

ЭВОЛЮЦИЯ ВЗГЛЯДОВ НА МУСОРНУЮ ДНК В СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ

EVOLUTION OF VIEWS ON JUNK DNA IN MODERN GENETICS

**A. Tsekhomsky
L. Nefedova**

Summary. The purpose of this analytical review is to trace the development of ideas about the quantity, functions, and evolutionary role of non-coding DNA from its discovery in the 1940s to the present. In the course of the study, an analysis of scientific articles, monographs, dissertations and final qualification papers devoted to research in the field of genetics and the role of non-coding DNA elements in particular was carried out. The authors of the papers were leading experts in the field of evolutionary genetics, cytogenetics and genomics. Initially, junk DNA was called that part of the human genome that does not have expression, i.e., does not encode proteins. At the moment, it is believed that non-expressing genes occupy 98% of the human genome, and only the remaining 2% have a biological role in the form of encoding amino acid sequences. Since its discovery, it has been assumed that non-coding DNA has no biological role or evolutionary significance. However, with the development of genetics, more and more studies of "junk" elements of the genome appeared, as a result of which their epigenetic, regulatory, and protective functions became obvious. Many hypotheses are still being debated.

Keywords: gene, junk DNA, evolutionary significance, human genome, gene expression.

Цехомский Александр Вячеславович

ФГБОУ ВО «Кубанский Государственный Медицинский
Университет» Минздрава России

Нефедова Лариса Владимировна

К.м.н., доцент, ФГБОУ ВО «Кубанский
Государственный Медицинский Университет»

Минздрава России

aastartov12@mail.ru

Аннотация. Целью данного аналитического обзора — проследить развитие представлений о количестве, функциях и эволюционной роли не кодирующей ДНК от момента ее открытия в 40-х годах прошлого столетия до настоящего времени. В ходе исследования был проведен анализ научных статей, монографий, диссертационных и выпускных квалификационных работ, посвященных исследованиям в области генетики и роли не кодирующих элементов ДНК, в частности. Авторами работ выступали ведущие специалисты в области эволюционной генетики, цитогенетики и геномики. Первоначально мусорной ДНК была названа та часть генома человека, которая не имеет экспрессии, т.е. не кодирует белки. На данный момент считается, что не экспрессирующие гены занимают 98% генома человека, и лишь оставшиеся 2% имеют биологическую роль в виде кодирования аминокислотных последовательностей. С момента открытия полагалось, что не кодирующая ДНК не имеет какой бы то ни было биологической роли или эволюционного значения. Однако, с развитием генетики появлялись все новые исследования "мусорных" элементов генома, в результате которых стала очевидна их эпигенетическая, регуляторная и защитная функции. В отношении многих гипотез по сей день ведутся споры.

Ключевые слова: ген, мусорная ДНК, эволюционное значение, геном человека, экспрессия генов.

Термин "мусорная ДНК" был формализован Сусумо Оно в 1972 году в статье «Так много ненужной ДНК в нашем геноме» («So much «junk» DNA in our genome»; S. Ohno)[2].

Несмотря на то, что термин "мусорная" вызывает недоверие в научном сообществе, так как предполагает ненужность этой части ДНК, и в большей степени рекомендуется использовать обозначение «некодирующая ДНК», термин «мусорная ДНК» по-прежнему используется для тех фрагментов генетического кода, эволюционное значение которых пока не ясно.

Термин был быстро взят в употребление и использовался в научных работах и международных исследованиях. Так, к примеру, в 1980 году в журнале "Nature" Лесли Илизер Орджел и Фрэнсис Крик написали, что

мусорная ДНК имеет «мало специфичности и мало или вообще не имеет избирательного преимущества для организма» [7].

Более того, еще раньше Сусумо Оно слово «мусор» по отношению к некодирующей части генома использовалось в статье в Journal of Ultrastructure Research 1963 г. под названием «Происхождение, развитие и созревание органелл и систем органелл генома клеточной поверхности в парамециях» авторства Чарльза Эрета и Жерара де Халлера (Ehret CF, De Haller G); где используется термин «junk DNA» — «мусорная ДНК» в дословном переводе [9]. То есть термин был известен еще до, как был популяризирован японским генетиком.

Доказательства того, что слова Оно были несколько эксцентричными, а выбранный им термин преувеличи-

вал бесполезность мусорной ДНК, появились не просто сразу. Они существовали еще до популяризации «мусорного» названия. Этот факт легко доказать, перечислив, какие элементы подходят под понятие “мусорная ДНК”

Первыми элементами не кодирующей ДНК, которые были открыты и описаны человеком, стали теломеры. В 1938 г. генетики Барбара МакКлинтон (McClintock B.) и Герман Меллер (Muller H.J.) в двух независимых исследованиях обнаружили [11][12], что линейные хромосомы имеют на концах своих плеч особые структурные образования, которые защищают их от аббераций. Эти структуры в последствии и были названы теломерами. Повреждение или отсутствие теломер приводило к множественным перестройкам и слияниям хромосом. Теломеры построены из единой формы мусорной ДНК и комплексов различных белков. Теломерная ДНК состоит из множественных повторов одной и той же последовательности из 6 пар нуклеотидов — TTAGGG [31].

Таким образом, концевые участки хромосом в значительной степени зависят от ненужной ДНК, геномного материала, который не кодирует белки. Сами по себе теломеры можно было бы посчитать генетическим мусором. Однако, их биологическая функция очевидна и неоспорима. Таким образом, еще за 25 лет до самого термина «мусорная ДНК» появилось обоснование его биологического значения.

Следующими за теломерами, среди эгоистичной ДНК, Барбарой Мак-Клинтон в 1948 были открыты мобильные генетические элементы (МГЭ), получив название транспозоны [13]. Транспозоны — участки ДНК организмов, способные к перемещению (транспозиции) и размножению внутри генома [30]. МГЭ в виде транспозонов присутствуют во всех организмах — бактериях, грибах, растениях и животных, за исключением вирусов. По результатам секвенирования генома человека был сделан вывод, что доля МГЭ составляет около 50% от общего числа последовательностей [15]. Предполагалось, что роль транспозонов ограничивается генным паразитизмом, так как они с большой долей вероятности могли вызывать нарушения в структуре хроматина.

Формально их можно было бы отнести к некодирующей ДНК, если бы не один аспект. Мобильные генетические элементы по типу транспозиции можно разделить на два класса: ДНК-транспозоны и ретротранспозоны. ДНК-транспозоны перемещаются по геному по принципу «вырезать и вставить» благодаря комплексу ферментов, называемых транспозазами. Информация об аминокислотной последовательности белка транспозазы закодирована в последовательности транспозона.

В свою очередь, ретротранспозоны, в частности ДДП-1-ретротранспозоны, содержат информацию, необходимую для кодирования белков-переносчиков БОРС1 и БОРС2. Белки совместно с транспозонной РНК образуют рибонуклеопротеин и возвращаются в ядро для обратной транскрипции ретротранспозона. Отсюда следует, что транспозоны, строго говоря, не являются «некодирующими» элементами, поскольку способны кодировать последовательность ферментов для собственного движения внутри генома. Это не наделяет их значимыми биологическими функциями, хотя таковые у них есть.

При изучении мутаций, возникающих в процессе мейоза в клетках кукурузы, МакКлинтон обнаружила дрейф точки разрыва короткого плеча 9-й хромосомы [13]. Вместе со сдвигом точки разрыва менялась и локализация мутации. Частота миграции мутаций внутри хромосомы напрямую зависела от наличия фактора-активатора (Ac), который, по всей видимости, обладал способностью к транспозиции. Наблюдения МакКлинтон подтвердились в начале 80-х годов с началом эпохи молекулярных исследований. Выяснилось, что блуждающий фактор-активатор (Ac) катализировал активность своего предшественника, который, внедряясь в участок хромосомы, не способен к самостоятельному передвижению. Перемещение предшественника Ac провоцировало фенотипическое появление пятен на кукурузе. Исходя из этого, МакКлинтон сформулировала три основных вывода: 1) мутантное событие, связанное с определенным локусом или геном, может быть связано не с изменением самого гена, а с определенным контролирующим элементом; 2) этот управляющий элемент подвижен, он способен интегрироваться в разные локусы, причем этот мобильный контролирующий элемент не один, а есть группа независимых элементов; 3) мобильный элемент может регулировать характер экспрессии генов в зависимости от времени онтогенеза и тканевой (органной) специфичности [16].

Таким образом была сформулирована и доказана гипотеза о регуляторной и эпигенетической функции транспозонов. Хотя после публикации работ МакКлинтон ее выводы были встречены враждебно сторонниками моргановской генетической теории, которая подразумевала статичность генома, впоследствии было доказано колоссальное влияние транспозонов на процесс транскрипции и сплайсинга — некоторые из этих МГЭ способны выступать в роли энхансеров и промоторов.

У бактерий транспозоны, помимо прочего, выполняют функцию горизонтального переноса генетического материала, т.е. участвуют в конъюгации [17]. Благодаря своей подвижности они способны переносить гены с одной плазмиды на другую или с бактериальной хромо-

сомы на плазмиду, тем самым облегчая перенос генов между бактериями, в том числе генов резистентности к антибиотикам. Применительно к человеку доказано, что многие гены произошли от транспозонов в процессе экзаптации — этот факт окончательно объясняет эволюционное значение эгоистических мобильных элементов ДНК, заключающееся в регуляции экспрессии генов, их рекомбинации и защите. На данный момент изучается способность транспозонов вызывать врожденные пороки развития и влиять на предрасположенность к генетическим заболеваниям. Известны случаи мутаций в соединительных тканях и онкологий, вызванных ретротранспозонами[20]. В случае транспозиции в гамети-ческой ДНК возможны пороки развития у потомков[18].

В ходе эволюции транспозоны сформировали новый класс некодирующих элементов ДНК, называемых интронами.

Интроны были обнаружены Филипом Алленом Шарпом и Ричардом Дж. Робертсом в 1977 году в ходе двух независимых исследований[21][23], которые показали, что эукариотические гены, в отличие от прокариотических генов, содержат последовательности вставки, которые удаляются из пре-мРНК вскоре после транскрипции во время созревания мРНК. Было предложено называть такие вставочные последовательности интронами (INTRAgenic regiON — «внутригенная область»), а разделяемые ими фрагменты гена — экзонами («EXpressed regiON» — «экспрессированная область»). Интроны впервые были обнаружены в генах, кодирующих белок аденовируса, а затем идентифицированы в генах, кодирующих транспортную и рибосомальную РНК. В настоящее время известно, что интроны встречаются в большом количестве генов организмов во всех биологических царствах. Доля интронов в геноме человека трудно идентифицируется и может колебаться в зависимости от расовой принадлежности и факторов среды, однако, принято считать, что интроны занимают около 26% человеческого ДНК[24]. Долгое время они также считались «генетическим мусором», появившимся в результате многочисленных повторов, которые возникли благодаря репликации транспозонов. Наличие интронов в геноме является энергетической нагрузкой для многих клеток, поскольку для транскрипции интронов и их дальнейшего вырезания из пре-мРНК с помощью сложных сплайсосомных механизмов, клеткам может потребоваться много энергии. Сохранение интронов в процессе эволюции можно объяснить только в том случае, если преимущества их наличия превышают негативное влияние на энергетические затраты. Тем не менее, интроны могут давать некоторые преимущества в качестве мутационного буфера в эукариотических геномах, защищая кодирующие последовательности от последствий случайно

возникающих вредных мутаций[25]. Поскольку интроны в среднем намного длиннее экзонов, большинство случайных мутаций в генах приходится на интроны и не влияют на последовательности и функции белков. Правда, остается неясным, в какой степени буферный эффект интронных последовательностей более выгоден с точки зрения эволюционного преимущества над энергетической нагрузкой.

В последнее время во многих исследованиях описаны доказательства преимуществ, приносимых интронами эукариотическим клеткам. В обзоре Jo и Choi «Introns: the functional benefits of introns in genomes» [26] функциональные роли интронов делятся на две категории: прямые (такие как регуляция альтернативного сплайсинга (АС), усиление экспрессии генов, контроль транспорта мРНК или сборки хроматина) и непрямые (например, наличие в интронах связанных с признаком однонуклеотидных полиморфизмов или разных генов некодирующих функциональных РНК; изменение длины интрона в вопросе эффективности естественного отбора).

Основная функция интронов часто связана с возникновением АС: хотя интроны не вносят прямого вклада в протеом, их присутствие само по себе позволяет увеличить потенциально возможное количество белок-кодирующих генных продуктов за счет альтернативного сплайсинга. У многих эукариот, включая млекопитающих, растения, дрожжи и насекомых, интроны могут влиять на экспрессию генов даже в отсутствие сайта связывания факторов транскрипции. Это явление было названо «интрон-опосредованным усилением экспрессии» [29]. Само присутствие интронов влияет не только на скорость транскрипции, но и на стабильность мРНК и ее экспорт из ядра. Более того, интроны также могут повышать эффективность трансляции мРНК.

Систематическое удаление всех известных интронов в генах почкующихся дрожжей указывает на то, что в большинстве случаев клетки с делецией интрона разрушаются из-за истощения питательных веществ быстрее, чем нормальные клетки[25]. Таким образом, интроны оказываются медиаторами клеточного ответа при голодании. Обобщая сказанное выше, сплайсосомные интроны, исторически обозначаемые «мусорной» ДНК, играют важную роль в жизни многих эукариотических клеток, и их фиксация в генах в ходе эволюции уже не вызывает удивления. Эволюция сплайсосомных интронов неразрывно связана с эволюцией экзон-интронной структуры эукариотических генов, которая является предметом длительных и интенсивных научных дискуссий. Хотя основной функцией интронов считается создание потенциала для появления новых вариантов белков, интроны также могут влиять на скорость и эффективность экспрессии генов. Наличие интронов

в генах значительно усложняет не только структуру генома, но и регуляцию связанных с ним процессов, что в конечном итоге создает большую гибкость для приспособления организма и дает достаточно преимуществ перед всеми энергетическими затратами, которые уходят на наличие интронов и их сохранение в процессе эволюции.

Несмотря на популярность теории “мусорной” ДНК, вышеописанные исследования и открытия опровергают ее состоятельность и показывают, как эволюционировали представления ученых о не кодирующей ДНК. Белки, синтезируемые на базе мусорной ДНК часто имеют не прямое, а косвенное фенотипическое проявление, выполняя “служебные” функции в качестве белков-пе-

реносчиков или ферментов. Поэтому использование термина “не кодирующая ДНК” также является частичным заблуждением. Однако, даже если не брать во внимание производимые не кодирующей ДНК белки, она всё равно выполняет важнейшую эволюционную роль, которая проявляется в регуляции экспрессии, рекомбинации и защите генов. На данный момент ведется много исследований относительно роли той части ДНК, которая в прошлом обозначалась в качестве генетического балласта. Современная генетика обнаруживает всё новые корреляции между биологическими процессами в жизнедеятельности организмов и количеством не кодирующей ДНК, исследует ее влияние на эволюцию и возможность использования человеком в медицине и биотехнологии.

ЛИТЕРАТУРА

- Carey, Nessa (2015). *Junk DNA: A Journey Through the Dark Matter of the Genome*. Columbia University Press. ISBN9780231170840.
- Ohno S. So much “junk” DNA in our genome. *Brookhaven Symposia in Biology*. 1972;23:366–370. PMID: 5065367.
- Калмыкова Алла Ивановна. Эволюция и механизмы регуляции экспрессии повторяющихся генов в геноме *Drosophila*: диссертация ... доктора биологических наук: 03.00.26 / Калмыкова Алла Ивановна; [Место защиты: Ин-т биологии гена РАН]. — Москва, 2009. — 169 с.: ил. РГБ ОД, 71 10–3/171
- Р.Н. Мустафин. Взаимосвязь транспозонов с транскрипционными факторами в эволюции эукариот // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2019. Т. 55, № 1. — 2019. — 76 с.: ил., табл.
- “Worlds Record Breaking Plant: Deletes its Noncoding “Junk” DNA”. *Design & Trend*. May 12, 2013. Retrieved 2013–06–04.
- McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge // *Science*. 1984. V. 226. № 4676. P. 792–801.
- Orgel L.E., Crick FH; Crick. Selfish DNA: the ultimate parasite (англ.) // *Nature*. — 1980. — April (vol. 284, no. 5757). — P. 604–607. — doi:10.1038/284604a0. — Bibcode: 1980Natur.284.6040. — PMID7366731
- Davidson E.H., Britten R.J. Regulation of gene expression: possible role of repetitive sequences // *Science*. 1979. V. 204. № 4397. P. 1052–1059.
- Ehret C.F., De Haller G; De Haller. Origin, development, and maturation of organelles and organelle systems of the cell surface in *Paramecium* (англ.) // *Journal of Ultrastructure Research* (англ.)рус.: journal. — 1963. — Vol. 9 Supplement 1. — P. 1, 3–42. — doi:10.1016/S0022–5320(63)80088-X. — PMID14073743.
- Palazzo, Alexander F.; Gregory, T. Ryan (2014). “The Case for Junk DNA”. *PLoS Genetics*10 (5): e1004351. doi:10.1371/journal.pgen.1004351. ISSN1553–7404.
- Драпкина О.М., Шепель Р.Н. Теломеры и теломеразный комплекс. Основные клинические проявления генетического сбоя. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2015;14(1):70–77.
- Müller H. Further studies on the nature and causes of gene mutations. *Proc Sixth Int Congr Genet* 1932; 1: 21355.
- McClintock, Barbara (December 1948) Mutable loci in maize. In: *Annual Report of the Director of the Department of Genetics, Carnegie Institution of Washington Year Book No. 47, 1947–1948*. Carnegie Institution of Washington, Cold Spring Harbor, New York, pp. 155–169.
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Роль мобильных генетических элементов в микроэволюции // *Генетика*. 1992. Т. 28. № 12. С. 5–16.
- Lander Eric S., Linton Lauren M., Birren Bruce. Initial sequencing and analysis of the human genome (англ.) // *Nature: journal*. — 2001. — Vol. 409, no. 6822. — P. 860–921. — ISSN0028–0836. — doi:10.1038/35057062.
- Голубовский Михаил Д. Нестабильность генов и мобильные элементы: к истории изучения и открытия // *Историко-биологические исследования*. 2011. № 4.
- Jeremy W. Dale, Simon F. Park. *Molecular Genetics of Bacteria*. — 4th Edition. — Chichester, West Sussex; Hoboken, N. J.: John Wiley & Sons, Ltd, 2004. — ISBN0–470–85084–1.
- Zamudio N., Bourc’his D. Transposable elements in the mammalian germline: a comfortable niche or a deadly trap? (англ.) // *Heredity: journal*. — 2010. — Vol. 105, no. 1. — P. 92–104. — ISSN0018–067X. — doi:10.1038/hdy.2010.53.
- Rogozin, I. B., Carmel, L., Csuros, M., and Koonin, E. V. (2012) Origin and evolution of spliceosomal introns, *Biol. Direct.*, 7, 11, doi: 10.1186/1745–61507–11.
- Hancks Dustin C., Kazazian Haig H. Active human retrotransposons: variation and disease (англ.) // *Current Opinion in Genetics & Development: journal*. — 2012. — Vol. 22, no. 3. — P. 191–203. — ISSN0959437X. — doi:10.1016/j.gde.2012.02.006.
- Chow, L.T., Gelinas, R.E., Broker, T.R., and Roberts, R. J. (1977) An amazing sequence arrangement at the 5’-ends of adenovirus 2 messenger RNA, *Cell*, 12, 1–8, doi: 10.1016/0092–8674(77)90180–5.
- Поверенная И.В., Горев Д.Д., Астахова Т.В., Цитович И.И., Яковлев В.В., Ройтберг, М.А. (2017) Слайдинг и вариабельность длины интронов для генов, обогащенных длинными интронами фазы 1, *Матем. биология и биоинформ.*, 12, 302–316, doi: 10.17537/2017.12.302.
- Berget, S.M., Moore, C., and Sharp, P.A. (1977) Spliced segments at the 5’-terminus of adenovirus 2 late mRNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 3171–3175.

24. Геном, клонирование, происхождение человека / под ред. Л.И. Корочкина. — Фрязино: «Век 2», 2004. — 224 с.
25. И.В. Поверенная, М.А. Ройтберг, Сплайсосомные интроны: свойства, функции и эволюция(обзор)// Биохимия, 2020, том 85, вып. 7, с. 851–862
26. Jo, B.-S., and Choi, S. S. (2015) Introns: the functional benefits of introns in genomes, *Genomics Inform.*, 13, 112–118, doi: 10.5808/GI.2015.13.4.112.
27. McClintock B. Controlling elements and the gene // *Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 1956. Vol. 21. P. 197–216.
28. McClintock B. Some parallels between gene control systems in maize and in bacteria // *Amer. Natur.* 1961. Vol. 95. P. 265–277.
29. Shaul, O. (2017) How introns enhance gene expression, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 91, 145–155, doi: 10.1016/j.biocel.2017.06.016.
30. Самодуров, С.И. Перспективы использования системы CRISPR/Cas в целях снижения антибактериальной резистентности / С.И. Самодуров // Молодой ученый. — 2019. — № 9(247). — С. 158–161.
31. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J, Ratliff RL, Wu JR. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988 Sep; 85(18):6622–6.
32. The ENCODE Project Consortium., Moore, J.E., Purcaro, M.J. et al. Expanded encyclopaedias of DNA elements in the human and mouse genomes. *Nature* 583, 699–710 (2020).
33. LaRocca TJ, Cavalier AN, Wahl D. Repetitive elements as a transcriptomic marker of aging: Evidence in multiple datasets and models. *Aging Cell.* 2020;19: e13167.

© Цехомский Александр Вячеславович, Нефедова Лариса Владимировна (aastartov12@mail.ru).
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Кубанский Государственный Медицинский Университет