного шока обеспечивает активность рибосом даже при низких температурах, а сохранение оптимальной текучести мембраны достигается за счет увеличения содержания в ней ненасыщенных жирных кислот. Кроме того, увеличивается синтез ДНК-гиразы GyrA и гистон-подобного белка H-NS, поскольку CspA взаимодействует с так называемой Y-последовательностью в их промоторах и активирует их транскрипцию. ДНК-гираза увеличивает отрицательную суперскрученность ДНК, и такая форма ДНК временно превалирует в охлажденных клетках, а H-NS является глобальным транскрипционным регулятором, важным, в частности, для эффективной адаптации к низким температурам (Wick, Egli, 2004). Интересно, что последние исследования указывают на исключительную роль H-NS в транспозиции бактериального транспозона *Tn10*, где этот белок участвует в молекулярной реакции активации транспозосомы *Tn10*.

Когда клетки *E. coli* входят в стационарную фазу или испытывают ограничение в питательных веществах, у них индуцируется реакция общего стрессового ответа, главным регулятором которой является сигма-фактор σ^S , кодируемая геном *rpoS*, под контролем которого находится около 200 генов. Кроме ограничений в питательных веществах (фосфоре, азоте, углероде, аминокислотах) и голодания, общий стрессовый ответ индуцируется замедлением скорости роста, высоким осмотическим давлением, низким рН, резкими скачками температуры и

окислительным стрессом (Wick, Egli, 2004). Индукция RpoS осуществляется на нескольких уровнях рядом *cis*- и *trans*-регуляторных элементов, а сам регулон общего стрессового ответа во многом перекрывается с другими стрессовыми регулонами, что делает клетки готовыми к одновременному воздействию многих стрессовых факторов (Foster, 2007). К настоящему времени показано участие RpoS в транспозициях и индуцированных транспозициями хромосомных перестройках при голодании у *E. coli* (Gomez-Gomez *et al.*, 1997; Lamrani *et al.*, 1999) и *P. putida* (Ilves *et al.*, 2001), хотя точная его роль в механизмах этих транспозиций пока не определена.

Клетки *E. coli*, испытывающие дефицит аминокислот или пониженный уровень питательных веществ, могут отвечать на этот стресс также посредством реакции строгого ответа, которая запускается нетипичными гуанозин-полифосфатными нуклеотидами pppGpp и ppGpp и выражается в быстром прекращении синтеза транспортных и рибосомных РНК, снижении уровня синтеза белка и активации биосинтеза аминокислот. (p)ppGpp вместе с его кофактором DskA регулирует транскрипцию, связываясь с комплексом РНК-полимеразы и направляя его к определенному спектру промоторов, в частности, к ряду генов, участвующих в биосинтезе аминокислот. Еще один промотор, который, хотя и не напрямую, но активируется (p)ppGpp, – это RpoS; кроме того, многие гены регулона общего стрессового ответа нуждаются в этом нуклеотиде для своей индукции, таким образом, регулоны жесткого и общего стрессового ответа коиндуцируются и перекрываются (Foster, 2007).

SOS-ответ у *E. coli* запускается в ответ на воздействие повреждающих ДНК веществ и инициируется участками одноцепочечной ДНК, возникающими либо непосредственно в результате повреждения, либо в процессе репарации, или же когда репликация останавливается на поврежденном участке. Одноцепочечная ДНК узнается и связывается бактериальной рекомбиназой RecA с образованием нуклеопротеиновых комплексов, стимулирующих автокаталитическое расщепление репрессора LexA и дерепрессию SOS-генов (у *E. coli* их около 30), многие из которых участвуют в репарации, рекомбинации и синтезе ДНК, устранив по-

вреждения, блокирующие репликацию. Впрочем, SOS-ответ индуцируется не только экзогенными повреждающими ДНК веществами. Повреждения ДНК генотоксическими метаболитами или нарушения, возникающие в результате ошибок репликации, рекомбинации и сегрегации хромосом, могут быть мощным SOS-стимулом, если не будут вовремя репарированы. Кроме того, SOS-ответ индуцируется, по крайней мере частично, физиологическими состояниями, вызывающими снижение уровня активного LexA, в частности, слабощелочной средой, и в стареющих колониях, или же когда плотность клеток достигает точки насыщения в богатой нутриентами среде, а также некоторыми, на первый взгляд, не связанными с LexA факторами, – некоторыми антибиотиками и высоким давлением (более 1 тыс. атмосфер) (Foster, 2007). Показано участие RecA белка в транспозиции транспозона устойчивости к ртути *mini-TnMER11*, выделенного из *Bacillus megaterium*, а также транспозона *Tn5* и инсерционной последовательности *IS10 E. coli* (Matsui *et al.*, 2005).

Таким образом, как мы видим, все регулоны бактериальных стрессовых ответов содержат молекулярные компоненты, потенциально способные модулировать транспозиционную активность мобильных элементов. Это в первую очередь так называемые гистон-подобные белки или ДНК-шапероны (ИФ, НУ, Fis и Н-NS), для которых уже показано их участие в разных этапах транспозиции различных МЭ.

Так, связывание ИФ с сайтом вблизи левого конца фага *Mu* стимулирует связывание репрессора, по-видимому, за счет сильного изгиба ДНК, и таким образом регулирует промотор, участвующий в экспрессии репрессора и транспозазы. Кроме того, ИФ необходим для сборки транспозосомы *in vitro*. Другой гистон-подобный белок НУ стимулирует реакцию транспозиции *in vitro*, связываясь с сайтом на левом конце фага *Mu* между двумя сайтами связывания транспозазы и также способствуя сборке транспозосомы. Два других ДНК-шаперона, Fis и Н-NS, участвуют в регуляции роста фага, по-видимому, управляя экспрессией фаговых белков.

ИФ участвует и в транспозиции *IS10*: связывание его с сайтом вблизи одного из концевых инвертированных повторов необходимо

для формирования синапса и транспозосомы, называемой «комплекс со спаренными концами транспозона». Также было показано, что участие IHF в транспозиции влияет на характер реакции и соотношение продуктов транспозиции. В случае *IS10* индуцированный IHF изгиб ДНК, по-видимому, способствует сборке транспозосомы, кроме того, предполагается, что эта конформация представляет собой «молекулярную пружину», которая обеспечивает энергией реакцию разрезания ДНК при транспозиции. Известно также, что IHF участвует в образовании нуклеопротеинового комплекса и в выборе сайта инсерции транспозона *Tn10*.

ДНК-шаперон Fis и фактор инициации репликации DnaA участвуют в транспозиции *IS50*, вероятно, на стадии сборки транспозосомы. На этой же стадии в транспозиции *IS1* необходимо участие H-NS, хотя, вероятно, он и не входит непосредственно в состав транспозосомы, и его участие в дальнейшей реакции интеграции *in vitro* не требуется.

На некоторые реакции транспозиции явное влияние оказывает степень суперспирализации ДНК. В частности, для транспозиций бактериофага *Mu* донорская молекула ДНК должна быть суперспирализована, и в этом случае витки суперспирализации удерживаются внутри сегмента ДНК, представляющего собой последовательность самого транспозона за счет слипания концов элемента, в то время как остальная часть донорской молекулы остается релаксированной за счет первоначального одноцепочечного разреза одного из концов транспозона. Кроме того, фаг *Mu* имеет сильный сайт связывания ДНК-гиразы в середине генома, который не участвует в интеграции фага, но необходим для его роста. Предполагается, что индуцированная гиразой суперспирализация в этом сайте способствует спариванию концов транспозона и сборке транспозосомы *in vivo*. Показана роль спирализации ДНК и для некоторых других мобильных элементов: так, частота транспозиций *Tn5*, но не *Tn3*, снижается в 40 раз в *topI* мутантах *E. coli*, по-видимому, в связи с необходимостью суперспирализации ДНК-мишени.

Роль системы протеаз/шаперонов в предпочтительной *cis*-активности ряда транспозаз известна, но эти компоненты систем стрессового ответа могут участвовать и в регуляции других

аспектов транспозиции. ClpX является молекулярным шапероном с АТФазной активностью, часто ассоциированным с ClpP протеазной субъединицей. ClpX важен для роста фага *Mu* и необходим для диссоциации комплекса транспозосомы и организации фаговой репликационной вилки в реакции переноса цепи. Однако об участии ClpX в транспозиции *Tn3* (семейства транспозонов) и *IS3* (семейства инсерционных последовательностей), важнейшим этапом которой является формирование репликационной вилки, на сегодняшний день ничего не известно (Nagy, Chandler, 2004).

Все вышеизложенное ясно указывает на участие различных молекулярных компонентов бактериальных стрессовых ответов в транспозиции многих бактериальных мобильных элементов. Однако данные о непосредственной регуляции транспозиции мобильного элемента белком клетки-хозяина, известным как важнейший регулятор экспрессии клеточных генов в ответ на изменение стимулов окружающей среды, были получены недавно (Wardle *et al.*, 2005). В этом исследовании представлены результаты экспериментов, свидетельствующие о непосредственном участии одного из гистон-подобных белков, H-NS, в транспозиции *Tn10* посредством не описанного ранее механизма: H-NS физически входит в состав транспозосомного комплекса и участвует в процессинге транспозосомы, в конечном итоге увеличивая частоту транспозиций мобильного элемента. Это особенно интересно в связи с тем, что основной ролью H-NS в клетке является адаптация ее к внешним стрессам путем глобального изменения экспрессии многих генов, участвующих в стрессовых ответах, а также с тем, что обычной его ролью для большинства генов является репрессия их транскрипции.

H-NS – это наиболее многочисленный из гистон-подобных белков *E. coli* (более 20 тыс. молекул на клетку), его концентрация в клетке по одним данным практически постоянна, по другим – слегка увеличивается в ранней стационарной фазе. Помимо организации нуклеоида, он прямо или опосредованно участвует в регуляции экспрессии примерно 5 % генов, включая гены, участвующие в стрессовом ответе и вирулентности (Hommais *et al.*, 2001). H-NS связывается преимущественно с АТ-бо-

гатыми районами, представляющими собой плоские искривленные участки ДНК: такие районы присутствуют во многих бактериальных промоторах, объясняя способность этого ДНК-шаперона регулировать экспрессию столь большого количества генов. По-видимому, H-NS выключает экспрессию генов посредством выпетливания промоторных областей в составе комплекса ДНК-H-NS-ДНК, и РНК-полимераза оказывается «пойманной» в этой петле (Dogman, 2004). Гены, экспрессия которых регулируется H-NS, участвуют в адаптации бактериальной клетки к высокой осмотической концентрации ионов в окружающей среде и к низким значениям pH, кислородному голоданию и высокой температуре, кодируют порины, флагеллярные белки и другие компоненты клеточной мембраны, изменение состава которой часто ассоциируется с адаптацией клетки к стрессовым условиям окружающей среды (Hommais *et al.*, 2001). Помимо связывания с участками ДНК, H-NS способен гомо- и гетероолигомеризоваться с другими ДНК-шаперонами *E. coli*, такими, как StrA и HU, что дает ему еще один способ влияния на регуляцию экспрессии генов. Он также способен связываться с РНК-связывающим белком Hfq, регулирующим трансляцию мРНК сигма-фактора стационарной фазы роста *groS*, хотя детали этого взаимодействия пока не ясны. При связывании еще с одним ДНК-связывающим белком, Hha (известным как противоосмотический белок и как термозависимый регулятор экспрессии гена гемолизин-токсина у *E. coli*), по-видимому, образуется активный гетеромерный комплекс, необходимый для регуляции экспрессии вышеуказанного гена в ответ на температурные и осмотические сигналы (Dogman, 2004).

Транспозон *Tn10*, в транспозиции которого важнейшую роль играет H-NS, несет устойчивость к тетрациклину и перемещается с использованием нерепликативного механизма вырезания-встраивания, когда транспозон сначала полностью отделяется от донорской молекулы ДНК, а потом встраивается в новое место посредством реакции переноса цепи. Все химические реакции транспозиции *Tn10* происходят в составе нуклеопротеинового комплекса, включающего донорскую молекулу ДНК, молекулы транспозазы и дополнительных факторов

транспозиции, представляющих собой белки клетки-хозяина – транспозосомы, в которой концы вырезанного транспозона пространственно совмещаются. Один из ДНК-шаперонов клетки-хозяина, IHF (integration host factor), играет ключевую роль в сборке транспозосомы, связываясь с концом транспозона в непосредственной близости от сайта связывания транспозазы и индуцируя изгиб ДНК транспозона. Этот изгиб, как полагается, позволяет транспозазе связаться с субтерминальным районом конца транспозона и стабилизирует транспозосому. Как два конца транспозона совмещаются, пока не вполне ясно, но с момента сборки транспозосома является стабильной и не требует присутствия IHF, напротив, его диссоциация запускает реакцию эксцизии концов транспозона из фланкирующей донорской ДНК. В этот момент конфигурация транспозосомы называется свернутой, и такая конфигурация в силу стерических ограничений способствует интрамолекулярной реакции встраивания концов транспозона в собственную ДНК, что ведет к инактивации транспозона и является тупиковым путем транспозиционной реакции. Свернутая конфигурация транспозосомы еще более стабилизируется повторным связыванием с ней IHF. Однако связывание H-NS с транспозосомой немедленно вызывает переход ее в развернутую конформацию, транспозиция из которой с большей вероятностью приводит к интермолекулярной реакции – встраиванию концов транспозона в сайт-мишень. Таким образом, показано, что непосредственное участие белка-регулятора стрессовых ответов *E. coli* H-NS в процессинге транспозосомы *Tn10* ведет к продуктивной транспозиции этого мобильного элемента и может, таким образом, приводить к обладанию этим транспозоном средством эффективного ответа на стрессовые условия окружающей среды (Wardle *et al.*, 2005).

Была продемонстрирована и роль H-NS в транспозициях *Tn10 in vivo*, определяющая их связь с действием факторов окружающей среды. В делеционной линии *E. coli hns* частота транспозиций существенно снижается, а в условиях голодания транспозиции *Tn10* демонстрируют полную зависимость от H-NS. Схожие результаты были получены и для транспозиций *IS903* и *Tn522*, хотя там роль H-NS должна быть несколько иной, так как эти элементы не имеют

сайтов связывания с фактором IHF, который, соответственно, не может участвовать в транспозициях этих элементов (Wardle *et al.*, 2005).

Еще одно недавнее исследование, явно устанавливающее зависимость транспозиций бактериальных мобильных элементов от пищевого стресса (Twiss *et al.*, 2005), было посвящено изучению эффектов более 20 тыс. инсерционных мутантов *E. coli* на транспозицию мобильного элемента *IS903*. Среди прочих мутаций, влияющих на транспозиции этого элемента, были идентифицированы две независимые инсерции в гене *aspA*, которые индуцировали более ранние, чем обычно, транспозиции мобильного элемента (на вторые сутки развития колонии вместо 3–4 суток). AspA конвертирует аспарат в фумарат в микроаэрофильных или анаэробных условиях, когда цикл трикарбоновых кислот разделяется на окислительную и восстановительную ветви. Добавление продукта реакции, катализируемой AspA, фумарата, полностью супрессировало «ранний» транспозиционный фенотип изучаемых мутаций, указывая на то, что триггером транспозиций был именно недостаток продукта клеточного метаболизма. Для подтверждения этой идеи был сконструирован делеционный мутант фумарат-редуктазы, который тоже вызывал ранние транспозиции. Эти результаты показывают, что транспозиции могут происходить раньше в ходе роста колонии, но в норме они репрессируются и регулируются фазой роста. Это первый случай, когда была установлена связь между ограничением в питании и транспозицией у бактерий. Предполагается, что неспособность клеток утилизировать фумарат или его дальнейшие метаболиты служит сенсором для транспозиционного аппарата, который и запускает транспозицию.

Взаимодействие эукариотических мобильных элементов с факторами абиотического, биотического и геномного стресса

Основной массив информации о связи активности эукариотических МЭ со стрессом представляют 4 группы данных: индуцированное стрессом поведение МЭ дрожжей, растений, и дрозиды, а также накопленная за последнее десятилетие информация о зависимости

активности *LINE*-элементов млекопитающих и человека от стрессовых факторов в культуре клеток и *in vivo*.

Интерпретация экспериментальных фактов, полученных из этих источников, вполне соответствует выводам предыдущей главы о жестком контроле перемещений МЭ в нормальных физиологических условиях факторами клеток-хозяев (Nagy, Chandler, 2004) и укладывается в рамки высказанной Б. Мак-Клинтон гипотезы об индукции перемещений МЭ как важнейшем источнике генетической вариативности клеток-хозяев в условиях стресса.

Подобно результатам исследований, проведенных с бактериальными МЭ, показаны активация или, напротив, подавление перемещений эукариотических МЭ широким спектром стрессовых факторов. При этом нередко структурно близкие МЭ дают противоположный ответ на действие одного и того же фактора, в связи с чем следует с осторожностью интерпретировать те данные, которые не привязываются к конкретным системам стрессового ответа клетки-хозяина до уточнения механизмов.

В отличие от бактерий, для которых детально изучены несколько систем стрессового ответа, характеризующихся различием в спектре факторов индукции ответа, система ответа теплового шока долгое время оставалась наиболее изученной из эукариотических стрессовых систем. Соответственно, эффект теплового шока на мобильность эукариотических МЭ является наиболее изученным среди прочих факторов (Cary *et al.*, 2000).

Наряду с данными о том, что стресс в форме теплового шока усиливает экспрессию генов ряда вирусов и транспозонов, известно и достаточное количество противоположных случаев ингибирования размножения вирусов температурным фактором (Menees, Sandmeyer, 1996). У дрозофилы влияние теплового шока (37 °C) на взрослую особь вызывает координированную индукцию экспрессии LTR-ретротранспозона *copia* и белка теплового шока *hsp-70*. В то же время родственный *copia* ретроэлемент 297 при тех же температурных условиях не активизируется (Strand, McDonald, 1985). Хотя оба МЭ содержат в своей регуляторной области (5'-LTR, длинный концевой повтор) консенсусные последовательности, характерные для

промоторов генов белков теплового шока дрозофилы, у 297 они находятся гораздо дальше в 5'-области от старта начала транскрипции, чем у *copia* или у любого *hsp*-гена. Впрочем, нельзя с определенностью утверждать, что именно это обстоятельство является причиной такого дифференциального ответа этих двух МЭ на тепловой шок.

Активация *copia* тепловым шоком приводит не просто к повышенной экспрессии РНК этого МЭ, но к продуктивной мобилизации с инсерцией его новой копии в новый сайт локализации, что показано методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (RFLP), гибридизующихся с зондом, содержащим фрагменты ДНК этого ретротранспозона (Junakovic, 1986). Перемещения еще одного *copia*-подобного МЭ, *Dm412*, индуцированные тепловым шоком на стадии куколки, можно наблюдать по изменению его хромосомных сайтов локализации (Ratner *et al.*, 1992).

Убедительным, хотя и косвенным, подтверждением участия температурного фактора в регуляции активности двух МЭ, принадлежащих к двум разным классам, является зависимость числа копий ретротранспозона 412 и соматической активности ДНК-транспозона *mariner* у *Drosophila simulans* от географической широты популяции (Caru *et al.*, 2000). Обнаружение географической клинальности в поведении мобильных элементов является результатом популяционных исследований, особенно интенсивно ведущихся в генетике дрозофилы.

Связь активности мобильных элементов *Drosophila melanogaster* с температурным фактором проявляется и в синдромах гибридного дисгенеза, вызываемых двумя наиболее известными транспозонами у этого вида – *P* и *hobo* – и наблюдаемых при температурах 29 °С и 25 °С соответственно (Caru *et al.*, 2000).

Несмотря на достаточную изученность влияния температуры на подвижность мобильных элементов дрозофилы, следует с осторожностью относиться к экстраполяции таких данных: результаты, полученные для конкретного МЭ и определенной популяции или линии, могут быть справедливы только для этого частного случая (Caru *et al.*, 2000). Продемонстрированная в некоторых исследованиях индукция перемещений ретротранспозонов дрозофилы

тепловым шоком (Ratner *et al.*, 1992; Vasilyeva *et al.*, 1999; Ратнер, Васильева, 2000; Васильева и др., 2003, 2007) не находит подтверждения результатами других подобных исследований (Arnault, Dufournel, 1994). Это, в частности, справедливо для ретротранспозона *copia*, который по-разному отвечает на тепловой шок в различных популяциях и линиях *Drosophila melanogaster* (Arnault, Dufournel, 1994).

Зависимость перемещений МЭ от температуры показана и для МЭ других классов эукариот. Присутствие в длинных инвертированных концевых повторах транспозона *DIRS-1* и внутри последовательности самого этого МЭ, найденного у *Dictyostelium*, промоторов, схожих с консенсусным промотором генов теплового шока дрозофилы, делает его экспрессию зависимой от температуры окружающей среды, а способность промоторов *DIRS-1* индуцировать синтез РНК в дрожжах указывает на консерватизм механизма теплового шока у эукариот (Zuker *et al.*, 1984).

Повышение температуры с 22 °С (физиологичная температура для дрожжей) до 30 °С втрое ингибирует транспозиционную активность ретротранспозона дрожжей *Ty3*. Дальнейший подъем температуры всего до 33 °С приводит к катастрофическому падению числа транспозиций (еще в 370 раз), а при 37 °С транспозиции *Ty3*, как и другого ретротранспозона дрожжей, *Ty1*, не наблюдаются вообще. Скачкообразное изменение транспозиционной активности *Ty3* в диапазоне 30–33 °С четко коррелирует с прекращением созревания вирусоподобных частиц *Ty3* и их основного компонента, зрелого белка капсида СА в том же температурном диапазоне, хотя уровень синтеза белка-предшественника, Pr38^{GAG3}, остается неизменным (Sadeghi *et al.*, 2001). Более того, вирусоподобные частицы *Ty3*, сформировавшиеся до момента наступления теплового шока, подвергаются ускоренной деградации при повышении температуры с 30 до 37 °С (Menees, Sandmeyer, 1996).

Есть данные об активации транскрипции *SINE*-элементов – *B1*- и *B2*-повторов в клетках мышей (Fornace, Mitchell, 1986), *C*-элемента в клетках кролика и *Alu*-повторов в клеточных линиях человека (Liu *et al.*, 1995) – тепловым шоком. Стресс теплового шока являлся специфическим активатором *Alu*-повторов, в то

время как уровень прочих клеточных РНК, транскрибируемых полимеразой PolIII, остается неизменным после индукции (Liu *et al.*, 1995). Активация транскрипции наблюдалась как для эндогенных *SINE*-элементов, так и для экзогенных (например, для *Alu*-повторов человека в клетках мышей), что указывает на консервативность этого стрессового ответа различных *SINE*-семейств видов млекопитающих (Rudin, Thompson, 2001).

Вещества-миметики теплового шока, вызывающие в клетке *hs*-подобную реакцию стрессового ответа (такие, как этанол или арсенит натрия), также вызывают кратковременную индукцию *SINE*-повторов, свидетельствуя о том, что активация *Alu* является компонентом общего клеточного стрессового ответа (Liu *et al.*, 1995). Аналогичные данные получены для ретротранспозона *copia* у дрозофилы, транскрипция генов которого индуцируется перекисью водорода, азидом натрия и другими веществами, известными как активаторы транскрипции генов теплового шока (Strand, McDonald, 1985).

Следуя этой логике, вполне естественным представляется то, что транспозиции дрожжевого ретротранспозона *Ty3* помимо теплового шока ингибируются также и присутствием в ростовой среде этанола при субоптимальной температуре 30 °C (Menees, Sandmeyer, 1996). Однако это служит еще одним напоминанием о том, что один и тот же клеточный стрессовый ответ может различным образом модулировать поведение разных МЭ, для объяснения которого необходимо знание конкретных клеточных факторов и механизмов взаимодействия генов клетки-хозяина с МЭ.

Помимо миметиков теплового шока, массовая экспрессия *Alu*- и *B2*-повторов наблюдается в результате подавления трансляции. Уже через 20 минут после применения ингибитора трансляции циклогексимида индуцируется повышенная экспрессия *Alu*-повторов, которая достигает максимума через 3 часа и в 20 раз превышает их нормальный уровень экспрессии. Пурамицин, нарушающий трансляцию на другой стадии, чем циклогексимид, также вызывает гиперэкспрессию *SINE*-элементов. Разумеется, эффект от подавления трансляции в клетке должен быть крайне сложным, но такая незамедлительная реакция ответа свидетель-

ствует о том, что экспрессия *Alu* тесно связана с трансляционным состоянием клетки (Liu *et al.*, 1995).

Еще одним стрессовым фактором, нередко ассоциированным с активацией МЭ, являются вирусные и прочие инфекции. Так, инъекция ретровирусных частиц RAV-2 (avian Rous Associated Virus type 2) в эмбрионы дрозофилы ведет к активации транспозиций *mdg-1* в соматических клетках, в то время как хромосомная локализация *copia* остается неизменной. По-видимому, индукция *mdg-1* связана именно с вирусной инфекцией как клеточным стрессом, поскольку экспрессия вирусных белков RAV-2 с помощью вирусной ДНК, интегрированной в геном дрозофилы посредством *P*-элемент-опосредованной трансформации, не приводит к такому эффекту. Впрочем, авторы отмечают, что результаты индукции МЭ дрозофилы вирусной инфекцией в целом остаются сложно интерпретируемыми. Неясно, в частности, с чем связана такая дифференциальная индукция одного элемента и отсутствие активации другого, как и тот факт, что вирусная инфекция другой этиологии (инокуляция сигма-вирусом) не приводит к заметной индукции МЭ (Jouan-Dufournel *et al.*, 1995). По-видимому, как и в случае с другими стрессовыми факторами, сложно объяснить такие разнонаправленные эффекты вирусных инфекций на мобильность разных МЭ без знания конкретных клеточных механизмов, определяющих поведение этих МЭ в ответ на стресс.

Заметная индукция транскрипции *SINE*-повторов происходит в результате заражения культур клеток вирусом герпеса (HSV) (Jang, Latchman, 1989), аденовирусом (Panning, Smiley, 1993; Wick *et al.*, 2003), вирусом иммунодефицита человека (HIV) (Jang *et al.*, 1992). Среди прочих эффектов на клетки вирусные инфекции приводят к ингибированию трансляции ряда клеточных РНК. Этот эффект во многом напоминает ингибирование трансляции генов, не относящихся к системе теплового шока, в ходе общего клеточного стрессового ответа, в связи с чем была высказана гипотеза об общей природе стрессовых факторов теплового шока, ингибирования трансляции и вирусной инфекции в индукции *Alu*-повторов (Liu *et al.*, 1995).

Авторы подчеркивают, что *SINE*-повторы демонстрируют классический ответ теплового

шока: индуцируемость миметиками теплового шока указывает на их вовлеченность в общий клеточный стрессовый ответ. Кроме того, индукция этих повторов наблюдается и под действием ингибиторов трансляции, хотя действие этих ингибиторов и не включает полностью ответ теплового шока, например, экспрессию HSP70 или убиквитиновой мРНК. Между клеточным стрессовым ответом и ингибированием трансляции существует тесная связь, так что каждый из них может рассматриваться либо как причина, либо как следствие другого. Клеточный стрессовый ответ запускается денатурированными белками, и ингибирование трансляции генов, не относящихся к системе теплового шока, является ранним событием в этом ответе. Трансляция в присутствии ингибиторов, в свою очередь, ведет к накоплению недосинтезированных и некорректно собранных белков, что должно запускать клеточный стрессовый ответ. Как показано, обработанные циклогексимидом или пуромицином клетки модифицируют белок HSP27 и становятся устойчивыми к тепловому шоку при 42 °С, однако весь остальной пул РНК теплового шока в них не синтезируется. В этом смысле можно считать, что ингибирование трансляции химическим путем или в результате вирусной инфекции запускает частичный клеточный стрессовый ответ, который, как и полный ответ, индуцирует экспрессию *SINE*-повторов (Liu *et al.*, 1995).

Однако результаты активации *Alu* аденовирусной инфекцией свидетельствуют о том, что, как минимум, в этом случае ингибирование трансляции не является ключевым моментом в активации этих МЭ. Она имеет место, даже если блокировать вирусную репликацию, что ведет к прекращению синтеза поздних вирусных белков и отмене подавления трансляции белков клетки-хозяина. Кроме того, против приведенной гипотезы свидетельствует существование мутантного штамма вируса, который ингибирует трансляцию сравнимо с вирусом дикого типа, но слабо индуцирует экспрессию *Alu* (Panning, Smiley, 1993).

Кроме ретротранспозонов дрозофилы и *SINE*-повторов млекопитающих показана индукция бактериальными и вирусными инфекциями МЭ растений (Wessler, 1996). Промотор первого из обнаруженных активных МЭ расте-

ний, *Tnt1*, родственного *copia* ретротранспозона табака, индуцируется рядом биотических и абиотических факторов, в число которых входят инфекции вирусного, бактериального и грибкового происхождения (Grandbastien, 1998), активирующих систему защиты растительной клетки, также называемую системой гиперчувствительного ответа (Wessler, 1996). В ряду других факторов вирусные атаки служат причиной индукции другого транспозона табака, *Tto1*. Для этих двух МЭ подтверждена несомненная связь их индукции с защитными ответами растительной клетки. Насколько такое утверждение справедливо для других МЭ растений – пока не известно. Тем не менее следует отметить, что транскрипты еще одного ретротранспозона табака, *Tto5*, обнаруживаются в тканях, подвергнутых вирусной инокуляции. Транспозиция *Bs1*-ретроэлемента кукурузы в ген алкогольдегидрогеназы тоже отмечена после вирусной инфекции, хотя непосредственная связь между мобилизацией МЭ и инфекцией не установлена (Grandbastien, 1998).

Культивирование эукариотических клеток *in vitro* также может являться стрессовым фактором, определяющим поведение МЭ, находящихся в геноме этих клеток. В исследовании, посвященном влиянию этого фактора на МЭ дрозофилы, продемонстрирована мобилизация 5 из 11 изученных семейств МЭ: *copia*, *1731*, *412*, *297* и *mdg-4*, проявляющаяся в виде амплификации числа копий МЭ, их транспозиции или эксцизии. В то же время 3 других семейства МЭ – *B104*, *G* и *blood* – оставались стабильными в клеточных линиях (Di Franco *et al.*, 1992). Любопытно, что «экологический» стресс в данном случае являлся триггерным механизмом, индуцирующим перемещение МЭ именно в период перевода первичных клеток в клеточную линию, тогда как в условиях многолетнего ведения полученной культуры клеток *in vitro* МЭ оставались стабильными. Таким образом, не внешние экологические условия, а именно резкая смена клеточного микроокружения, носящая характер стресса, служила индуктором перемещений МЭ, что вполне согласовывалось с гипотезой Б. Мак-Клинтон о возможной роли стрессовых факторов окружающей среды в мобилизации МЭ (McClintock, 1984). Впрочем, нельзя исключать возможность того, что какой-

либо из реагентов, используемых для перевода клеток в культуру *in vitro*, являлся химическим фактором индукции МЭ, как это имело место в работе с культурами растительных клеток (Wessler, 1996). В последнем случае индуктором ретротранспозона *Tnt1* в культуре клеток табака оказался грибковой экстракт, используемый для лизиса клеточной стенки при получении протопласта.

Следует отметить, что индукция МЭ дрозофилы в культуре клеток носила невоспроизводимый характер, когда одно и то же семейство МЭ индуцировалось или же оставалось стабильным в четырех клеточных линиях, полученных последовательно от одной и той же инбредной линии *Drosophila*. Более того, было обнаружено отсутствие корреляции между мобильностью одного и того же транспозона *in vivo* и в культуре клеток: стабильные в «естественных» условиях МЭ 412, 1731 и *copia* проявляли нестабильность в клеточных культурах (Di Franco *et al.*, 1992). Отсутствие воспроизводимых результатов не позволило определить экологические и клеточные факторы, вызывающие мобилизацию отдельных семейств МЭ в культуре клеток *Drosophila*, и предложить механизм, ответственный за активацию МЭ в условиях такого клеточного стресса.

В последние годы был получен ряд данных, свидетельствующих об активности *LINE*- и *SINE*-элементов в культурах клеток человека, которая существенным образом отличается от их поведения *in vivo*. Типичная для *LI*-элементов реакция ретротранспозиции по TPRT-механизму (Target-Primed Reverse Transcription) инициируется разрезами ДНК в сайте-мишени, вносимыми эндонуклеазой этого ретроэлемента (*LI* EN). Однако было показано, что обратная транскриптаза *LI* способна использовать разрезы ДНК, образующиеся без участия эндонуклеазы, в реакциях *in vitro* и в культурах клеток (Symer *et al.*, 2002), следующих неклассическому механизму (NCLI, Non-Classical *LI* Insertion). Первоначально *LI* EN-независимый механизм был предложен для объяснения больших делеций в культуре клеток посредством *LI*-элемента с нефункциональной мутантной эндонуклеазой (Morrish *et al.*, 2002).

Эффективность EN-независимого механизма ретротранспозиции *LI* во много раз ниже, чем TPRT-механизма (Feng *et al.*, 1996), в связи с

чем EN-зависимые инсерции *LI* абсолютно преобладают как в работах, касающихся изучения *LI*-ретротранспозиции в культурах клеток, так и среди опубликованных обзоров *LI*-инсерций в геноме человека. Из 399 *LI* инсерций, обнаруженных *in silico* в геноме человека, только 2 имеют характеристики, указывающие на EN-независимый характер их происхождения (Farkash *et al.*, 2006). За малым исключением (Mager *et al.*, 1985; Van de Water *et al.*, 1998; Audrezet *et al.*, 2004) все EN-независимые инсерции *LI* были обнаружены в линиях клеток, дефицитных по одному или нескольким компонентам клеточного механизма негомологичной репарации со шивкой концов (Non-Homologous End Joining, NHEJ) – одной из важнейших форм репарации двуцепочечных разрывов ДНК / DSB (Double Strand Breaks) (Sen *et al.*, 2007). До последнего времени оставалось неизвестным, происходят ли инсерции *LI* по неклассическому механизму *in vivo* и в культурах клеток с интактной системой репарации. В работах, использующих культуры клеток, дефицитных по репарации DSB, для изучения альтернативного пути инсерции *LI*, полагалось, что частота таких событий *in vivo* может оказаться ниже порога детекции.

Представляется, что этот вопрос нашел разрешение в недавней работе S. Sen с соавторами (Sen *et al.*, 2007), в которой был проведен первый полногеномный поиск EN-независимых *LI*-инсерций *in silico* у человека по критериям, установленным для неклассического пути *LI*-инсерций в экспериментах с культурами клеток, дефицитных по репарации: наличие 3'-концевой делеции, отсутствие дубликации сайта-мишени, отсутствие поли-А-конца и существенное отличие сайта-мишени от консенсуса сайта узнавания эндонуклеазой (TTTT/A *LI*-EN). По самой заниженной оценке, в геноме человека оказалось более 20 таких сайтов, причем их структурные характеристики были очень схожими с таковыми *LI*-EN независимых инсерций, обнаруженных *in vitro*, что указывает на единый механизм происхождения таких событий в культурах клеток человека и *in vivo*. Таким образом, неклассический путь инсерции *LI*-элемента не является альтернативным механизмом мобилизации этого МЭ в результате культивирования *in vitro*, но представляет собой дополнительный

путь ретротранспозиции *L1* в геноме человека, гораздо менее эффективный, чем путь TPRT, но сохраняющийся в эволюции, по-видимому, в связи с селективными преимуществами, определяющимися его ролью в сшивании спонтанных двуцепочечных разрывов ДНК.

Отмечается еще ряд отличий *L1*-инсерций в культуре клеток от событий, происходящих *in vivo*. В частности, показано, что 10 % ретротранспозиций *L1 in vitro* ассоциируются с существенными делециями. С учетом частоты транспозиций этого МЭ у человека *in vivo* (одно событие на 10–250 человек), общий уровень геномной нестабильности, связанной с такими делециями, был бы значительным. Это тем более неожиданное наблюдение в связи с тем, что ретротранспозиции как ретропозонов *L1*-типа, так и ретротранспозонов с длинными концевыми повторами типа *Tu*-элементов дрожжей, редко ассоциируются с делециями. Кроме того, ретротранспозиции *in vivo*, по-видимому, могут происходить в клетках зародышевых линий обоих полов и, вероятно, на ранних эмбриональных стадиях, в то время как в соматических клетках такие события подавлены в результате действия пока не выясненного механизма сайленсинга, возможно, связанного с репрессией промоторов, метилированием или РНК-интерференцией. Тем не менее в экспериментах с *L1*-транспозицией в культурах клеток человека такие события обнаруживаются с высокой частотой (Kazazian, Goodier, 2002).

В двух недавних исследованиях *L1*-транспозиций в культурах клеток (Gilbert *et al.*, 2002; Symer *et al.*, 2002) отмечаются также такие отличительные черты, как существенное увеличение длины дупликации сайта-мишени (более 30 п.н. в 40 % случаев) по сравнению с транспозициями *in vivo* (всегда менее 20 п.н.) и меньшее число полноразмерных копий *L1*-элемента *Ta*-подсемейства, использованного для изучения ретротранспозиций *in vitro* (10 % от общего числа *Ta*-инсерций, полученных в экспериментах на клеточных культурах) по сравнению с долей полноразмерных *Ta*-элементов в геноме человека (30–35 %). Кроме того, D. Symer с соавторами обнаружили, что 50 % *L1*-инсерций в их экспериментах нарушали последовательности предсказанных генов, чего не наблюдалось ни в других работах с клеточной линией HeLa, ни

среди *L1*-инсерций, обнаруженных в секвенированном геноме человека.

Указанные отличия в поведении *L1*-элементов *in vivo* и *in vitro* могут, по крайней мере частично, объясняться особенностями эксперимента с культурами клеток: в первом случае ретротранспозиция этого МЭ происходит между двумя хромосомами в клетках человека, находящихся в нормальном физиологическом окружении, тогда как во втором – перемещение МЭ происходит с эписомы в хромосомный сайт трансформированной и, следовательно, в какой-то мере анеуплоидной и генетически нестабильной клетки. В остальном инсерции *L1* в культуре клеток очень напоминают инсерции, идентифицированные в последовательности генома человека, в том числе в отношении дупликаций или небольших делеций в сайте-мишени, последовательности сайта узнавания эндонуклеазой, возникновения инверсий, 3'-концевых трансдукций и наличия поли-А-конца (Kazazian, Goodier, 2002).

Обсуждая поведение МЭ различных семейств *in vitro*, нельзя не рассмотреть активацию мобильных элементов растений при культивировании растительных клеток. Впервые, активация стрессовыми факторами является общей чертой всех растительных ретротранспозонов, которые представляют собой большинство МЭ растений. Особенное влияние на мобилизацию наиболее изученных ретроэлементов растений оказывают процедура выделения протопласта и ведение клеточных и тканевых культур *in vitro* (Grandbastien, 1998). Кроме того, мобилизация МЭ при культивировании клеток растений *in vitro*, как показано, лежит в основе важного феномена «сомаклональной активации»: под этим понимается повышенная частота появления мутантов среди растений, полученных регенерацией из клеточной культуры, наблюдаемая у многих видов (Wessler, 1996).

Впервые перемещения ДНК-транспозонов *Activator (Ac)* и *Suppressor-mutator (Spm)* в результате культивирования *in vitro* были выявлены у регенерированных из клеточной культуры растений кукурузы, проявлялись они в виде редких пятнистых зерен (Peschke *et al.*, 1987). Напомним, что этот же мозаичный фенотип зерен пятью десятилетиями раньше «подсказал»

Б. Мак-Клинток идею о существовании «прыгающих генов».

Первый обнаруженный активный МЭ растительных ретротранспозонов табака *Tnt1*, был идентифицирован по его inserции в ген нитратредуктазы (НР) в ходе культивирования протопластов табака (растительных клеток, лишенных клеточной стенки). Использование этой микробиологической техники было вызвано технической невозможностью скрининга миллионов растений в поиске редкой мутации, ведущей к хлорит-резистентному фенотипу, характерному для дефицитных по нитратредуктазе клеток. В результате этой работы М. Grandbastien с сотрудниками удалось получить 3 независимые клеточные линии с мутантным аллелем НР, появившимся в результате inserции в ген дикого типа *copia*-подобного транспозона, названного *Tnt1* («транспозон *Nicotiana tabacum*»). Поскольку ретротранспозоны перемещаются с помощью РНК-посредника, исследователи предположили, что один из аспектов культивирования клеток активировал транскрипцию *Tnt1*. Впоследствии было установлено, что для *Tnt1* характерна органоспецифическая экспрессия, ограничивающая активность МЭ тканями корня, но неожиданно в ходе получения культуры протопластов произошла его индукция. Причиной ее стал используемый для лизиса клеточной стенки грибковый экстракт, являющийся индуктором реакции защитного ответа растений (так называемого гиперчувствительного ответа), но одновременно активировавший промотор в 5'-длинном концевом повторе *Tnt1*, который подчинялся контролю сигналов, запускающих этот ответ (Wessler, 1996).

В дальнейшем при поиске ретротранспозонов типа *copia* на основе ПЦР с использованием пары праймеров к консервативным участкам гена обратной транскриптазы были открыты еще два ретротранспозона табака, *Tto1* и *Tto2*. Их транскрипты обнаруживались в культурах клеток, но не в клетках растения *in vivo*, более того, эта транскрипция вела к продуктивной мобилизации МЭ с увеличением числа их копий в культурах клеток и регенерированных из них растениях. Тот же протокол позволил идентифицировать и первые активные ретротранспозоны риса, *Tos10*, *Tos17* и *Tos19* (транспозон *Oryza sativa*), транскрипты которых, как и в предыдущих случаях,

обнаруживались только в культуре клеток, а число копий в геноме растений, полученных из клеточных культур, увеличивалось.

Особенный случай представляет собой пролонгированная транскрипция *Tos17*, происходящая постоянно в ходе ведения культуры клеток и ведущая к накоплению копий МЭ при длительном культивировании *in vitro*. Таким образом, *Tos17* представляет новую парадигму активации МЭ в культуре клеток, отличную от одномоментной индукции *Tnt1* или МЭ дрожжей в результате применения некоторой процедуры перевода клеток в культуру. Кроме того, перманентный характер активности *Tos17* указывает на механизм, лежащий в основе более высокой частоты проявления соматической вариации у растений, полученных регенерацией из долговременных культур клеток по сравнению с кратковременными (Wessler, 1996).

Кроме приведенных выше примеров продуктивной мобилизации МЭ растений в культуре клеток, следует отметить нередкую детекцию транскриптов ряда ретротранспозонов в отсутствие данных о недавних перемещениях соответствующих МЭ. Протопласт-специфические РНК-последовательности ретротранспозонов, относящихся к семейству *copia* – *Prt1c*, *Prt3c*, *Prt4c*, *Prt5c* и *Prt6c*, – обнаружены у картофеля. Относящийся к тому же семейству МЭ *Bare-1* элемент ячменя экспрессируется в каллусных культурах и в полученных из листьев протопластах. Транскрипция *SINE*-элемента *SI* в каллусных культурах сои дополняет эти данные, свидетельствуя о том, что все основные классы МЭ могут активироваться в клеточной культуре (Grandbastien, 1998).

Хотя активация в условиях *in vitro* является общей чертой растительных МЭ, не следует считать, что все подобные события представляют собой вариации единого механизма ответа растительных МЭ на содержание в культуре клеток. Например, транспозиция *Tnt1 A* в ген нитратредуктазы была обнаружена в растениях, регенерированных из культуры клеток, полученных из протопластов. Однако транскрипции *Tnt1 A* в суспензионных культурах клеток не наблюдалось, несмотря на слабое увеличение числа копий этого МЭ в таких культурах. В противоположность этому в культурах клеток табака обнаруживались как экспрессия, так и

транспозиции *Tto1*, *Tos10* и *Tos17*. Экспрессия *Tto1* еще более усиливалась изоляцией протопласта, в то время как для *Tos17* ничего подобного не наблюдалось. Дифференциальная экспрессия различных растительных МЭ разными условиями *in vitro* может объясняться тем, что регуляция как минимум двух каскадов генов – системы защиты и системы клеточного деления – может по-разному модулироваться в различных клеточных культурах, и растительные МЭ, находящиеся под контролем факторов одной из этих систем или под двойным контролем, будут по-разному вести себя в условиях этих *in vitro* систем (Grandbastien, 1998).

Еще одной формой клеточного стресса, для которого было показано участие в индукции многих МЭ, принадлежащих к разным семействам и даже классам, является геномный или генотоксический стресс, приводящий к появлению различных форм повреждений ДНК под действием внешних или клеточных факторов. Гипотеза о том, что транспозоны являются источником геномной нестабильности и в свою очередь генотоксический стресс может способствовать их мобилизации, была высказана Б. Мак-Клинток. Ее эксперименты были связаны с изучением вариаций фенотипа при самоопылении растений кукурузы, полученных скрещиванием двух родителей, каждый из которых нес в своем геноме хромосому с концевой транслокацией. Разрывы хромосом у каждого из родителей происходили в анафазе мейоза, и в дальнейшем каждая из затронутых хромосом проходила через серию хромосомных повреждений по типу разрыв–слияние–хромосомный мостик в нескольких анафазах митоза при развитии мужского и женского гаметофитов (McClintock, 1984). Стрессовый фактор, который вызывал перемещения неких мобильных генетических элементов и вследствие этого вариацию окраски зерен кукурузы – двуцепочечные разрывы ДНК, – в современной литературе несомненно был бы определен как генотоксический стресс. Впоследствии, используя целый ряд биотических и абиотических стрессовых факторов, включая УФ-свет и γ -излучение, Мак-Клинток и другие исследователи феномена генетической нестабильности у кукурузы неоднократно наблюдали появление зерен с вариацией окраски, связанное с перемещениями

ДНК-транспозонов (Wessler, 1996).

На сегодняшний день известен целый ряд факторов физической природы, химических веществ и естественных процессов, способных приводить к повреждениям ДНК, среди которых УФ и рентгеновское излучение, многие фармакологические препараты и ксенобиотики, клеточное деление и многие другие факторы. Повреждения ДНК различными агентами имеют различную структуру и репарируются разными клеточными механизмами. Перемещения МЭ, как и окислительный стресс, ведут к двойным разрывам ДНК, которые могут устраняться репарацией с соединением негомологичных концов (Non-homologous end joining, NHEJ). Повреждения оснований нуклеотидов с образованием димеров индуцируются УФ спектром излучения, в том числе и при длительном пребывании под прямым солнечным светом, и репарируются посредством эксцизии оснований. Остановка репликационной вилки в делящихся клетках приводит к повреждениям ДНК, являющимся субстратами для гомологичной рекомбинации. Двойные разрывы ДНК (DSB), чаще всего связываемые с перемещениями МЭ, являются острой формой генотоксического стресса, которая угрожает целостности генома, активирует пункты контроля клеточного цикла (*cell cycle checkpoints*) и нередко ведет к гибели клетки (Farkash, Prak, 2006).

Продемонстрированы активация целого ряда МЭ генотоксическими агентами и участие клеточных факторов репарации в их перемещениях. Так, воздействие γ -излучения на эмбрионы *Drosophila* ведет к повышенной частоте эксцизии *P*-элемента (Handler, Gomez, 1997). Синтетический транспозон *Sleeping Beauty*, способный к перемещениям в широком спектре клеток разных видов эукариот, активируется генотоксическим стрессом и, в свою очередь, повреждения ДНК в результате его перемещений устраняются системой репарации двойных разрывов (Izvak *et al.*, 2004). Различные формы повреждений ДНК, вызванные ионизирующим излучением, метансульфонатом и митомицином С, мобилизуют перемещения ретротранспозонов с длинными концевыми повторами семейства *Tu* у дрожжей и *gypsy* у *Drosophila* (Farkash, Prak, 2006).

У бактерий репарация повреждений ДНК происходит в результате активации системы

SOS-ответа на генотоксический стресс, однако у эукариот подобная система еще не описана. Некоторые свойства системы *I-R*-дисгенеза у *Drosophila melanogaster*, который наблюдается при скрещиваниях самцов индукторных линий с реактивными самками, указывает на возможность существования такой системы и ее участия в перемещениях *LINE*-подобного *I*-ретроэлемента дрозофилы, индуцируемых такими скрещиваниями и ответственных за дисгенез (Bregliano *et al.*, 1995). Среди таких свойств – существование значительного количества линий *Drosophila melanogaster* с промежуточной реактивностью, в которых ее уровень модулируется рядом факторов окружающей среды, и корреляция между уровнем реактивности и активностью рекомбинационной репарации.

В работах J.-C. Bregliano с соавторами было подтверждено, что уровень реактивности повышается в ответ на воздействие на *Drosophila melanogaster* ингибиторами синтеза ДНК (флуородезоксиуридин, метотрексат) и γ -излучением, которые являются широко используемыми агентами для индукции повреждений ДНК и индукторами SOS-ответа у *E. coli* (Bregliano *et al.*, 1995; Laurenson *et al.*, 1997). Воздействие этими двумя в остальном отличающимися друг от друга факторами по кинетике ответа и существованию порогового эффекта очень напоминает SOS-ответ у бактерий, свидетельствуя в пользу гипотезы о существовании у эукариот похожего на бактериальную SOS-систему ответа. Есть указания на то, что стрессовый ответ на повреждения ДНК у *Drosophila* может быть частью более общего стрессового ответа эукариотической клетки: в частности, на это указывает модуляция уровня реактивности тепловым шоком (Bregliano *et al.*, 1995). Если эти данные подтвердятся, это еще более усилит аналогию с некоторыми компонентами SOS-ответа бактерий, в частности, *dnaK*, *FOES* и *groEL* (Walker, 1985).

У эукариот наличие такой индуцируемой системы общего стрессового ответа пока не показано, но предложено существование таких механизмов у растений (Burt B., Burt F., 1988), и есть указания на наличие ее у клеток эукариот в культуре *in vitro* (Bregliano *et al.*, 1995). Bregliano и соавторы предложили называть ее VAMOS (Variation Modulation System) – система

модуляции вариабельности (Laurenson *et al.*, 1997; Capu *et al.*, 2000).

Интерес последнего десятилетия к потенциальной генотоксичности для человека *LINE*- и *SINE*-подобных элементов, представляющих собой самые многочисленные из повторенных последовательностей в клетках млекопитающих, привел к накоплению массива данных об активации этих МЭ двуцепочечными разрывами ДНК и повреждающими ДНК факторами. Клиническую важность оценки генотоксического влияния ретропозонов подчеркивают обнаруженные случаи возникновения рака грудной железы в результате инсерции *de novo* *L1*-элемента в ген клеточного протоонкогена *tus* и рака толстой кишки вследствие внедрения *L1* в ген опухолевого супрессора *APC* (Collier, Largaespada, 2007), гемофилии и мышечной дистрофии, также вызванных *L1*-инсерциями (Symer *et al.*, 2002), а также опосредованных *Alu*-повторами делеций в локусе рецептора липопротеинов низкой плотности (*LDL*) при наследственной гиперхолестеринемии и хромосомных перестановках в локусе *MLL* в случае острой миелоидной лейкемии (Hedges, Deininger, 2007).

Уровень экспрессии и ретротранспозиций *SINE*-элементов (*B1*- и *B2*-повторов в клетках мышей и *Alu*-повторов в человеческих клеточных линиях) повышается под действием ингибиторов топоизомеразы, этопозида, вызывающего двойные разрывы ДНК, и циспластина, ведущего к сшивкам между цепями ДНК, а также ультрафиолетовым и γ -излучением. В то же время атипичный ингибитор топоизомеразы мербарон, действие которого связывают с ингибированием разрезов ДНК, не вызывает заметной активации *SINE*-повторов (Rudin, Thompson, 2001). Таким образом, мобилизация этих элементов происходит в результате воздействия широкого спектра повреждающих ДНК факторов, относящихся к разным классам воздействия: вызывающих сшивки нуклеотидов внутри одной цепи и между цепями ДНК, образование ДНК-аддуктов, а также одно- и двуцепочечные разрывы. Продемонстрирована мобилизация *L1*-элемента в линиях клеток человека γ -излучением и известными канцерогенами – ртутью, кадмием и никелем (но не другими тяжелыми металлами) (Farkash *et al.*,

2006). Известны факты индукции γ -излучением и других ретротранспозонов, как родственных *L-1* (*I*-элемент у *Drosophila*), так и ретровирусоподобных элементов с длинными концевыми повторами (*Ty1* у дрожжей и *IAP* в миелоидных клетках мышей) (Farkash, Prak, 2006), что подтверждает активирующий эффект генотоксических вмешательств для широкого спектра МЭ. Ретротранспозиции *L1* стимулируются и в экспериментальной модели повреждений теломер хромосом, вызванных дефицитом активности ДНК-зависимой протеинкиназы (Morrish *et al.*, 2007). В последнем случае имеет место даже более тонкая регуляция активности МЭ в клетках эукариот, нежели простая их мобилизация стрессовыми факторами. При возникновении условий, в которых теломеры хромосом подвержены регулярным повреждениям, 30 % интеграций *LINE-1*-элементов приходится на поврежденные участки (Ebina, Levin, 2007). Это означает, что регулируя активность МЭ посредством своих систем стрессового ответа, эукариотические клетки способны не просто вызывать «взрыв» мутабельности инсерциями МЭ, но могут «направлять» их на смягчение последствий стресса.

Как уже отмечалось, понять закономерности поведения конкретных МЭ под действием того или иного стрессового фактора невозможно без знания молекулярных механизмов, лежащих в основе такой регуляции. Одним из механизмов индукции как ДНК-транспозонов, так и ретроэлементов, является повышенный уровень транскрипции МЭ, ведущий к повышенным концентрациям функциональных белков МЭ, необходимых для транспозиции, а в случае ретротранспозонов – и геномной РНК. Это может обеспечиваться, в частности, наличием стресс-индуцируемого промотора, подчиняющегося регуляции клеточными факторами, участвующими в индукции стрессового ответа клеток. Так, наличие *hsp*-подобного промотора у мобильных элементов *DIRS-1* у *Dictiostellum* (Zuker *et al.*, 1984), *copia* и *mariner* у *Drosophila* (Strand, McDonald, 1985; Caru *et al.*, 2000) делает активацию этих МЭ зависимой от ряда стрессовых факторов, индуцирующих систему белков теплового шока. Можно предполагать, что запускаемый стрессом протеолитический каскад ведет к высвобождению транскрипционных факторов, необходимых

для индукции генов антистрессовой защиты и одновременно активирующих те МЭ, промоторы которых содержат сайты связывания этих транскрипционных факторов (Caru *et al.*, 2000).

Надо отметить, что упоминание о корреляции индукции генов системы защиты и некоторых МЭ встречается в литературе о транспозонах неоднократно. Так, характер индукции нескольких хорошо изученных ретротранспозонов растений различными стрессовыми факторами подразумевает сложную дифференциальную регуляцию их активности, связанную с активностью двух генных каскадов – системы генов стрессового ответа, активирующей после патогенной атаки, и системы генов клеточного деления и роста. Это особенно хорошо демонстрирует мобилизация ретротранспозонов табака при ведении культур протопластов, каллусных и клеточных культур, ведь именно гены защиты и клеточного деления активируются в этих культурах, заменяя собою предшествовавшую метаболическую программу соматических клеток *in vivo* (Grandbastien, 1998). Протопласт-специфическая экспрессия *Tnt1A*, как показано, в основном вызывается обработкой клеток грибовым экстрактом. Кроме того, промотор *Tnt1A* активируется рядом других веществ бактериального происхождения, салициловой кислотой, ранением или вирусной, бактериальной или грибковой инфекцией. Схожие индукторы (вирусная инфекция, ранение, салициловая кислота) характерны и для другого транспозона табака, *Tto1*, указывая на связь экспрессии обоих МЭ с активацией генов системы защиты растительной клетки. Однако экспрессия *Tto1*, но не *Tnt1A*, в суспензионных культурах демонстрирует разницу в регуляции: *Tto1* может находиться под двойным контролем генов защиты и клеточного деления, как это показано для нескольких растительных генов с протопласт-специфической экспрессией. Такие тонкие отличия в профилях стресс-индуцированной активации связывают с наличием в их промоторной области (5'-длинный концевой повтор) нескольких *cis*-регуляторных последовательностей, способных откликаться на различные стимулы (Grandbastien, 1998).

В случае *Tnt1* есть 3 подсемейства этого МЭ, *Tnt1A*, *Tnt1B* и *Tnt1C*, которые активируются различными стрессовыми факторами, ассоци-

пруемыми с защитными реакциями растений. Различия в их транскрипционной регуляции обуславливаются наличием в регионе U3 их 5'-концевого повтора различных *cis*-регуляторных элементов. Пара таких элементов у *Tnt1A* имеет последовательность, схожую с промоторами генов защитного ответа растений, причем один из них специфически связывается *in vivo* с белками, наработка которых индуцируется при реакции защитного ответа (Casacuberta, Santiago, 2003).

Экспрессия другого ретротранспозона табака, *Tto1*, при реакции защитного ответа определяется последовательностью длиной 13 п.н., специфически связывающейся с различными транскрипционными факторами семейства MYB. Один из таких факторов, LBM1, идентичен ранее описанному фактору MYB-1, который индуцируется вирусной инфекцией. Повышенная экспрессия другого, NtMYB2, одновременно активирует транскрипцию *Tto1* и гена защитного ответа PAL у табака. Кроме того, обнаружена существенная гомология между промоторными последовательностями *Tto1* и геном защитного ответа *AoPRI* у спаржи (Casacuberta, Santiago, 2003).

Все вышеизложенное свидетельствует в пользу того, что совместная индукция защитного ответа и ретротранспозонов растений обуславливается гомологичными промоторами, но не дает ответа на вопрос об эволюционной природе этой гомологии. Ретротранспозоны растений могли получить стресс-индуцируемые промоторы от клеточных генов защитного ответа, в результате став подчиненными регуляции стрессовыми факторами, или, наоборот, могли передать свои индуцируемые промоторы некоторым генам защитного ответа. Второй вариант – распространение наиболее успешных индуцируемых промоторов по геному – вполне напрашивается для объяснения появления групп генов с координированной регуляцией (в частности, защитных генов). Однако эволюционный анализ промоторов *Tnt1* не свидетельствует о независимом от всей остальной ретротранспозонной последовательности происхождении промоторной области. Таким образом, сходство последовательностей ретротранспозонных промоторов с промоторами защитных генов и существование единой системы их регуляции транскрипционными факторами, видимо,

следует считать результатом конвергентной эволюции (Casacuberta, Santiago, 2003).

Механизмы повышенной экспрессии *L1* РНК в ответ на генотоксический стресс пока не вполне ясны и находятся в стадии активного изучения. Потенциально такой ответ может являться следствием наличия в 5'-нетранслируемой области этого ретропозона внутреннего промотора с потенциальными сайтами связывания транскрипционных факторов семейства SRY, а также YY1 и RUNX3. Факторы семейства SRY, SOX11 и SOX2, как установлено, могут связываться с внутренним промотором *L1*, соответственно активируя ретротранспозицию, активность промотора и число РНК-копий *L1*, или наоборот подавляя активность промотора в разных типах клеток. Оба фактора имеют в своем составе домены группы высокой мобильности, способные связываться с аддуктами ДНК, индуцируемыми цисплатином. Если эти факторы по-разному рекрутируются в области повреждений ДНК, это потенциально может менять транскрипционный профиль промотора *L1* (Farkash, Prak, 2006).

Другой транскрипционный фактор *L1* промотора, YinYang1 (YY1), способствующий синтезу полноразмерной *L1* мРНК, как было показано, подвергается поли-ADP-рибозилированию в ответ на обработку метил-N-нитро-N-нитрозогуанидином в клетках HeLa, что снижает его аффинность к консенсусным последовательностям-мишеням. Помимо этого, YY1 является негативным регулятором активации p53 в условиях генотоксического стресса в первичных и раковых клеточных линиях. Поскольку *L1*-элемент сам является генотоксическим агентом, способным индуцировать апоптоз по p53-зависимому механизму, то в условиях генотоксического стресса YY1 потенциально может оказывать разнонаправленный эффект на его ретротранспозицию, одновременно ингибируя синтез полноразмерных транскриптов этого МЭ, но повышая выживаемость клеток, в которых идут активные инсерции *L1*, за счет своего действия на p53 (Farkash, Prak, 2006).

Одним из важнейших механизмов, способных индуцировать перемещения МЭ в ответ на стресс, являются клеточные механизмы репарации, ответственные за восстановление структуры ДНК при двойных разрывах. Боль-

шинство МЭ производят двойные разрывы при перемещениях и поэтому зависят от клеточных систем репарации, застраивающих эти разрывы, в первую очередь от системы негомологичной репарации с соединением концов ДНК.

Белок системы репарации Ku70 и геликаза Bloom необходимы для репарации сайтов эксцизии P-элемента у дрозофилы, а Ku70, помимо этого, является необходимым фактором репарации сайтов эксцизии *Sleeping Beauty* в клетках млекопитающих. Дефицит факторов NHEJ-репарации Ku80, DNA-PKcs и XRCC4 и факторов гомологичной рекомбинации Rad51C и XRCC3 снижает подвижность *Sleeping Beauty*. Подобным образом дефицит Ku70 и Ku80 приводит к драматическому снижению уровня ретротранспозиций *Ty1* у дрожжей. Есть также свидетельства того, что система NHEJ-рекомбинации участвует в регуляции *L1*-элемента, в котором найдены сайты связывания все тех же Ku70 и Ku80. Поскольку известно, что транскрипция этих факторов усиливается под действием γ -излучения и ряда других стрессовых факторов, то очевидно, что такие стрессовые воздействия будут индуцировать перемещения перечисленных выше МЭ (Farkash, Prak, 2006). С другой стороны, нельзя отрицать возможность того, что при массовых повреждениях ДНК множество молекул этих белков репарации будет рекрутироваться к местам разрывов, и дефицит этих транспозиционных кофакторов будет негативно сказываться на транспозиционной активности МЭ.

Не следует забывать также и о механизме эпигенетического контроля МЭ, который обеспечивает стабильность многих МЭ у ряда видов. Например, CpG-метилирование является основным механизмом транскрипционного сайленсинга *L1*-элемента, и деметилирование 5'-нетранслируемой области этого МЭ будет приводить к его активной транскрипции и ретротранспозиции. Метилирование 5'-UTR *L1*-элемента, возможно, опосредуется метил-CpG-связывающим белком 2 (MeCP2), который, как показано, ингибирует ретротранспозиции *L1* в культуре клеток. Поскольку показано, что окислительный стресс снижает аффинность MeCP2 к поврежденной метилированной ДНК, то появление повреждений ДНК, вызванных таким стрессом, вблизи сайта-локализации *L1*

будет приводить к его дерепрессии. Повреждения ДНК могут иметь и глобальный эффект на метилирование геномных *L1*-элементов. Так, показано, что γ -излучение ведет к гипометилированию в клеточных линиях, в печени и селезенке мышей. Механизм этого глобального снижения уровня метилирования, вероятно, связан с изменениями фолатного пула. Обнаружено, что γ -излучение снижает активность фермента метилентетрагидрофолатредуктазы в печени мышей, что и является причиной гипометилирования. Другой возможностью является ингибирующее влияние γ -излучения на экспрессию ДНК-метилтрансфераз DNMT1, DNMT3a и DNMT3b. Исследования показывают, что деметилирование ДНК у мышей с нокаутом *Dnmt1* ведет к активации транскрипции ретровирусоподобного транспозона IAP в эмбрионах, а нокаут *Dnmt3L* ведет к деметилированию всех геномных сайтов *L1* и драматическому увеличению уровня его экспрессии в клетках зародышевого пути (Farkash, Prak, 2006).

Еще одним примером стрессовой активации МЭ, задействующей механизм релаксации эпигенетического сайленсинга, является индукция перемещений растительных ретротранспозонов под действием определенных стрессорных факторов. В частности, показано, что холодовой шок ведет к сильнейшему гипометилированию ДНК растительных клеток и активации ретротранспозонных последовательностей у кукурузы (Casacuberta, Santiago, 2003). Подобный механизм деметилирования холодовым шоком вызывает реактивацию транспозона *Tam3* в локусе *nivea* у *Antirrhinum majus*. Этот транспозон, находящийся в промоторной области локуса, кодирующего фермент, ответственный за окраску цветков, при высоких температурах сильно метилирован, что ведет к проявлению светлой (белый/слоновая кость) окраски цветка. При низких температурах гипометилирование ведет к высокой частоте эксцизий *Tam3* из этого локуса, и появляются цветки с красной пигментацией (Lukens, Zhan, 2007).

Открытие и описание в последние несколько лет механизма регуляции активности ретротранспозона дрожжей *Ty5*, способного направлять инсерции этого МЭ из гетерохроматина в области активно работающего эухроматина и вызывать мутации, которые могут иметь при-

способительный характер в условиях дефицита питательных веществ (Dai *et al.*, 2007), лежат в том же русле исследований, что и вышеупомянутая работа Т. Morrish с соавторами по мобилизации «направленных» инсерций *LINE-1*-элемента. Это исследование особенно привлекает внимание тем, что помимо установления самого факта индукции адаптивных мутаций *Ty5* ретротранспозоном в ответ на экологический фактор – дефицит аминокислот, азота или углерода в питательной среде – детально описывает молекулярный клеточный механизм, лежащий в основе этого явления. Показано, что в С-концевой области интегразы этого МЭ находится домен, ответственный за выбор сайта интеграции (TD, Targeting Domain). Фосфорилирование всего одной аминокислоты S1095 в этом сайте, которое имеет место при росте клеток дрожжей в нормальных условиях, увеличивает связываемость TD интегразы с белковым фактором гетерохроматина Sir4p и направляет интеграционный комплекс в гетерохроматин. Снижение уровня фосфорилирования TD в неблагоприятных условиях (дефицит нутриентов в питательной среде) немедленно перенаправляет инсерции *Ty5* в активно работающие области эухроматиновых генов (Dai *et al.*, 2007). Эта работа была названа самым интересным исследованием среди литературы, посвященной транспозонам, за последние десятилетия.

Настоящая работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 06-04-48116 и Программы фундаментальных исследований РАН № 11 «Биоразнообразие и динамика генофондов» (подпрограмма 2 «Динамика генофондов»).

Литература

- Васильева Л.А., Ратнер В.А., Антоненко О.В. и др. Индукция транспозиций МГЭ 412 различными дозами паров этанола в изогенной линии *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2003. Т. 39. № 5. С. 717–720.
- Васильева Л.А., Выхристюк О.В., Антоненко О.В., Захаров И.К. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов (МГЭ) в геноме различными стрессовыми факторами // Информ. вестник ВОГиС. 2007. Т. 11. № 3/4. С. 662–671.
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // Сорос. образоват. журнал. 2000. Т. 6. № 6. С. 14–20.
- Arnault C., Dufournel I. Genome and stresses: reactions against aggressions, behavior of transposable elements // *Genetica*. 1994. V. 93. P. 149–160.
- Audrezet M.P., Chen J.M., Ragueneas O. *et al.* Genomic rearrangements in the CFTR gene: extensive allelic heterogeneity and diverse mutational mechanisms // *Hum. Mutat.* 2004. V. 23. P. 343–357.
- Bregliano J.-C., Laurenson A., Degroote F. Evidence for an Inducible repair-recombination system in the female germ line of *Drosophila melanogaster*. I. Induction by inhibitors of nucleotide synthesis and by gamma rays // *Genetics*. 1995 (October). V. 141. P. 571–578
- Brocklehurst K., Morby A. Metal-ion tolerance in *Escherichia coli*: analysis of transcriptional profiles by gene-array technology // *Microbiology*. 2000. V. 146. P. 2277–2282.
- Burr B., Burr F.A. Activation of silent transposable elements // *Plant Transposable Elements*. Plenum Press, N.Y.: 1988. P. 311–323.
- Cameron J., Loh Y., Davis R. Evidence for transposition of dispersed repetitive DNA families in yeast // *Cell*. 1979. V. 16. P. 739–751.
- Casacuberta J., Santiago N. Plant LTR-retrotransposons and MITEs: control of transposition and impact on the evolution of plant genes and genomes // *Gene*. 2003. V. 311. P. 1–11.
- Capy P., Gaspary G., Biemont C., Bazin C. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites? // *Heredity*. 2000. V. 85. P. 101–106.
- Chow K., Tung W. Magnetic field exposure stimulates transposition through the induction of DnaK/J synthesis // *Biochem Biophys. Res. Commun.* 2000. V. 270. № 3. P. 745–748.
- Collier L., Largaespada D. Transposable elements and the dynamic somatic genome // *Genome Biol.* 2007. V. 8. Suppl 1. P. S1–S5.
- Dai J., Xie W., Brady T.L. *et al.* Phosphorylation regulates integration of the yeast *Ty5* retrotransposon into heterochromatin // *Mol. Cell*. 2007. V. 27. P. 289–299.
- Datta A., Randolph B., Rosner J. Detection of chemicals that stimulate *Tn9* transposition in *Escherichia coli* K12 // *Mol. General Genet.* 1983. V. 189. P. 45–50.
- Del Re B., Bersani F., Agostini C. *et al.* Various effects on transposition activity and survival of *Escherichia coli* cells due to different ELF-MF signals // *Radiation and Environ. Biophys.* 2004. V. 43. № 4. P. 265–270.
- Del Re B., Bersani F., Agostini C. *et al.* Synthesis of DnaK and GroEL in *Escherichia coli* cells exposed to different magnetic field signals // *Bioelectrochemistry*. 2006. V. 69. P. 99–103.

- Di Franco C. J., Pisano C., Fourcade-Peronnet F. *et al.* Evidence for *de novo* rearrangements of *Drosophila* transposable elements induced by the passage to the cell culture // *Genetica*. 1992. V. 87. P. 65–73.
- Dorman C. H-NS: a universal regulator for a dynamic genome // *Nature Rev. Microbiol.* 2004. V. 2. P. 391–400.
- Ebina H., Levin H. Stress management: How cells take control of their transposons // *Mol. Cell*. 2007. V. 27. P. 180–181.
- Eichenbaum Z., Livneh Z. UV light induces *IS10* transposition in *Escherichia coli* // *Genetics*. 1998. V. 149. P. 1173–1181.
- Farkash E., Prak E. DNA damage and *L1* retrotransposition // *J. of Biomedicine and Biotechnology*. 2006. V. 26. P. 1–8.
- Farkash E., Kao G., Horman S., Prak E. Gamma radiation increases endonuclease-dependent *L1* retrotransposition in a cultured cell assay // *Nucl. Acids Res.* 2006. V. 34. P. 1196–1204.
- Feng Q., Moran J.V., Kazazian H.H.Jr., Boeke J.D. Human *L1* retrotransposon encodes a conserved endonuclease required for retrotransposition // *Cell*. 1996. V. 87. P. 905–916.
- Fontdevila A. Hybrid genome evolution by transposition // *Cytogenetic and Genome Res.* 2005. V. 110. P. 49–55.
- Fornace A.J., Jr., Mitchell J.B. Induction of B2 RNA polymerase III transcription by heat shock: enrichment for heat shock induced sequences in rodent cells by hybridization subtraction // *Nucl. Acids Res.* 1986. V. 14. P. 5793–5811.
- Foster P.L. Stress-induced mutagenesis in Bacteria // *Critical Reviews in Biochemistry and Mol. Biol.* 2007. V. 42. P. 373–397.
- Gilbert N., Lutz-Prigge S., Moran J.V. Genomic deletions created upon *LINE-1* retrotransposition // *Cell*. 2002. V. 110. P. 315–325.
- Grandbastien M.A. Activation of plant retrotransposons under stress conditions // *Trends Plant Sci.* 1998. V. 3. P. 181–187.
- Gomez-Gomez J., Blazquez J., Baquero F., Martinez J. H-NS and RpoS regulate emergence of Lac Ara1 mutants of *Escherichia coli* MCS2 // *J. of Bacteriology*. 1997. V. 179. P. 4620–4622.
- Handler A.M., Gomez S.P. *P* element excision in *Drosophila* is stimulated by gamma-irradiation in transient embryonic assays // *Genetical Res.* 1997. V. 70. № 1. P. 75–78.
- Haren L., Betermier M., Polard P., Chandler M. *IS911*-mediated intramolecular transposition is naturally temperature-sensitive // *Mol. Microbiol.* 1997. V. 25. № 3. P. 531–540.
- Hedges D., Deininger P. Inviting instability: Transposable elements, double-strand breaks, and the maintenance of genome integrity // *Mutation Res.* 2007. V. 616. P. 46–59.
- Hommais F., Krin E., Laurent-Winter C. *et al.* Large-scale monitoring of pleiotropic regulation of gene expression by the prokaryotic nucleoid-associated protein, H-NS // *Mol. Microbiol.* 2001. V. 40. № 1. P. 20–36.
- Ilves H., Horak R., Kavisaar M. Involvement of sS in starvation-induced transposition of *Pseudomonas putida* transposon *Tn4652* // *J. of Bacteriol.* 2001. V. 183. P. 5445–5448.
- Imasheva A., Loeschke V., Zhivotovsky L., Lazebny O. Stress temperatures and quantitative variation in *Drosophila melanogaster* // *Heredity*. 1998. V. 81. P. 246–253.
- Izsvák Z., Stuwe E.E., Fiedler D. *et al.* Healing the wounds inflicted by sleeping beauty transposition by double-strand break repair in mammalian somatic cells // *Mol. Cell*. 2004. V. 13. № 2. P. 279–290.
- Jang K., Collins M., Latchman D. The human immunodeficiency virus tat protein increases the transcription of human *Alu* repeated sequences by increasing the activity of the cellular transcription factor TFIIC // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 1992. V. 5. № 11. P. 1142–1147.
- Jang K., Latchman D. HSV infection induces increased transcription of *Alu* repeated sequences by RNA polymerase III // *FEBS Letters*. 1989. V. 258. P. 255–258.
- Jouan-Dufournel I., Cosset F.-L., Contamine D. *et al.* Transposable elements behavior following viral genomic stress in *Drosophila melanogaster* inbred line // *J. Mol. Evol.* 1995. V. 43. P. 19–27.
- Junakovic N., Di Franco C., Barsanti P., Palumbo G. Transposition of *copia*-like nomadic elements can be induced by heat shock // *J. Mol. Evol.* 1986. V. 24. P. 89–93.
- Kazazian H., Jr., Goodier J. *LINE* drive: Retrotransposition and genome instability // *Cell*. 2002. V. 110. P. 277–280.
- Kidwell M., Lisch D. Transposable elements as sources of variation in animals and plants // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 7704–7711.
- Kretschmer P., Cohen S. Effect of temperature on translocation frequency of the *Tn3* element // *J. of Bacteriology*. 1979. V. 139. P. 515–519.
- Lamrani S., Ranquet C., Gama M.-J. *et al.* Starvation-induced *Mu*-mediated coding sequence fusion: a role for ClpXP, Lon, RpoS and Crp // *Mol. Microbiol.* 1999. V. 32. № 2. P. 327–343.
- Laurenson A., Gay F., Ducau J., Bregliano J.-C. Evidence for an inducible repair-recombination system in the female germ line of *Drosophila melanogaster*: Correlation between reactivity levels, crossover

- frequency and repair efficiency // *Genetics*. 1997. V. 146. P. 1333–1344.
- Liu W.M., Chu W.M., Choudary P.V., Schmid C.W. Cell stress and translational inhibitors transiently increase the abundance of mammalian *SINE* transcripts // *Nucl. Acids Res.* 1995. V. 23. P. 1758–1765.
- Lukens L., Zhan S. The plant genome's methylation status and response to stress: implications for plant improvement // *Curr. Opinion in Plant Biol.* 2007. V. 10. P. 317–322.
- Mager D.L., Henthorn P.S., Smithies O.A. Chinese G gamma (A gamma delta beta)zero thalassemia deletion: comparison to other deletions in the human beta-globin gene cluster and sequence analysis of the breakpoints // *Nucl. Acids Res.* 1985. V. 13. P. 6559–6575.
- Matsui K., Narita M., Ishii H., Endo G. Participation of the *recA* determinant in the transposition of class II transposon mini-*TnMERII* // *FEMS Microbiol. Letters*. 2005. V. 253. P. 309–314.
- McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge // *Science*. 1984. V. 226. P. 792–801.
- Menees T.M., Sandmeyer S.B. Cellular stress inhibits transposition of the yeast retrovirus-like element *Ty3* by a ubiquitin-dependent block of virus-like particle formation // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1996. V. 93. P. 5629–5634.
- Morrish T.A., Gilbert N., Myers J.S. *et al.* DNA repair mediated by endonuclease-independent *LINE-1* retrotransposition // *Nat. Genet.* 2002. V. 31. P. 159–165.
- Morrish T.A., Garcia-Perez J.L., Stamato T.D. *et al.* Endonuclease-independent *LINE-1* retrotransposition at mammalian telomeres // *Nature*. 2007. V. 446. P. 208–212.
- Nagy Z., Chandler M. Regulation of transposition in Bacteria // *Res. in Microbiol.* 2004. V. 155. P. 387–398.
- Naas T., Blot M., Ficht W.M., Arber W. Insertions sequence-related genetic variation in resting *Escherichia coli* K-12 // *Genetics*. 1994. V. 136. P. 721–730.
- Ohtsubo Y., Genka H., Komatsu H. *et al.* High-temperature-induced transposition of insertion elements in *Burkholderia multivorans* ATCC 17616 // *Applied And Environmental Microbiol.* 2005. V. 71. P. 1822–1828.
- Paquin C., Williamson V. Temperature effects on the rate of *Ty* transposition // *Science*. 1984. V. 226. P. 53–55.
- Panning B., Smiley J. Activation of RNA polymerase III transcription of human *Alu* repetitive elements by adenovirus type 5: Requirement for the Elb 58-kilodalton protein and the products of E4 open reading frames 3 and 6 // *Mol. Cell. Biol.* 1993. V. 13. P. 3231–3244.
- Peschke V.M., Phillips R., Gengenback B.G. Discovery of transposable element activity among progeny of tissue culture derived maize plants // *Science*. 1987. V. 238. P. 804–807.
- Pfeifer F., Blaseio U. Transposition burst of the *ISH27* insertion element family in *Halobacterium halobium* // *Nucl. Acid Res.* 1990. V. 18. P. 6921–6925.
- Ratner V., Zabanov S., Kolesnikova O., Vasilyeva L. Induction of the mobile genetic element *Dm-412* transpositions in the *Drosophila* genome by heat shock treatment // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1992. V. 89. P. 5650–5654.
- Rocha E., Matic I., Taddei F. Over-representation of repeats in stress-response genes: a strategy to increase versatility under stressful conditions // *Nucl. Acid Res.* 2002. V. 30. P. 1886–1994.
- Rudin C., Thompson C. Transcriptional activation of short interspersed elements by DNA-damaging agents // *Genes Chromosomes and Cancer*. 2001. V. 30. P. 64–71.
- Rutherford S., Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution // *Nature*. 1998. V. 396. P. 336–342.
- Sadeghi N., Rütz M.-L., Menees T.M. Thermal blockage of viruslike particle formation for the yeast retrotransposon *Ty3* reveals differences in the cellular stress response // *Arch. Virol.* 2001. V. 146. P. 1919–1934.
- Sen S.K., Huang C.T., Han K., Batzer M. Endonuclease-independent insertion provides an alternative pathway for *L1* retrotransposition in the human genome // *Nucl. Acids Res.* 2007. V. 35. P. 3741–3751.
- Shapiro J.A. Observations on the formation of clones containing *araB-lacZ* cistron fusions // *Mol. Gen. Genet.* 1984. V. 194. P. 79–90.
- Starlinger P. What do we still need to know about the transposable element *Ac*? // *Gene*. 1993. V. 135. P. 251–255.
- Strand D.J., McDonald J.F. *Copia* is transcriptionally responsive to environmental stress // *Nucl. Acid Res.* 1985. V. 13. P. 4401–4410.
- Symer D., Connelly C., Szak S. *et al.* Human *L1* retrotransposition is associated with genetic instability *in vivo* // *Cell*. 2002. V. 110. P. 327–338.
- Taddei F., Vulic M., Radman N., Matic I. Genetic variability and adaptation to stress // *Exs.* 1997. V. 83. P. 271–290.
- Twiss E., Coros A., Tavakoli N., Derbyshire K. Transposition is modulated by a diverse set of host factors in *Escherichia coli* and is stimulated by nutritional stress // *Mol. Microbiol.* 2005. V. 57. № 6. P. 1593–1607.
- Van de Water N., Williams R., Ockelford P., Browett P. A 20.7 kb deletion within the factor VIII gene

- associated with *LINE-1* element insertion // *Thromb. Haemost.* 1998. V. 79. P. 938–942.
- Vasilyeva L., Bubenschikova E., Ratner V. Heavy heat shock induced retrotransposon transposition in *Drosophila* // *Genet. Res.* 1999. V. 74. № 2. P. 111–119.
- Walker G. Inducible DNA repair systems // *Annu. Rev. Biochem.* 1985. V. 5. № 4. P. 425–457.
- Walser J.-C., Chen B., Feder M. Heat-shock promoters: Targets for evolution by *P* transposable elements in *Drosophila* // *PLOS Genetics*. 2006. V. 2. P. 1541–1555.
- Wardle S., O'Carroll M., Derbyshire K., Haniford D. The global regulator H-NS acts directly on the transpososome to promote *Tn10* transposition // *Genes and Dev.* 2005. V. 19. P. 2224–2235.
- Wessler S. Plant retrotransposons: Turned on by stress // *Curr. Biol.* 1996. V. 6. P. 959–961.
- Wick L., Egli T. Molecular components of physiological stress responses in *Escherichia coli* // *Advanced Biochemical Engineering and Biotechnol.* 2004. V. 89. P. 1–45.
- Wick N., Luedemann S., Vietor I. *et al.* Induction of short interspersed nuclear repeat-containing transcripts in epithelial cells upon infection with a chicken adenovirus // *J. Mol. Biol.* 2003. V. 328. P. 779–790.
- Zuker C., Capello J., Lodish H. *et al.* *Dictyostelium* transposable element *DIRS-1* has 350-base-pair inverted terminal repeats that contain a heat shock promoter // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1984. V. 81. P. 2660–2664.

TRANSPOSABLE ELEMENTS AND STRESS

S.V. Cheresiz, N.N. Yurchenko, A.V. Ivannikov, I.K. Zakharov

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: cheresiz@yandex.ru

Summary

In this review, the concept of transposable elements (TE) mobilization in response to a stressful environmental or genotoxic factor exposure proposed by B. McClintock to be the typical long-term genome response to a stressful condition and the major evolutionary factor driving the origin of a number of animal and plant species is discussed. The main feature of this kind of stress response is the generation of a higher level of genetic diversity by insertion mutagenesis, which enables the TE host species/populations to be better adapted to an unpredictable change.

The possibility of targeted adaptive mutation generation in TE host in response to a particular stress factor by insertion into a host gene involved in physiological cell response to that stress factor is briefly discussed and supported by the examples of a prokaryotic and an eukaryotic TE insertion generated in such stress context. The rationale of evolutionary gradualists against the role of TE stress mobilization is briefly sketched and the counter-argument to this line of reasoning, which involves the phenomenon of population mutation wave, is provided.

In two parts of this review the available data on stress-induced mobilization of prokaryotic and eukaryotic TE is covered, and a wide range of environmental/cellular stress conditions, which are shown to stimulate TE mobility in bacteria and eukaryotes (yeast, plants, animals, and humans), are discussed, including physical factors (γ - and UV irradiation, magnetic fields, high and low temperatures), chemical compounds and conditions (pH), viral, bacterial, and fungal infections, cellular conditions (*in vitro* cultivation), and ecological conditions (nutrient deprivation, starvation, etc.). Molecular cellular mechanisms demonstrated or proposed to be responsible for stress-induced TE mobilization in bacteria and eukaryotes are described, particularly the different stress-response cascades and their components able or shown to stimulate TE mobility. A special reference is made for genotoxic stress factors and DNA-damage-associated TE mobilization, particularly, for the role of DNA damage in *LI*-element induction in humans as, possibly, playing role both in enhancing genotoxic effect by another factor and in DNA-damage-induced repair of lesions by those and other retrotransposable elements.