

В. А. КУНАХ

МОБІЛЬНІ ГЕНЕТИЧНІ ЕЛЕМЕНТИ І ПЛАСТИЧНІСТЬ ГЕНОМУ РОСЛИН

endon)](plasmid

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕТИКИ

В. А. КУНАХ

**МОБІЛЬНІ
ГЕНЕТИЧНІ ЕЛЕМЕНТИ
І ПЛАСТИЧНІСТЬ
ГЕНОМУ РОСЛИН**

Київ — Логос — 2013

УДК 575+[575.111:573.4]
ББК 28.04+28.54
К91

В.А. Кунах

К91 Мобільні генетичні елементи і пластичність геному рослин / В.А. Кунах. — К.: Логос, 2013. — 288 с.: іл.
ISBN 978-966-171-721-2.

Розглянуто кількісно найбільший компонент рослинного геному — мобільні генетичні елементи (МГЕ) обох класів: класу I (ретротранспозони) і класу II (ДНК-транспозони), історію їх відкриття і вивчення. Проаналізовано механізми і чинники їх переміщення, особливості структури, еволюції, біологічне значення і практичне застосування. Наведено відомості про багатоліку роль МГЕ в регуляції клітинних генів і еволюції розміру, структури і пластичності геномів, у механізмах адаптивності вищих рослин як на рівні окремого організму, так і на популяційному рівні. Припускається, що інвазія і подальша ампліфікація МГЕ є основним формотворчим чинником, що забезпечує адаптацію до мінливих умов довкілля і в деяких випадках може приводити до «швидкого» видоутворення.

Для спеціалістів у галузі генетики, молекулярної біології, клітинної біології, біотехнології, екології, фізіології та біохімії рослин, селекції, викладачів та студентів вищих навчальних закладів.

УДК 575+[575.111:573.4]
ББК 28.04+28.54

V.A. Kunakh

Mobile genetic elements and plant genome plasticity / V.A. Kunakh. — Kyiv: Logos, 2013. — 288 p.

Mobile genetic elements (MGEs or MEs) of both classes, class I (retrotransposons) and class II (DNA transposons), making up bulk proportion of plant genome, history of their discovery and studies have been reviewed. Mechanisms and reasons underlying their transposition, details of structure, evolution, biological significance and practical application were analyzed. Evidence for multifaceted role of MGEs in cell regulation and evolution of genome size, structure and plasticity, in mechanisms of higher plant adaptability both at individual and populational level was provided. It is supposed that MGEs invasion and their further amplification present the major form-building factors to ensure adaptation to varying environment and in some cases may result in «rapid» speciation.

For specialists in the field of genetics, molecular biology, cell biology, biotechnology, ecology, physiology and biochemistry of plants, plant breeding, lecturers and students of higher education institutes.

*Затверджено до друку рішенням вченої ради Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України
(протокол №6 від 28 травня 2013 р.).*

Рецензенти: **Блюм Я.Б.**, академік НАН України;
Сльська Г.В., академік НАН України;
Говорун Д.М., член-кореспондент НАН України

ISBN 978-966-171-721-2

© Кунах В. А., 2013

ЗМІСТ

ВСТУП, або дещо про пластичність геному як основу адаптивності рослин	9
INTRODUCTION, or something about genome plasticity as a basis for plant adaptability	13

Частина I

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МОБІЛЬНИХ (РУХОМИХ) ЕЛЕМЕНТІВ ГЕНОМУ

Розділ 1. КОРОТКА ІСТОРІЯ ВИВЧЕННЯ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГЕНІВ І ВІДКРИТТЯ МОБІЛЬНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ.	16
1.1. Відкриття мобільних генетичних елементів	16
1.2. Гіпотеза Б. МакКлінток	18
1.3. Концепція профага, епісоми і плазмідів	19
1.4. Відкриття інсерційних елементів у прокаріотів	21
1.5. Інсерційний мутагенез і вибухи мутацій у дрозофіли.	22
Розділ 2. БІОЛОГІЯ МОБІЛЬНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ.	25
Розділ 3. РЕТРОТРАНСПОЗОНИ	30
3.1. LTR-вмісні ретротранспозони	31
3.1.1. Надродина <i>Ty1/copia</i>	32
3.1.1.1. Особливості деяких представників надродини <i>Ty1/copia</i>	34
3.1.2. Надродина <i>Ty3/gypsy</i>	37
3.1.3. Надродина <i>Bel/Pao</i>	40
3.1.4. Філогенія і транспозиційна активність <i>Ty1/copia</i> та <i>gypsy</i> -подібних ретротранспозонів у геномах злаків.	41
3.2. Автономні та неавтономні ретротранспозони	42
3.3. Життєвий цикл LTR-вмісних ретротранспозонів	43
3.3.1. Транскрипція	44
3.3.2. Трансляція	44
3.3.3. Формування нуклеокапсиду, упаковка і димеризація	44
3.3.4. Зворотна транскрипція	45
3.3.5. Інтеграція нової копії LTR-вмісних ретротранспозонів у геном	46
3.4. Регуляція активності LTR-вмісних ретротранспозонів	47
3.5. Поширення LTR-вмісних ретротранспозонів серед рослин	48
3.5.1. LTR-ретротранспозони покритонасінних рослин	48
3.5.2. LTR-ретротранспозони голонасінних рослин	49
3.5.3. LTR-ретротранспозони вищих безнасінних рослин	50
3.6. Узагальнена характеристика LTR-вмісних ретротранспозонів. Підсумок	52
3.7. LTR-невмісні ретротранспозони	54
3.7.1. <i>L1</i> -ретротранспозони покритонасінних рослин	57
3.7.1.1. Структурна організація <i>L1</i> -non-LTR-ретротранспозонів рослин	57
3.7.2. Життєвий цикл LTR-невмісних ретротранспозонів і їх регуляція хазяїном	59
3.7.2.1. Механізми реплікації.	60
3.7.2.2. Хазяйські чинники сприяння LTR-невмісним ретротранспозонам	63
3.7.2.3. Регуляторні механізми хазяїна, що обмежують LTR-невмісні ретротранспозони	63
3.7.3. Короткі розсіяні елементи (SINEs) або ретрогени.	64
3.7.3.1. SINEs рослин. Походження і класифікація	65
3.7.3.2. SINEs-елементи Brassicaceae	66
3.7.3.3. Походження різних родів SINEs-елементів у <i>A. thaliana</i> і <i>B. oleracea</i>	67
3.8. Виділення ретротранспозонів	69
3.9. Ендогенні паретровіруси (EPRVs) як особливий клас ретроеlementів	69
3.9.1. Структура й інтеграція	69
3.9.2. Еволюція EPRVs	71
3.9.3. Активація і контроль EPRVs	72
3.10. Ретротранспозони — ключові ознаки, роль у формуванні розміру й еволюції геному рослин. Підсумок	74

Розділ 4. ДНК-ТРАНСПОЗОНИ	76
4.1. <i>Ac</i> -елемент і його похідні — <i>Ds</i> -елементи	82
4.2. <i>En/Spm</i> -елемент	85
4.3. <i>Mu</i> -елементи	85
4.4. Гелітрони	86
4.4.1. Механізм транспозиції і захоплення генів гелітронами	92
4.4.2. Походження й еволюційне значення генних послідовностей у гелітронах	92
4.4.3. Зв'язування гелітронними транскриптами екзонів різних генів	94
Розділ 5. ЕВОЛЮЦІЯ МОБІЛЬНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ РОСЛИН	96
5.1. Контроль транспозиції МГЕ	97
5.2. Видалення МГЕ шляхом рекомбінації	98
5.3. Вплив популяційних процесів на транспозиції і делеції МГЕ	99
5.4. Проблеми і перспективи. Підсумок	102
Розділ 6. ФАКТОРИ, ЦО ВПЛИВАЮТЬ НА АМПЛІФІКАЦІЮ МГЕ. УЗАГАЛЬНЕННЯ	103

Частина II БІОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ МОБІЛЬНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Розділ 7. ІНДУКЦІЯ ТРАНСПОЗИЦІЙ МГЕ І СТРЕС	107
7.1. Вибух транспозицій у геномах гібридів	108
7.2. Генотоксичний стрес і мобілізація транспозонів	110
7.3. Активація МГЕ у культурі клітин і тканин	111
7.4. Вплив температури	113
7.5. Вплив інфекцій вірусного, бактеріального і грибового походження	113
7.6. Яровизація рослин і транспозони	113
7.7. Молекулярні механізми індукції транспозицій	116
7.8. Епігенетичний контроль і місцеспрямовання інсерцій як відповідь на екологічні впливи	117
7.8.1. Динаміка ретротранспозонів ячменю <i>BARE-1</i> у різних умовах зростання	118
7.9. Активація МГЕ стресовими чинниками. Підсумок	120
Розділ 8. ЕВОЛЮЦІЙНА РОЛЬ «ОДОМАШНЕНИХ» МГЕ	123
Розділ 9. ГЕНОМНІ ПЕРЕБУДОВИ ЗА ДОПОМОГОЮ НЕЛІНІЙНОЇ (АЛЬТЕРНАТИВНОЇ) ТРАНСПОЗИЦІЇ (на прикладі кукурудзи)	126
9.1. Походження нової алелі <i>PI-w</i> з великою інвертованою дуплікацією	127
9.2. Підтвердження явища нелінійної транспозиції (NLT)	128
9.3. Молекулярний аналіз спарених алелей	129
9.4. Механізми і відносні частоти нормальної і нелінійної (альтернативної) транспозицій та цитогенетичні підтвердження хромосомних перебудов	131
9.5. Значення NLT-індукованих перебудов	136
Розділ 10. РОЛЬ МГЕ В ЕВОЛЮЦІЇ ГЕНОМУ РОСЛИН	138
10.1. Зміна кількості послідовностей ДНК	140
10.2. Створення генів	142
10.3. Втрата новостворених генів	144
10.4. Генні і геномні перебудови	145
10.5. Диференційна ампліфікація МГЕ і дивергенція геномів	146
10.6. Ендогенний мутагенез, МГЕ й «альтруїстична некодувальна ДНК»	148
10.7. Структурне різноманіття ретротранспозонів і особливості еволюції геномів рослин	152
10.7.1. Великі геноми квіткових рослин збільшуються завдяки активності кількох родин LTR-ретротранспозонів, які є різними у різних видів	154
10.7.2. Час вставки LTR-вмісних ретротранспозонів	154
10.7.3. Нерівна рекомбінація — основний чинник видалення ДНК	154
10.7.4. Заміщення й індели у дивергуючих довгих кінцевих повторах (LTRs)	155
10.7.5. Динаміка геномів. Підсумок	156
Розділ 11. МОБІЛЬНІ ЕЛЕМЕНТИ Й ЕПІГЕНЕТИКА РОСЛИН	157
11.1. Еволюція шляхом мутацій у генах, які керують епігенетичними системами	158
11.2. Епігенетичне перепрограмування і сайленсинг МГЕ малими РНК	159
11.2.1. Перепрограмування в онтогенезі	160
11.2.2. Механізми прояву і сайленсингу МГЕ у зародковій лінії клітин	161
Розділ 12. РОЛЬ ТРАНСПОЗОНІВ У РОСЛИННИХ ПОПУЛЯЦІЯХ	163
12.1. Динаміка транспозонів й інших фракцій високоповторюваної ДНК як індикатор процесів видоутворення	166

Розділ 13. МГЕ Й ЕВОЛЮЦІЯ СТАТІ	168
13.1. Еволюція статевих хромосом.	168
13.2. Роль МГЕ у формуванні статевих хромосом і генетичного різноманіття	170
13.3. МГЕ та системи розмноження рослин	171
13.4. Шляхи і напрями еволюції статі. Підсумок	174
Розділ 14. РОЛЬ МОБІЛЬНИХ ЕЛЕМЕНТІВ В ОРГАНІЗАЦІЇ ХРОМОСОМ	175
14.1. Особливості розподілу МГЕ на хромосомах	176
14.2. Мобільні елементи і В-хромосоми	177
14.3. Утворення кільцевих мікрохромосом у дріжджів як адаптивний механізм ампліфікації генів	179
Розділ 15. ГОРИЗОНТАЛЬНЕ ПЕРЕНЕСЕННЯ ГЕНІВ І МГЕ	181
15.1. Явище горизонтального перенесення	181
15.2. Можливі механізми горизонтального перенесення МГЕ	182
15.3. Критерії горизонтального перенесення МГЕ	183
15.4. Горизонтальне перенесення LTR-невмісних ретротранспозонів	184
Розділ 16. ФУНКЦІОНАЛЬНЕ ЗНАЧЕННЯ МГЕ. ПІДСУМОК	186
Частина III	
ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ	
Розділ 17. УМОВИ І ФАКТОРИ КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ І КОНТРОЛЮ ТРАНСПОЗИЦІЇ	189
Розділ 18. ТРАНСПОЗООНОВИЙ МУТАГЕНЕЗ	192
Розділ 19. РЕТРОТРАНСПОЗОННІ ВЕКТОРНІ СИСТЕМИ ДЛЯ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ	194
19.1. Деякі аспекти біології LTR-вмісних ретротранспозонів	194
19.2. Розробка векторної системи на основі ретротранспозона <i>Tnt1</i>	195
19.3. Перспективи застосування двокомпонентної системи векторів міні- <i>Tnt1</i>	198
Розділ 20. ОСОБЛИВОСТІ ТА ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ТРАНСПОЗИЦІЙ МГЕ У МЕЖАХ ОДНОГО ГЕНОМУ ТА МІЖ ГЕНОМАМИ	200
Розділ 21. ТРАНСПОЗИЦІЇ ТА КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ У ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ	202
Розділ 22. МГЕ ЯК ІНСТРУМЕНТ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	204
22.1. Транспозони у біотехнології рослин	204
22.2. Транспозонні технології для генної і клітинної інженерії	204
Розділ 23. МГЕ ЯК ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ	207
23.1. Типи ДНК-маркерів і їх застосування у молекулярно-генетичному аналізі	208
23.1.1. ПДРФ-маркери	209
23.1.2. ПЛР-маркери	209
23.1.2.1. ПЛР із довільними праймерами	209
23.1.2.2. Метод AFLP (amplified fragment length polymorphism)	210
23.1.2.3. ПЛР із локус-специфічними праймерами	210
23.1.3. Ретротранспозони як молекулярні маркери	211
23.1.3.1. Методи S-SAP/TD	211
23.1.3.2. Методи IRAP/REMAP	213
23.1.3.3. Методи RBIP/TAM	215
23.1.3.4. Метод iPBS	215
23.1.3.5. Ретротранспозони й аналіз генетичного різноманіття	217
23.2. Особливості молекулярних маркерів на основі мобільних елементів	218
23.3. Застосування мобільних елементів у філогенії і популяційній генетиці	221
23.3.1. Використання представників <i>Ty1/copia</i> та <i>gypsy</i> -подібних груп ретротранспозонів у філогенії злаків	222
23.3.2. SINEs-елементи як джерело молекулярних маркерів	223
23.3.3. Застосування ДНК-транспозонів для філогенетичних досліджень на прикладі <i>Brassica rapa</i> L. . .	225
ПІДСУМОК. Роль МГЕ в еволюції геному	227
CONCLUSION. Role of MGEs in evolution of genome	231
Література	235
Словник	265

CONTENT

ВСТУП, або дещо про пластичність геному як основу адаптивності рослин	9
INTRODUCTION, or something about genome plasticity as a basis for plant adaptability	13

Part I

GENERAL CHARACTERISTICS OF MOBILE (TRANSPOSABLE) GENOME ELEMENTS

Section 1. A BRIEF HISTORY OF STUDIES ON GENE INSTABILITY AND DISCOVERY	
OF THE MOBILE GENETIC ELEMENTS	16
1.1. Discovery of mobile genetic elements	16
1.2. Hypothesis of B. MacClintock	18
1.3. Concept of prophage, episomes and plasmids	19
1.4. Discovery of insertion elements in procaryotes	21
1.5. Insertional mutagenesis and mutation bursts in <i>Drosophyla</i>	22
Section 2. BIOLOGY OF MOBILE GENETIC ELEMENTS	25
Section 3. RETROTRANSPOSONS.	30
3.1. LTR-retrotransposons	31
3.1.1. <i>Ty1/copia</i> superfamily	32
3.1.1.1. Features of some members of <i>Ty1/copia</i> superfamily	34
3.1.2. <i>Ty3/gypsy</i> superfamily	37
3.1.3. <i>Bel/Pao</i> superfamily	40
3.1.4. Phylogeny and transpositional activity of <i>Ty1/copia</i> and <i>gypsy</i> -like retrotransposons in cereal genomes	41
3.2. Autonomous and non-autonomous retrotransposons	42
3.3. Life history of LTR-retrotransposons	43
3.3.1. Transcription	44
3.3.2. Translation	44
3.3.3. Nucleocapside formation, packaging and dimerization	44
3.3.4. Reverse transcription	45
3.3.5. Integrating of new LTR-retrotransposon copy into genome	46
3.4. Regulation of activity in LTR-retrotransposons	47
3.5. Distribution of LTR-retrotransposons among plants	48
3.5.1. LTR-retrotransposons of angiosperms	48
3.5.2. LTR-retrotransposons of gymnosperms	49
3.5.3. LTR-retrotransposons of higher seedless plants	50
3.6. General characteristics of LTR-retrotransposons. Resume	52
3.7. Non-LTR-retrotransposons	54
3.7.1. <i>L1</i> -retrotransposons of angiosperms	57
3.7.1.1. Structural organization of plant <i>L1</i> -non-LTR-retrotransposons	57
3.7.2. Life history of non-LTR retrotransposons and their control by host	59
3.7.2.1. Mechanisms of replication	60
3.7.2.2. Host factors promoting non-LTR-retrotransposons	63
3.7.2.3. Host control mechanisms confining non-LTR retrotransposons	63
3.7.3. Short interspersed elements (SINEs) or retrogenes	64
3.7.3.1. Plant SINEs. Origin and classification	65
3.7.3.2. SINEs-elements of Brassicaceae	66
3.7.3.3. Origin of various families of SINEs-elements in <i>A. thaliana</i> and <i>B. oleracea</i>	67
3.8. Isolation of retrotransposons	69
3.9. Endogeneous pararetroviruses (EPRVs) as a special class of retroelements	69
3.9.1. Structure and integration	69
3.9.2. Evolution of EPRVs	71
3.9.3. Activation and control of EPRVs	72
3.10. Retrotransposons: key features, role in formation of size and in evolution of plant genome.	
Conclusions	74

Section 4. DNA-TRANSPOSONS	76
4.1. <i>Ac</i> -element and its derivatives, <i>Ds</i> -elements	82
4.2. <i>En/Spm</i> -element	85
4.3. <i>Mu</i> -elements	85
4.4. Helitrons	86
4.4.1. Mechanism of transposition and gene acquirement by Helitrons	92
4.4.2. Origin and evolutionary implication of gene sequences in Helitrons	92
4.4.3. Binding by Helitron transcripts of the exons in different genes	94
Section 5. EVOLUTION OF PLANT MOBILE GENETIC ELEMENTS	96
5.1. Control of MGE transposition	97
5.2. Removal of MGE via recombination	98
5.3. Effect of population events on transposition and deletion of MGE	99
5.4. Problems and prospects. Conclusions.	102
Section 6. FACTORS, AFFECTING MGE AMPLIFICATION. GENERALIZATION	103

Part II BIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF MOBILE GENETIC ELEMENTS

Section 7. INDUCTION OF MGE TRANSPOSITIONS AND STRESS	107
7.1. Burst of transpositions in genomes of hybrids	108
7.2. Genotoxic stress and transposon mobilization	110
7.3. Activation of MGEs in cell and tissue culture	111
7.4. Effect of temperature	113
7.5. Effect of viral, bacterial and fungal infections	113
7.6. Plant vernalization and transposons	113
7.7. Molecular mechanisms of transposition induction	116
7.8. Epigenetic control and target direction of insertions as a respond to environmental stimuli	117
7.8.1. Dynamics of barley <i>BARE-1</i> retrotransposons in various conditions of growing	118
7.9. Activation of MTEs with stress factors. Conclusions.	120
Section 8. EVOLUTIONARY ROLE OF THE «DOMESTICATED» MGEs	123
Section 9. GENOME REARRANGEMENTS BY NON-LINEAR (ALTERNATIVE) TRANSPOSITIONS (as exemplified by maize)	126
9.1. Origin of novel <i>P1-ww</i> allele with large inverted duplication	127
9.2. Confirmation of non-linear transposition (NLT) phenomenon	128
9.3. Molecular analysis of matched alleles	129
9.4. Mechanisms and relative frequencies of regular and non-linear (alternative) transpositions and cytogenetic confirmations of chromosome rearrangements.	131
9.5. Implication of NLT-induced rearrangements	136
Section 10. ROLE OF MGEs IN EVOLUTION OF PLANT GENOME	138
10.1. Change in number of DNA sequences	140
10.2. Gene generation	142
10.3. Loose of newly generated genes	144
10.4. Gene and genome rearrangements	145
10.5. Differential MGE amplification and genome divergention	146
10.6. Endogenous mutagenesis, MGE and «altruistic non-coding DNA»	148
10.7. Structural retrotransposon diversity and details of plant genome evolution.	152
10.7.1. Large genomes of angiosperms expand due to activity of some LTR-retrotransposon families, varying among species	154
10.7.2. Timing of LTR-retrotransposon insertion	154
10.7.3. Unequal recombination, major factor of DNA removal	154
10.7.4. Substitutions and indels in divergating long terminal repeats (LTRs)	155
10.7.5. Genome dynamics. Conclusions.	156
Section 11. MOBILE ELEMENTS AND PLANT EPIGENETICS	157
11.1. Evolution by mutations in genes that control epigenetic systems	158
11.2. Epigenetic reprogramming and MGE silencing by small RNAs	159
11.2.1. Reprogramming in ontogenesis	160
11.2.2. Mechanisms of MGE occurrence and silencing in germ-line cells	161

Section 12. ROLE OF TRANSPOSONS IN PLANT POPULATIONS	163
12.1. Dynamics of transposons and other fractions of highly repeated DNA as indicator of speciation events	166
Section 13. MGEs AND SEX EVOLUTION	168
13.1. Evolution of sex chromosomes	168
13.2. Role of MGEs in formation of sex chromosomes and genetic diversity	170
13.3. MGEs and systems of plant propagation	171
13.4. Ways and directions of sex evolution. Conclusions	174
Section 14. ROLE OF MOBILE ELEMENTS IN CHROMOSOME ORGANIZATION	175
14.1. Details of MGE distribution on chromosomes	176
14.2. Mobile elements and B-chromosomes	177
14.3. Generation of ring micro-chromosomes in yeasts as an adaptive mechanism for gene amplification	179
Section 15. HORIZONTAL GENE TRANSFER AND MGEs	181
15.1. Phenomenon of horizontal transfer	181
15.2. Putative mechanisms involving horizontal transfer of MGEs	182
15.3. Criteria of MGEs horizontal transfer	183
15.4. Horizontal transfer of non-LTR-retrotransposons	184
Section 16. FUNCTIONAL IMPLICATION OF MGEs. CONCLUSIONS	186
 Part III APPLIED ASPECTS 	
Section 17. CONDITIONS AND FACTORS INVOLVING GENE CLONING AND CONTROL OF TRANSPOSITION	189
Section 18. TRANSPOSON MUTAGENESIS	192
Section 19. RETROTRANSPOSON VECTOR SYSTEMS FOR GENOME ENGINEERING	194
19.1. Some aspects of LTR-retrotransposon biology	194
19.2. Development of vector system based on <i>Tnt1</i> retrotransposon	195
19.3. Prospects for using a <i>Tnt1</i> -based two-component vector system	198
Section 20. FEATURES AND PRACTICAL SIGNIFICANCE OF MGE TRANSPOSITION WITHIN INDIVIDUAL GENOME AND BETWEEN GENOMES	200
Section 21. TRANSPOSITIONS AND GENE CLONING IN TRANSGENIC PLANTS	202
Section 22. MGE AS A TOOL FOR BIOTECHNOLOGICAL STUDIES	204
22.1. Transposons in plant biotechnology	204
22.2. Transposon technologies for gene and cell engineering	204
Section 23. MGEs AS GENETIC MARKERS	207
23.1. Types of molecular genetic markers and their use in fingerprinting	208
23.1.1. RFLP-markers	209
23.1.2. PCR-markers	209
23.1.2.1. PCR with arbitrary primers	209
23.1.2.2. AFLP method	210
23.1.2.3. PCR with site-specific primers	210
23.1.3. Retrotransposons as molecular markers	211
23.1.3.1. S-SAP/TD methods	211
23.1.3.2. IRAP/REMAP methods	213
23.1.3.3. RBIP/TAM methods	215
23.1.3.4. iPBS method	215
23.1.3.5. Retrotransposons and evaluation of the genetic diversity	217
23.2. Characteristics of molecular markers based on mobile elements	218
23.3. Application of mobile elements in phylogeny and populational genetics	221
23.3.1. Use of members of <i>Ty1/copia</i> and <i>gypsy</i> -like groups of retrotransposons in phylogeny of cereals	222
23.3.2. SINEs-elements as a source of molecular markers	223
23.3.3. Use of DNA-transposons for phylogenetic studies as exemplified by <i>Brassica rapa</i> L.	225
ПІДСУМОК. Роль МГЕ в еволюції геному	227
CONCLUSION. Role of MGEs in genome evolution	231
Literature	235
Dictionary	265

ВСТУП,

або децю про пластичність геному як основу адаптивності рослин

Вищі рослини, які є прикріпленими організмами, виробили потужні й ефективні, а подекуди — й специфічні механізми адаптації до мінливих умов довкілля, зокрема могутні механізми захисту від дії екстремальних (стресових) чинників. Механізми стресової адаптації діють як на рівні окремого організму, так і на популяційному рівні.

Дослідження молекулярних механізмів адаптації на рівні окремого організму показали, що за ці реакції відповідають переважно епігенетичні системи, які є частиною естафети від фіксації «відчуття» зміни в довкіллі до зміни генної експресії. Здатність епігенетичних систем змінюватися швидко й ефективно, зберігаючи при цьому потенціал стабільної «пам'яті» впродовж багатьох клітинних поколінь, пояснює гнучкість реакції рослин на умови довкілля. Залежно від умов існування продукт реалізації генотипу — фенотип — може бути різним. Наприклад, один із видів роду *Ficus* у лісі — це ліани, а на відкритому просторі — дерева. Або класичний приклад з рослиною стрілиця *Sagittaria* L., що утворює різні відмінні форми листків: підводні (нитчасті), плаваючі (суцільні серцеподібні) і надводні (стрілоподібні). Ці й багато інших даних свідчать про те, що епігенетичні системи рослин є складними і містять цілу низку унікальних складових, які відсутні в інших евкаріотів.

В основі відомих на сьогодні клітинних і молекулярних механізмів захисту рослин від стресових чинників, адаптивності і гомеостатичності на рівні окремого організму лежить, на нашу думку, таке основоположне явище, як висока пластичність геному соматичних клітин, його т. зв. «динамічність», яка чітко виявляється в онтогенезі. Пластичність геному рослин зумовлює тотипотентність (переключення морфогенетичних програм, наприклад, з метою відновлення пошкоджених органів чи організму в цілому) і регульовану (адаптивну) мінливість геному в онтогенезі (у тому числі появу генотрофів), а також високу частоту, на перший погляд, ненаправлених геномних змін в умовах впливів, що виходять за межі норми реакції генотипу (стресових впливів).

Молекулярні механізми пластичності в організації геному, що змінюється залежно від потреб клітини й умов її функціонування і, особливо, за відхилень, викликаних непередбачуваними стресовими умовами, що дозволяє клітині ефективно уникати загибелі, детально розглянуто у низці книг і оглядів (Колотова і др., 2004; Патрушев, Минкевич, 2007; Яблонка, Лэмб, 2008; Юрченко і др., 2011; Arnold-Schmitt, 2004; Grant-Downton, Dickinson, 2005, 2006; Mittler et al., 2006, тощо). Проте у цих працях практично не проаналізовано геномні зміни, зокрема кількісні зміни ДНК і хромосомні зміни, які відіграють не менш важливу роль, ніж інші, добре відомі й багаторазово описані «класичні» складові епігенетичної системи рослин, а саме так звані «три стовпи» епігенетики:

- метилювання ДНК (цитозинових і аденинових залишків);
- модифікації хроматину (метилювання і ацетилювання гістонових білків і їх посттрансляційних модифікацій);
- світ РНК (перш за все обох типів малих РНК — малих інтерферуючих РНК (siRNA) і мікроРНК (miRNA)).

Ще у 70-х рр. минулого століття Барбара МакКлінток, спостерігаючи за швидкою, прямою індукцією нових спадкових станів за зовнішніх і внутрішніх (онтогенетичних) впливів, писала: «Я вважаю, що немає підстав ставити під сумнів наявність внутрішніх систем, здатних реструктурувати геном. Наразі необхідно вивчити ці системи і визначити, чому багато з них є неактивними, залишаються такими впродовж тривалого періоду часу і запускаються у дію лише формами стресу, наслідки якого варіюють залежно від природи виклику, з яким потрібно впоратися» (McClintock, 1978). Виступаючи з нобелівською лекцією, вона закликала біологів «визначити ступінь знань клітини про саму себе і як вона використовує це знання у «розумний» (thoughtful) спосіб у разі необхідності» (McClintock, 1984).

За часи, що минули, наше розуміння однієї з найзагадковіших проблем генетики — проблеми

пластичності геному, розуміння динамічної поведінки геному, епігеному, ядра і самої клітини значно поглибилося, і ми наближаємося до початку визначення механізмів, за допомогою яких клітина й організм використовують «своє знання у розумний спосіб у разі потреби».

Початок XXI століття відзначився тим, що молекулярна клітинна біологія встановила наявність компактної структури інформаційно-процесингових мереж, що використовують геном як систему інтерактивної пам'яті, а не просто як програму розвитку організму. Сиквенування геному показало важливість активності мобільної ДНК і основних процесів реструктурування геному протягом еволюції: перетасування екзонів, зміни у *cis*-регуляторних сайтах, горизонтальне перенесення, злиття клітин, подвоєння усього геному (WGDs — whole genome doublings) тощо. Функції природної генетичної інженерії, які обумовлюють реструктурування геному, активуються численними факторами, зокрема мікробною інфекцією та міжвидовою гібридизацією, які приводять до формування алотетраплоїдів — ключового шляху еволюції рослинного світу. Відкриття у царині молекулярної генетики, сучасні гіпотези та припущення на основі новітніх даних стосовно того, як перебудови мобільної ДНК збільшують ефективність виникнення функціональних геномних «інновацій», дозволяють певною мірою об'єднати сучасні знання молекулярної основи геномних змін, основних генетичних процесів еволюції та адаптації і чинників, що активують реструктурування ДНК, із класичним цитогенетичним розумінням ролі гібридизації у дивергенції видів, а також онтогенетичної поліплоїдії у процесах адаптації.

Нещодавно ми проаналізували особливості прояву пластичності геному соматичних клітин рослин, що виявляються, перш за все, у змінах числа хромосом, кількості ДНК, її окремих фракцій, повторів і послідовностей у нормі та за впливу різних біотичних і абіотичних факторів довкілля, адаптивності геномних перетворень, що відбуваються в онтогенезі, і можливість передачі адаптивних змін, що виникли у соматичних клітинах, у статевих поколіннях (Кунах, 2011, 2011а). Упевнилися, що принцип факультативності геному, розроблений М. Голубовським і нещодавно викладений у завершено-

му і цілісному вигляді (Golubovsky, 2011), дійсно віддзеркалює загальний принцип організації життя й еволюції живого — *єдність цілого і свободи частин*. Коротко ця гіпотеза і її наслідки є такими.

Геном зберігає і передає спадкову інформацію як структурно, так і динамічно. Він представляє собою ансамбль як облігатних, так і факультативних елементів. Матричні процеси (реплікація, транскрипція і трансляція) й основні генетичні процеси (репарація, рекомбінація і сегрегація) здатні до факультативної функціональності і динамічних (епігенетичних) модифікацій. Автор пропонує розрізняти три типи спадкових змін: *мутації, варіації та епігенетичні модифікації*. Факультативність структури геному виражається у поділі клітинних ДНК і РНК на дві підсистеми: облігатні генетичні елементи (OGEs) і факультативні генетичні елементи (FGEs). До FGEs автор відносить різні типи повторюваних послідовностей, мобільні генетичні елементи (МГЕ), амплікони, вставлені вірусні і чужинні ДНК, В-хромосоми, плазміди і цитобіонти (рис. 1).

Кількість і внутрішня топографія FGEs різні у різних клітинах, тканинах та індивідах. Зміни структури і порядку OGEs відповідають класичним мутаціям. Для різних змін кількості чи клітинної/тканинної топографії FGEs автор вважає слушним застосовувати термін «варіації». Мутації і варіації значно відрізняються за характером свого розповсюдження. Варіації можуть траплятися одночасно у багатьох клітинах/індивідах й індукуються немутагенними чинниками. Спонтанні спадкові зміни в природі зазвичай виникають у системі *ДОВКІЛЛЯ* — *FGEs* — *OGEs* двохетапним шляхом. Першими на дію внутрішніх і зовнішніх умов реагують FGEs. Потім їх активація індукує генні/хромосомні мутації. Як варіації, так і епігенетичні зміни (епіваріації та епімутації) можуть мати менделівські властивості, іноді нагадуючи успадкування набутих ознак (Golubovsky, 2011).

Останнім часом накопичується все більше даних про те, що поряд з іншими механізмами перебудов, що забезпечують адаптивність і еволюцію рослин, важливу роль відіграють транспозиції мобільних генетичних елементів (МГЕ).

МГЕ (транспозони) були відкриті у кінці 40-х рр. XX ст., проте знадобилося півстоліття,

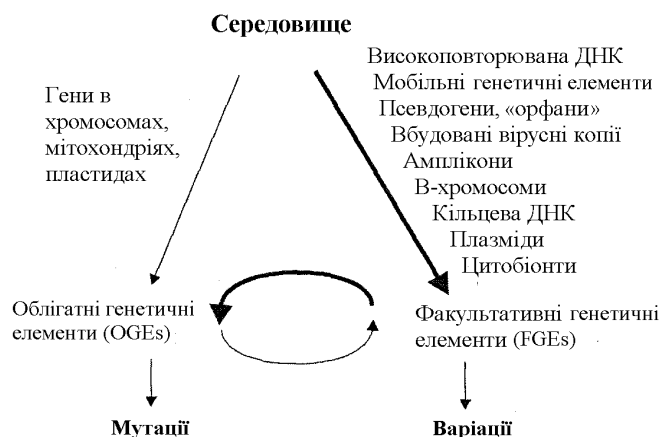


Рис. 1. Облігатні (OGEs) і факультативні (FGEs) генетичні елементи та два типи спадкових змін — мутації і варіації. Стрілки вказують на зв'язки, а товщина стрілок — на інтенсивність їх сили (intensity of their forces) (за: Golubovsky, 2011, з доповненнями)

щоб зрозуміти механізми їх дії і біологічне значення. Спочатку вони вважалися непотрібними, «смітчевою» ДНК (junk DNA), а нині виявилися головними «діючими гравцями» адаптації і еволюції. Наразі практично щодня у світовій науковій літературі з'являються все нові й нові докази цього (див., наприклад: Fedoroff, 2011, 2012; Plant Transposons., 2013; Ewing et al., 2013).

Зокрема, у більшості вищих рослин МГЕ складають понад половину (до 90% у деяких злаків) ядерного геному. Очевидно, у багатьох випадках у рослин саме МГЕ є основою тієї частини геному, яку М. Голубовський назвав факультативними генетичними елементами (FGEs). Вони є внутрішньогеномними біохімічними системами перебудов ДНК, що лежать в основі значної кількості генетичних змін, виконують ключову роль у природній генетичній інженерії. МГЕ поєднують у собі здатність до переміщення, захоплення та експорту послідовностей, до ектопічної рекомбінації між гомологічними послідовностями і ще до великого переліку різних явищ, розглянутих, наприклад, у монографії (Колотова и др., 2004) і огляді (Юрченко, 2011).

Проте, за винятком цитованої монографії, у якій МГЕ — не головна тема, та п'яти-шести оглядових статей, ні монографічна, ні навчальна література, в якій на сучасному рівні було б спеціально розглянуто структуру мобільних елементів, роль транспозицій в еволюції геномів, а також в адаптації організмів до змінних

умов довкілля, практичні аспекти застосування транспозицій, в Україні не друкувалася. Це не сприяє як підготовці кваліфікованих кадрів, так і подальшому розвитку досліджень у багатьох галузях сучасної біології і екології, а також біотехнології рослин.

Коли я практично завершив рукопис цієї монографії, вийшла в світ чудова книга, збірник праць, яку написав колектив авторів за редакцією відомого фахівця у галузі молекулярної генетики і геноміки рослин Ніни Федорофф (Plant Transposons and Genome Dynamics in Evolution. Ed. Nina V. Fedoroff, 2013, Wiley-Blackwell, 232 p.). У книзі наведено дані ретельного аналізу поточного стану знань про чисельність, поширення і природу транспозонів і ретротранспозонів і про їх роль у формуванні й еволюції геномів рослин. Як видно із порівняння тексту згаданої книги і подальшого тексту моєї монографії, мої погляди і припущення про біологічну роль мобільних елементів переважно збігаються з поглядами і припущеннями авторів згаданої книги. Проте є й певні відміни, що стосуються головним чином оцінки внеску мобільних генетичних елементів у пластичність геному як основу адаптивності рослин (див. заключний розділ 24 цієї монографії).

Моя монографія також спрямована на узагальнення та аналітичний огляд результатів досліджень у галузі біології мобільних генетичних елементів, даних про механізми і чинники їх переміщення, особливості структури, еволюції,

біологічне значення і практичне застосування. Наведено відомості про багатолику роль МГЕ у регуляції клітинних генів і еволюції розміру, структури і пластичності геномів, у механізмах адаптивності вищих рослин як на рівні окремого організму, так і на популяційному рівні. Аналізуються дані щодо МГЕ як основного формотворного чинника, що забезпечує адаптацію до мінливих умов довкілля і в деяких випадках може приводити до «швидкого» видоутворення.

Автор розуміє, що він не міг охопити все розмаїття експериментальних даних, накопичених у цій галузі досліджень. Слід враховувати, що майже щоденно з'являються все нові й нові результати, що поглиблюють і уточнюють наші знання щодо рухливих (мобільних) елементів геному. У цій книзі автор, у міру своїх можли-

востей, намагався узагальнити наявні і доступні йому відомості і на деяких прикладах продемонструвати найхарактерніші особливості МГЕ, їх біологічну роль і практичне значення. Наскільки це вдалося — судити читачеві.

Висловлюю глибоку вдячність моїм учням і колегам, перш за все співробітникам відділу генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, особливо молодшому науковому співробітнику В. І. Адоніну, науковому співробітнику Л. П. Можилевській та старшому науковому співробітнику кандидатів біол. наук Н. Ю. Мирюті, які допомогли в оформленні і підготовці тексту та ілюстративного матеріалу, сприяли тому, щоб ця книга вийшла у світ саме такою.



КУНАХ Віктор Анатолійович

доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент Національної академії наук України, завідувач відділу генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, професор Київського національного університету імені Тараса Шевченка, президент Українського товариства генетиків і селекціонерів імені М. І. Вавилова. Автор понад 400 наукових праць у галузі генетики, клітинної та молекулярної біології, фізіології і біотехнології рослин, у тому числі двох підручників для вищих навчальних закладів і восьми моно-

графій, зокрема шести монографій видавництва Шпрінгер. Має 39 авторських свідоцтв та патентів на винаходи у галузі клітинної селекції та біотехнології рослин. Лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, премії ім. В. Я. Юр'єва НАН України та премії ім. М. Г. Холодного НАН України, відмінник освіти України. Підготував чотирьох докторів та 22 кандидати біологічних наук у галузі генетики, молекулярної генетики, молекулярної біології, клітинної біології, фізіології рослин, біотехнології.



ISBN: 9789661717212



9 789661 717212