

# Horizontalni prijenos gena u eukariota

---

Vukman, Vana Marta

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:271346>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET U SPLITU  
ODJEL ZA BIOLOGIJU

ZAVRŠNI RAD

**HORIZONTALNI PRIJENOS GENA U EUKARIOTA (engl. *Horizontal gene transfer in eukaryotes*)**

Vana Marta Vukman

Split, rujan 2021.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom doc.dr.sc. Ivice Šamanića, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnika biologije i kemije.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet u Splitu  
Studij: Biologija i kemija  
Odjel za biologiju  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

Završni rad

### **HORIZONTALNI PRIJENOS GENA U EUKARIOTA (engl. *Horizontal gene transfer in eukaryotes*)**

*Vana Marta Vukman*

#### **SAŽETAK**

Koji su sve procesi utjecali na razvoj eukariota kroz evoluciju? Ovaj rad govori o jednom od njih, horizontalnom prijenosu gena u eukariota. Ova vrsta prijenosa gena, za razliku od vertikalnog, omogućila je razvoj živoga svijeta van granice seksualne oplodnje i razmjene gena unutar jedne vrste. Zapravo, genetska informacija prenosi se s organizma koji nije roditeljski te je često pripadnik druge vrste, čime se prenosi dio gena domaćina i uvode se nove osobine u primatelja, postiže se adaptacija na puno raznolikije uvjete kao produkt miješanja gena različitih vrsta. Dok je utjecaj ovoga događaja u prokariota više istraživani i dokazivan, u eukariota je tek u začetku, kao obećavajući alat koji može približiti tajnu razvitka i adaptacije.

**Ključne riječi:** geni, genom, genetička raznolikost, prokarioti, eukarioti

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

**Rad sadrži:** 36 stranica, 13 grafičkih prikaza, 2 tablice, 15 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** **Dr. sc. Ivica Šamanić**, *docent Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*

**Ocjenjivači:** **Dr. sc. Ivica Šamanić**, *docent Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*

**Dr. sc. Željana Fredotović**, *docentica Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*

**Dr. sc. Ana Maravić**, *izvanredna profesorica Prirodoslovnog-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*

Rad prihvaćen: **rujan 2021.**

## Basic documentation card

University of Split  
Faculty of Science  
Study: Biology and chemistry  
Department of biology  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

Bachelor's thesis

### HORIZONTAL GENE TRANSFER IN EUKARYOTES

Vana Marta Vukman

#### ABSTRACT

Which are the processes that influenced the development of eukaryotes throughout evolution? This paper is going to talk about one of them, horizontal gene transfer in eukaryotes. This type of gene transfer, unlike vertical, enabled the development of the living world beyond the limits of sexual fertilization and gene exchange within one species. In fact, genetic information is transmitted from a non-parental organism and is often a member of another species, thereby transferring part of the host and introducing new traits into the recipient. While the influence of this event in prokaryotes has been more investigated and proven, in eukaryotes it is still in its infancy, as a promising tool to unravel the secret of development and adaptation.

**Keywords:** genes, genome, genetic diversity, prokaryotes, eukaryotes

Thesis deposited in library of Faculty of science, University of Split

**Thesis consists of:** 36 pages, 13 figures, 2 tables and 15 references

Original language: Croatian

**Mentor:** *Ivica Šamanić, Ph.D., Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Reviewers:** *Ivica Šamanić, Ph.D., Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*

*Željana Fredotović, Ph.D., Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*

*Ana Maravić, Ph.D., Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

Thesis accepted: **September 2021.**

# IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom

**HORIZONTALNI PRIJENOS GENA U EUKARIOTA (engl. *Horizontal gene transfer in eukaryotes*)**

izradila samostalno pod voditeljstvom doc. dr. sc. Ivice Šamanića. U radu sam primijenila metodologiju znanstveno-istraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način citirala sam i povezala s fusnotama s korištenim bibliografskim jedinicama. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

Studentica

Vana Marta Vukman

## ZAHVALA

Zahvaljujem se svima koji su mi omogućili i olakšali proces pisanja ovog znanstveno-istraživačkog rada, profesorima i profesoricama koji su mi dali potrebne vještine i sposobnosti koje sam iskoristila za pisanje istoga.

Posebne zahvale šaljem svome mentoru doc. dr. sc. Ivici Šamaniću koji je u svakom trenutku pisanja ovoga rada bio spreman pomoći, podržati i unaprijediti moje znanje. Jedno veliko hvala na svom trudu koji je uložio u moj rad, a samim time u mene i moju budućnost.

Na kraju, zahvaljujem i svojoj obitelji, momku i prijateljima na svojoj podršci i osloncu koju su mi pružali kroz svo ovo vrijeme!

# SADRŽAJ

UVOD .....	1
1. ŠTO SU GENI?.....	2
1.1. Tipovi genetskog prijenosa .....	3
1.2. Sličnosti i razlike vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena .....	4
1.2.1. Bitne razlike dvaju prijenosa.....	4
1.2.2. Značaj vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena .....	6
2. HORIZONTALNI PRIJENOS GENA .....	9
2.1.Povijesni pregled upoznavanja sa HGT-om.....	11
2.2.Uloga HGT-a u suvremenoj medicini .....	12
3. HGT MEHANIZAM U PROKARIOTA .....	13
3.1. KONTROVERZNI UTJECAJ HGT KOD EUKARIOTA .....	15
3.2.BAKTERIJSKI GENI U EUKARIOTA.....	18
4. HGT MEHANIZAM U EUKARIOTA .....	21
4.1.POSLJEDICA HGT: OD EVOLUCIJSKE FLEKSIBILNOSTI DO PROGRESIJE BOLESTI .....	24
4.1.1.Posljedice prokariotsko-eukariotske izmjene gena .....	24
4.1.2. Posljedice izmjene gena eukariota posredovane virusima .....	26
4.1.3. Posljedice izmjene gena između eukariota .....	26
5. ZAKLJUČAK I BUDUĆA PERSPEKTIVA ZA HGT .....	30
POPIS LITERATURE .....	32
POPIS SLIKA .....	34
POPIS TABLICA .....	35
SKRAĆENICE .....	36



## **UVOD**

Znanstvenici su oduvijek bili zaintrigirani pitanjem postanka živoga svijeta, i zašto je on onakav kakav je i kako je takvim postao.

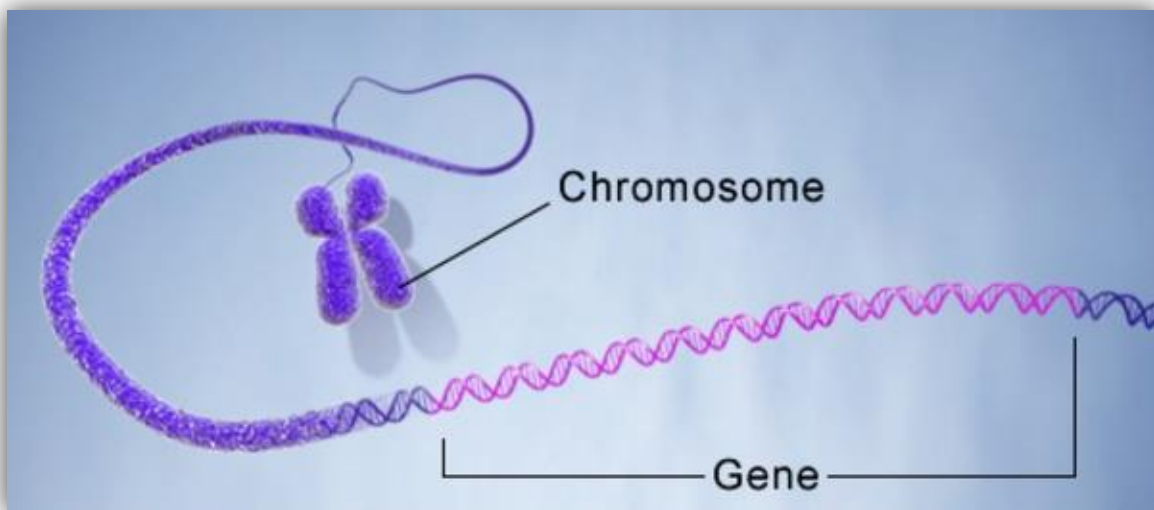
U ovome radu razmotrit ćemo jedan od procesa koji je imao utjecaja u tom pitanju, horizontalni prijenos gena (HGT) u eukariota. Do prijenosa gena dolazi kada genetska informacija biva prenesena s jednog organizma na drugi, a razlikuju se dva načina odvijanja istog: vertikalni i horizontalni prijenos gena. Za razliku od često spominjanog vertikalnog prijenosa gena, u kojem se genetski materijal prenosi s roditeljskog organizma na potomstvo, u horizontalnom prijenosu genetska se informacija prenosi s organizma koji nije roditeljski, te je često pripadnik druge vrste, čime se prenosi dio gena domaćina te uvodi nove osobine u primatelja.

Horizontalni prijenos gena može se odvijati transformacijom, transdukcijom te bakterijskom konjugacijom. Iako utjecaj HGT-a nije priznat i podupiran od svih znanstvenika, u ovome radu se vodimo time da je njegov utjecaj dostatan i postojan. HGT može imati pozitivne i negativne učinke, od razvitka rezistencije na antibiotike neke vrste, do korištenja u genskoj terapiji te objašnjenja sastava i strukture genetskog materijala različitih vrsta.

# 1. ŠTO SU GENI?

Kromosomi su duge molekule koje u sebi sadrže upute s informacijama za funkcioniranje cjelokupnog organizma - gene. Svaka stanica nekog eukariotskog organizma posjeduje tu uputu pohranjenu u samoj jezgri stanice.

Potpuna kolekcija gena jednog organizma naziva se genom, njegova veličina varira u ovisnosti o vrsti, međutim okosnica je ista kod svih živih bića. Gen je odsječak duge molekule deoksiribonukleinske kiseline (DNA) (slika 1), ili u nekih virusa ribonukleinske kiseline (RNA). DNA i RNA izgrađuju građevni blokovi zvani nukleotidi, pri čemu je isti građen od četiri različite podjedinice, zvane baze. Te baze poznate su kao gvanin, citozin, alanin i timin (u molekuli RNA, timin je zamijenjen uracilom). Glavna funkcija gena je prijenos informacija, koju nosi u slijedu nukleotida i do kojeg dolazi izmjenom genetskog materijala. Pohranjene informacije djeluju kao set instrukcija za određivanje osobina nekom organizmu, od njegova izgleda do toga kako se isti ponaša u svojoj okolini te na koji se način adaptira na uvjete koji ga okružuju.



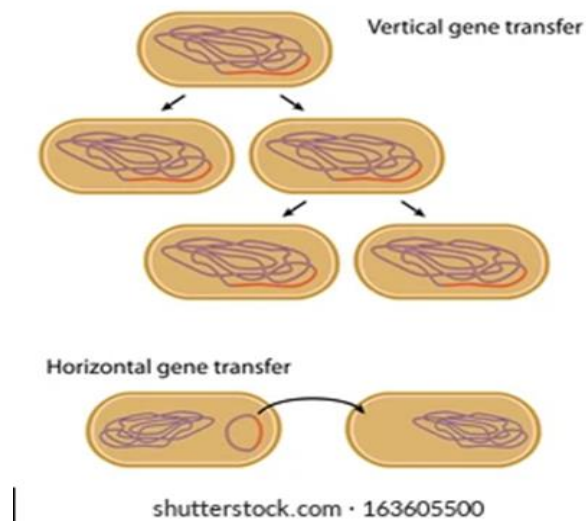
**Slika 1.** Gen kao odsječak DNA (preuzeto sa <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/basics/gene/>)

## 1.1. Tipovi genetskog prijenosa

Izmjena genetskog materijala fleksibilan je pojam koji nije ograničen samo na razmjene unutar iste vrste, već ima slobodu djelovanja i među jedinkama različitih vrsta. Ovaj fenomen zauzima ključnu ulogu u mnogim aspektima života pojedinog organizma, od genetičkih do fizioloških karakteristika, odnosno može pridonijeti adaptaciji i evoluciji različitih vrsta, ali s druge strane može i negativno utjecati na opstanak istih.

Do prijenosa gena dolazi kada genetska informacija biva prenesena s jednog organizma na drugi, a razlikuju se dva načina odvijanja istog: vertikalni i horizontalni prijenos gena (slika 2). Vertikalni prijenos definira se kao prijenos genske informacije s roditeljske generacije na potomstvo i češći je od horizontalnog, u kojem dolazi do prijenosa genetskog materijala između nesrodnih vrsta. Vertikalni i horizontalni prijenos gena dva su mehanizma koja izmjenjuju funkciju gena i organizama, te čine bazu za razvoj genske terapije.

Većina prokariotskih vrsta reproducira se aseksualno. On omogućava bržu produkciju potomstva, no ima ograničenu genetičku raznolikost. Horizontalni prijenos, s druge strane, ima vitalnu ulogu u izražavanju genetske raznolikosti. Horizontalni prijenos također je češći u prokariotskih vrsta od eukariotskih, što je ujedno i tema ovoga rada.



**Slika 2.** Vertikalni i horizontalni prijenos gena u bakterija (preuzeto sa <https://socratic.org/questions/58dd6f867c01491521d49be3>)

## 1.2 Sličnosti i razlike vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena

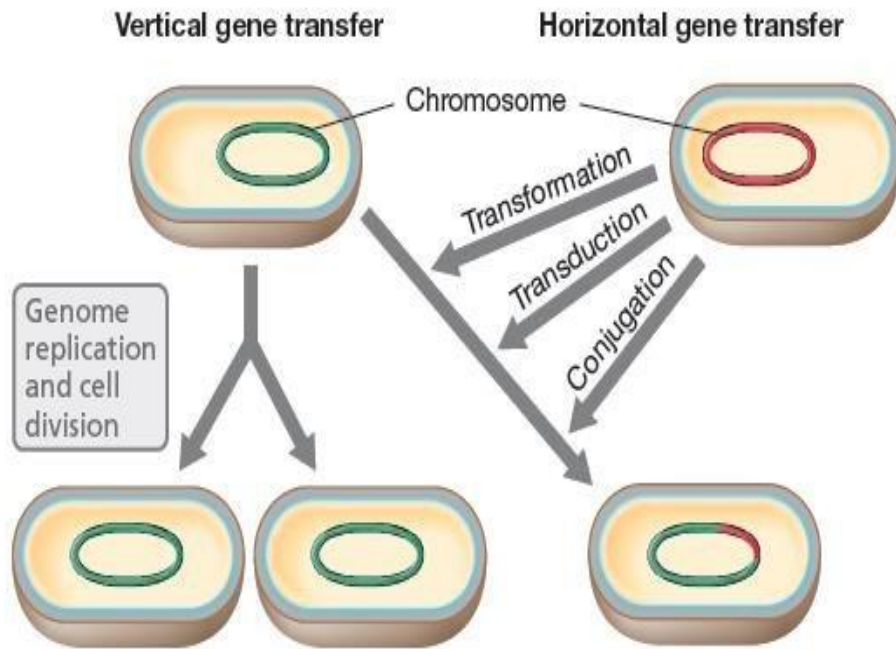
### 1.2.1. Bitne razlike dvaju prijenosa

Glavna razlika vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena, (tablica 1) kao što je prethodno navedeno, da je vertikalni prijenos nasljeđe DNA roditeljskih organizama, a horizontalni prijenos podrazumijeva sticanje DNA od nesrodnih organizama.

**Tablica 1.** Glavne razlike vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena

<b>VERTIKALNI GENSKI PRIJENOS</b>	<b>HORIZONTALNI GENSKI PRIJENOS</b>
Transmisija genskog materijala s roditeljskog organizma na potomke	Stjecanje genetske informacije prijenosom gena s organizma koji nije roditeljski te je često pripadnik druge vrste
Prijenos s roditeljske jedinice na potomstvo	Prijenos između nesrodnih organizama
Odvija se preko seksualne ili aseksualne reprodukcije	Odvija se preko transformacije, transdukcije, bakterijske konjugacije
Prenosi se cijeli genom	Prenosi se dio gena
Odgovoran za nasljeđivanje roditeljskih osobina na potomstvo	Uvodi nove osobine u odraslih organizama

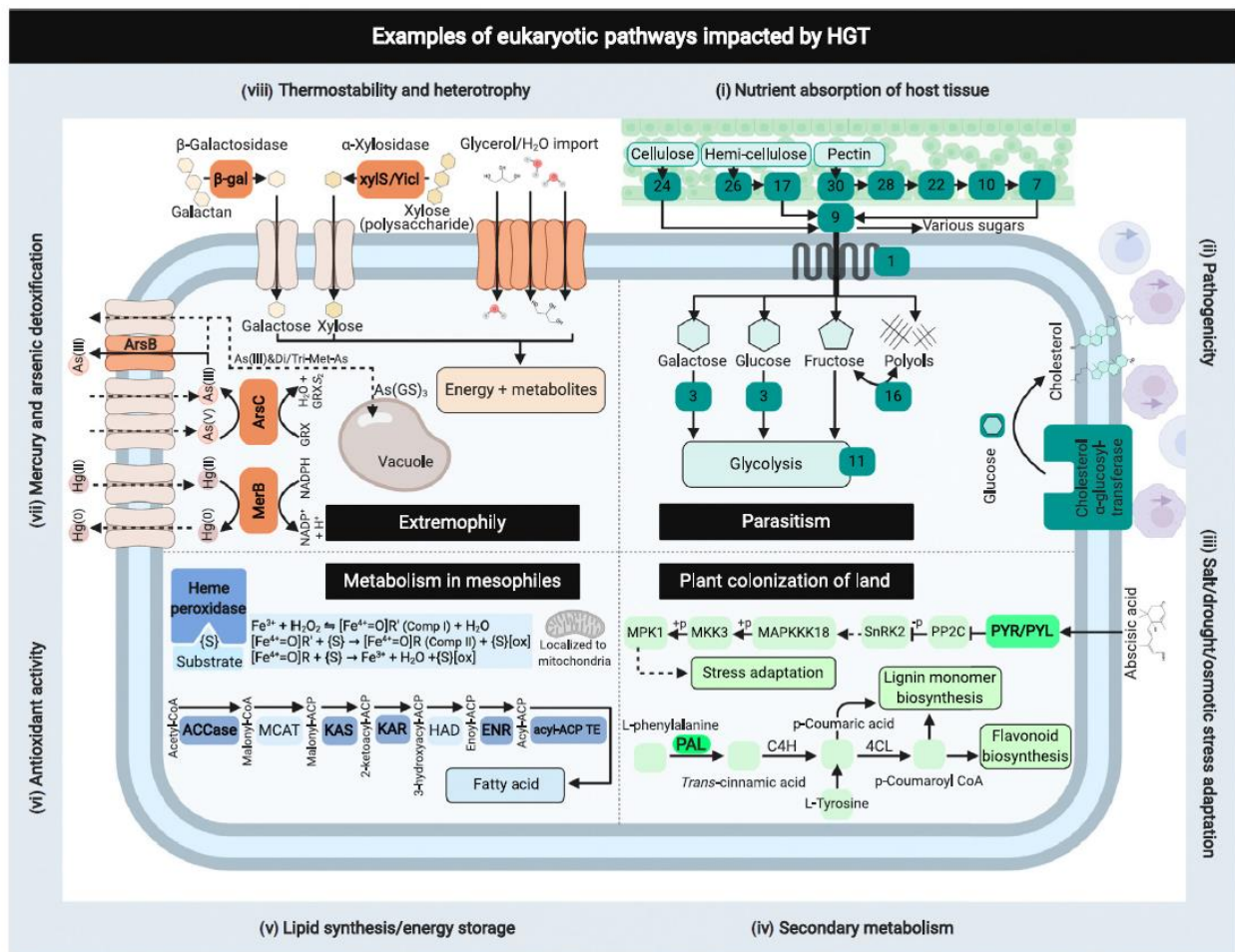
Vertikalni prijenos gena odvija se putem reprodukcije, a horizontalni se može odvijati transformacijom, transdukcijom te bakterijskom konjugacijom (slika 3).



**Slika 3.** Vrste vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena (preuzeto sa [https://www.researchgate.net/figure/Difference-between-Horizontal-gene-transfer-and-Vertical-gene-transfer\\_fig9\\_274708754](https://www.researchgate.net/figure/Difference-between-Horizontal-gene-transfer-and-Vertical-gene-transfer_fig9_274708754)<https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-vertical-and-horizontal-gene-transfer/>)

## 1.2.2. Značaj vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena

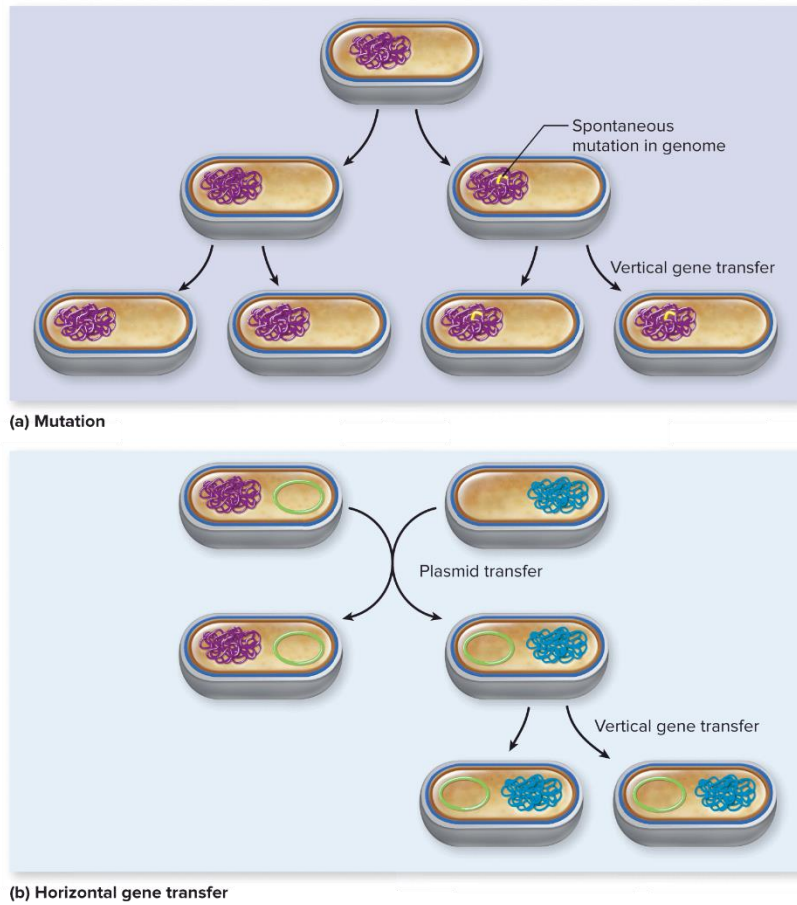
Vertikalni i horizontalni prijenos gena dva su temeljna načina prijenosa genetičkog materijala među organizmima te su uključeni u prijenos funkcionalnih gena, koji ispoljavaju definirane karakteristike u primatelja. Najupečatljiviji primjeri HGT-a koji pružaju adaptivne funkcije nalaze se u organizmima koji zauzimaju novu nišu, osobito onu u kojoj njihovi najbliži filogenetski srodnici nisu mogli preživjeti.



Slika 4. Glavni metabolički putevi u eukariotskoj stanici adaptirani utjecajem HGT prijenosa <sup>1</sup>

Slika 4. prikazuje neke od adaptacija i gena stečenih u različitim algi i protista kao rezultat HGT-a te uključene metaboličke puteve. U gornjem desnom kutu obuhvaćen je parazitizam (i): shema pokazuje kako su oomiceti sposobni koristiti i izvanstanične i unutarstanične enzime dobivene putem HGT-a za razgradnju biljnih polisaharida u molekule kompatibilne s njihovim vlastitim mehanizmima stvaranja energije. Patogenost (ii): proces  $\alpha$ -glukozilacije kolesterola dovodi do izbjegavanja imunološkog odgovora domaćina od strane *Blastocystis* sp.. Donji desni kvadrant: kolonizacije zemljišta biljkama. Ovaj prikaz pokazuje dva metabolička puta s enzimima izvedenim iz HGT-a koji su biljkama omogućili kolonizaciju zemlje. Prilagodba na sol/sušu/osmotski stres (iii): put koji ističe protein PYR/PYL (pretpostavljeni HGT) kao mogući doprinositelj terestilizaciji biljaka (prikazana je KEGG mapa, engl. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, u *Arabidopsis thaliana*, koji ovaj protein stavlja u put povezan s prilagodbom na stres). Sekundarni metabolizam (iv): u ovom putu je PAL uključen kao enzim izveden procesom HGT-a iz pretka kopnene biljke i ima ulogu u metabolizmu fenilpropanoida. Donji lijevi kvadrant prikazuje metabolizam u mezofilima. Ovo područje pokazuje dva metabolička puta s adaptacijama posredovanim putem HGT-a u mezofilima. Prvi je sinteza lipida/skladištenje energije (v): ovaj put prikazuje put sinteze masnih kiselina u *Nannochloropsis oceanica* IMET1. Drugi se odnosi na antioksidativno djelovanje (vi): ovaj put prikazuje funkciju hem peroksidaze. Ovaj gen izveden iz HGT-a u genomu *Ulva mutabilis* podvrgnut je ponovljenim duplikacijama. Gornji lijevi kvadrant: pokazuje više metaboličkih puteva povezanih s preživljavanjem u ekstremnim okruženjima (ekstremofilni organizmi). Detoksikacija žive i arsena (vii): putevi pokazuju enzime izvedene iz HGT-a u ekstremofilnoj vrsti crvene alge *Galdieria* za detoksikaciju Hg i As. Termostabilnost i heterotrofilija (viii): aktivnost  $\beta$ -galaktozidaze, termostabilnu aktivnost  $\alpha$ -ksilozidaze i transporter glicerola, svi su putevi povezani s metabolizmom ugljika<sup>1</sup>.

I vertikalni i horizontalni prijenos gena mogu povećati genetičke varijacije (slika 5) te su temelj za suvremenu gensku terapiju.



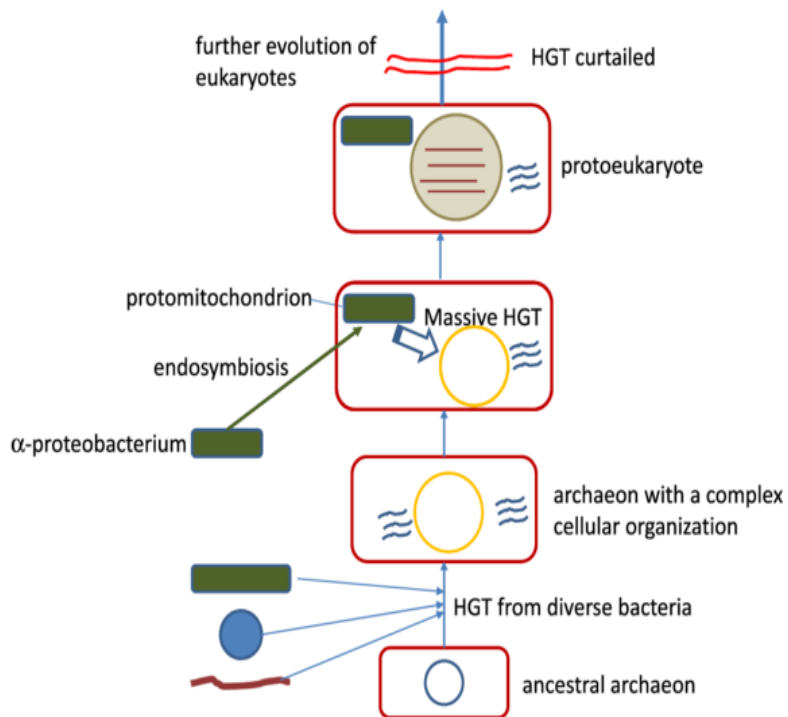
**Slika 5.** Bakterije se mogu adaptirati prenošenjem korisne mutacije na potomstvo ili horizontalnim prijenosom plazmida iz druge vrste (preuzeto sa <https://in.pinterest.com/pin/419679259024149466/>).



## 2. HORIZONTALNI PRIJENOS GENA

Horizontalni prijenos gena (HGT) ili drugim imenom lateralni prijenos gena, proces je nelinearnog kretanja genetskog materijala kroz široku paletu živoga svijeta, koja rezultira u većoj adaptivnoj raznolikosti nekog organizma te može dovesti do promjene načina života ili opstanka u vrlo promjenjivim okruženjima. Mobilnost genetičkog materijala između različitih organizama dinamičan je i ustrajan fenomen koji može imati neposredne i odgođene posljedice u domaćina<sup>2</sup>. Do nedavno se smatralo kako je ovaj proces ograničen samo na bakterije i jednostanične eukariote, ali tu misao opovrgavaju današnja istraživanja koja pripisuju veliku važnost prijenosa HGT za životinjsku i čovjekovu evoluciju i razvoj<sup>3</sup>. Iako je HGT mnogo češći u bakterija, može se također odvijati između drugih organizama tako što su bakterije donori<sup>4</sup> dok, gljive, biljke te životinje imaju ulogu primatelja<sup>1</sup>. Za sustav krvne grupe AB0 smatra se da svoje porijeklo pronalazi u bakterijskim stanicama koje su upravo ovim procesom transformirane<sup>1</sup>.

Ovaj proces od velike je zanimljivosti zbog funkcionalnih inovacija koje organizam stječe kada dio genetskog materijala drugog organizma ukomponira u vlastiti, bez da je došlo do oplodnje (slika 6). To je svakodnevni događaj koji se ukorijenio u svim domenama života, međutim, većina prenesenih gena i adaptacija su trenutne, odnosno nisu prenesene na novu generaciju. Na primjer, geni koji su se ugradili u somatsko tkivo višestaničnog organizma mogu biti izgubljeni već u sljedećoj generaciji. HGT je dobro proučen u prokariota, geni se lako izmjenjuju između različitih bakterijskih i arhealnih stanica, bilo prikupljenih iz okoliša ili preneseni od vektora kao što su virusi, plazmidi, čestica koje posreduju prijenosu gena (engl. *gene transfer agents*, GTA). Zbog jednostanične ili aseksualne prirode ovih stanica, jednom kad je novi gen integriran u genom, može biti raširen kroz populaciju. S druge strane, HGT u eukariota je puno rjeđi te je njegova uloga u adaptivnoj evoluciji fokus mnogih nedavnih istraživanja, uključujući i neke koje su danas pod velikim upitnikom.



**Slika 6.** Eukariogeneza i horizontalni prijenos gena (preuzeto sa [https://www.researchgate.net/figure/Eukaryogenesis-and-horizontal-gene-transfer-The-figure-presents-the-endosymbiotic\\_fig1\\_305644463](https://www.researchgate.net/figure/Eukaryogenesis-and-horizontal-gene-transfer-The-figure-presents-the-endosymbiotic_fig1_305644463))

## 2.1. Povijesni pregled upoznavanja sa HGT-om

Dugoživci (*Tardigrada*), ili vodeni medvjedići, mikroskopska su bića s osam nogu. Od posebnog su interesa za znanstvenike zbog svoje sposobnosti tolerancije ekstremnih uvjeta s kojima se svakodnevno suočavaju. Godine 2015. istraživački tim uspio je izolirati sekvencu genoma ove životinje, što je ukazalo na to da je jedna šestina genoma dugoživaca porijeklom od bakterija, biljaka, gljiva i arheja<sup>5</sup>. S vremenom, strani geni su se ukomponirali u genom dugoživca te su omogućili životinji bolju prilagodbu na uvjete kojima je okružena. Poznato je da bakterije preživljavaju u zahtjevnim uvjetima tako što ugrađuju DNA drugih organizama u vlastiti<sup>5</sup>.

W. Ford Doolittle (1998) postavio je pitanje o broju bakterijskih gena u protista smatrajući kako se veliki broj bakterijskih gena akumulirao u genom protista kroz aktivnost prehranjivanja<sup>6</sup>. U to vrijeme, horizontalni prijenos gena (HGT) smatran je kao mehanizam stjecanja stranog genetskog materijala u prokariota, dok je u eukariota bio samo egzotični koncept bez stvarnih dokaza. S današnjom spoznajom jasno je da je došlo do odvijanja horizontalnog prijenosa gena u svim eukariotskim linijama. Iako tvrdnja da do HGT-a dolazi i u eukariota je dan danas suočena sa skepticizmom, no dokazi za odvijanje istog obilni su i u porastu.

Godine 2015. Crispetal<sup>5</sup> izvijestio je kako njihovi eksperimenti i filogenetska analiza dokazuju da je 145 stranih gena adirano u ljudski genom kroz evolucijski period genoma. Dvije godine kasnije Salzberg dokazuje kako je ljudski genom inkorporirao samo mitohondrijske gene te retroviralne vektore. Dokazana je involviranost HGT-a u evoluciji bakterijskog genoma, oštećenju genoma, otpornosti na antibiotike, virulenciji te adaptaciji na stresore okoliša<sup>7</sup>. HGT se obično odvija između jedinki koje se nalaze u zatvorenom i centraliziranom okolišu. Mogućnost odvijanja HGT-a povećava se što je manja udaljenost donora i primatelja<sup>8</sup>. Rezultati filogenetske analize i sekvencioniranja eukariotskih jezgrenih genoma pokazali su da informacija promijenjena putem HGT-a može djelovati na široki raspon i raznolikost gena. U skladu s tim, proizlazi zaključak kako je HGT esencijalan za evoluciju kako prokariota tako i eukariota.

## **2.2.Uloga HGT-a u suvremenoj medicini**

Novo otkriveni HGT medijatori u stanicama sisavaca, uključujući vezikularne čestice (engl. *vesicular elements, EVs*), apoptotična tijela i stanice bez DNA<sup>5</sup> (engl. *cell-free DNA, cfDNA*) uključeni su u različitim stupnjevima razvoja raka te njegove progresije, kao i otpornost na lijekove protiv raka i neuspješno liječenje. Dublje razumijevanje uzroka i posljedica otvorilo bi nove horizonte za proučavanje ljudskih genetskih, metaboličkih i neurodegenerativnih bolesti te može biti od pomoći za translacijsku medicinu kroz učinkovnije dijagnoze i terapijske opcije.

### **2.2.1. Primjer u ljudskoj biologiji**

Korištenje antibiotika u ljudskoj medicini i poljoprivredi neprekidno selektira otporne bakterije. Na primjer, tetraciklin i  $\beta$ -laktami kojima se uobičajeno hrani životinje pruža selektivno okruženje za tetraciklinsku i meticilinsku otpornost. Geni koji daju otpornost na te antibiotike horizontalno su preneseni u osjetljivi, s ljudima povezani, soj što je rezultiralo sojem koji je otporan na meticilin, CC398. Nakon što soj stekne otpornost putem HGT-a, bakterije se razmnožavaju i nastavljaju se prenositi između pacijenata unutar bolnica. Ovaj proces se događa među mnogim bakterijskim sojevima što dovodi do raznovrsne populacije i raznolikih sojeva poput USA300.

### 3. HGT MEHANIZAM U PROKARIOTA

Genetski prijenos posredovan bakterijskim virusima (bakteriofazima) prvenstveni je pokretač rapidne bakterijske evolucije. Prioritet virusa obično je vlastito razmnožavanje. Većina bakteriofaga koriste protein malu terminazu da identificiraju vlastiti genom i da usmjere njegovo uključivanje u fagne kapside. GTA (engl. *gene transfer agents*) čestice koje posreduju u prijenosu gena potječu od bakteriofaga, ali oni umjesto toga pakiraju fragmente čitavoga bakterijskog genoma bez prioriteta za vlastite gene.

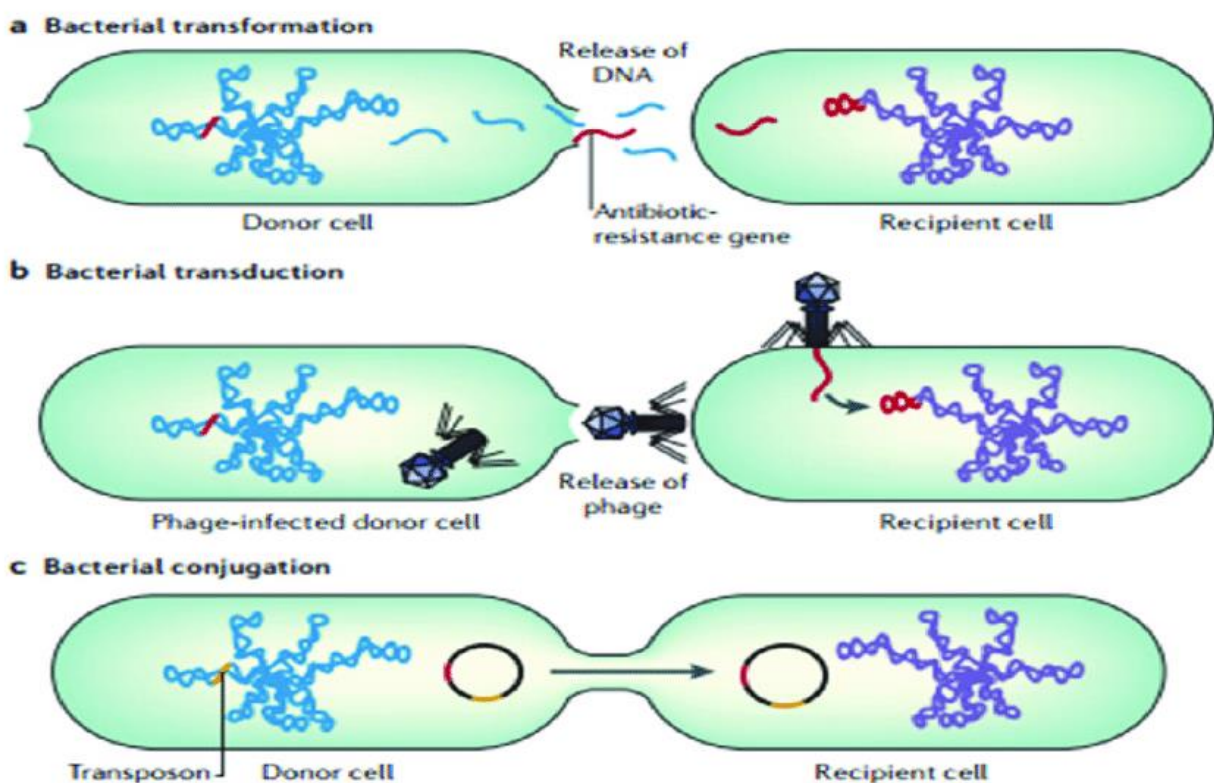
U prirodi, osnovni mehanizmi preko kojih se HGT odvija su transformacija, transdukcija, te konjugacija (slika 7). Osim toga, postoje i drugi mehanizmi koji uključuju posredovanje u prijenosu gena (GTA), nanocjevčice, i membranske vezikule (engl. *membrane vesicles, MV*)<sup>5</sup>. Prema tome, produkcija rekombinantne DNA može biti postignuta preko direktne transformacije DNA ili RNA od donora i naknadno integriranje stranog genetskog materijala u genom stanice primatelja. Ovaj fenomen odvija se u širokom spektru bakterijskih vrsta i zaslužan je za prijenos pokretnih genetskih elemenata kao što su transpozoni, integroni, i/ili genskih kazeta između bakterijskih vrsta. U međuvremenu, kao prirodni sistemi kloniranja i vektori ekspresije gena, integroni su iskorišteni kao samostalni mehanizmi za prijenos gena između mnogih bakterijskih vrsta, koji omogućava akceptoru da stekne, nosi i izražava gene otporne na antibiotike<sup>5</sup>. Valja napomenuti kako je horizontalni prijenos preko integrona najbitniji način širenja gena za antibiotsku rezistenciju između bakterijskih sojeva. Dodatno, sposobnost selektivnog prijenosa rezistentnih gena potiče evoluciju bakterijskog genoma, a samim time i sposobnost adaptacije promjenama u okolišu<sup>5</sup>.

Slično tome, transdukcija se odvija kada bakteriofag prenosi dio bakterijske genetske informacije s jedne bakterije na drugu. U procesu konjugacije, potpuna sekvenca DNA, plazmid, je prenesen između bakterijskih stanica putem direktnog prijenosa preko konjugirajućih pilusa, za koje je dokazano da su učinkovit proces za prijenos genetskog materijala<sup>5</sup>.

GTA čestice slične bakteriofazima su prirodni vektori. Izmijena gena preko GTA prvi put je demonstrirana u ljubičastoj fotoautotrofnoj bakteriji *Rhodobacter*<sup>5</sup>. Neke bakterije stvaraju GTA za prijenos nasumičnih dijelova bakterijskog dijela DNA domaćina u stanicu primatelja. Prijenos

gena preko nanocijevčica i egzosoma su novootkriveni medijatori HGT posredovanja, gdje transfer genetskog materijala nadilazi samu DNA<sup>5</sup>.

Nanocijevčice sastavljene od membrana nalik na bakterijske mogu premostiti susjedne stanice za lakšu razmjenu metabolita, proteina, mRNA, i plazmidne DNA. Mehanizam prijenosa uključuje stvaranje mreže tubularnih cijevi, koja omogućuju prijenos citoplazmatskog sadržaja<sup>5</sup>. Membranske vezikule (engl. *membrane vesicles, MV*), kao dvoslojne strukture, dokazano prenose biomolekule između bakterija u očuvanom obliku, kako bi vjerojatnost uspješnog prijenosa gena bila viša<sup>5</sup>.



**Slika 7.** HGT mehanizmi u bakterija (preuzeto sa [https://www.researchgate.net/figure/Horizontal-gene-transfer-between-bacteria-Adopted-from-Furuya-Lowy-42\\_fig1\\_338527769](https://www.researchgate.net/figure/Horizontal-gene-transfer-between-bacteria-Adopted-from-Furuya-Lowy-42_fig1_338527769))

### 3.1. KONTROVERZNI UTJECAJ HGT KOD EUKARIOTA

Horizontalni prijenos gena u eukariota suočen je sa skepticizmom velikog broja znanstvenika, koji odbacuju tvrdnje da je isti uvelike utjecao na razvoj eukariotskog genoma, već zauzimaju stajalište da je njegov utjecaj neznatan. U idućem ulomku ću predstaviti i jedno od njihovih mišljenja prema HGT-u, koje navodi kako u eukariota ne postoji jasno objašnjenje mehanizma za izravnu horizontalnu izmjenu gena između vrsta. Obilni izvještaji o HGT-u između eukariota su nedostadni ili nepostojeći. Iako je za carstvo gljiva poznato da uvjetno mijenjaju nepotrebne cijele kromosome što može utjecati na njihovu patogenost, to je izgleda ograničeno na sojeve istih ili usko povezanih vrsta<sup>9</sup>.

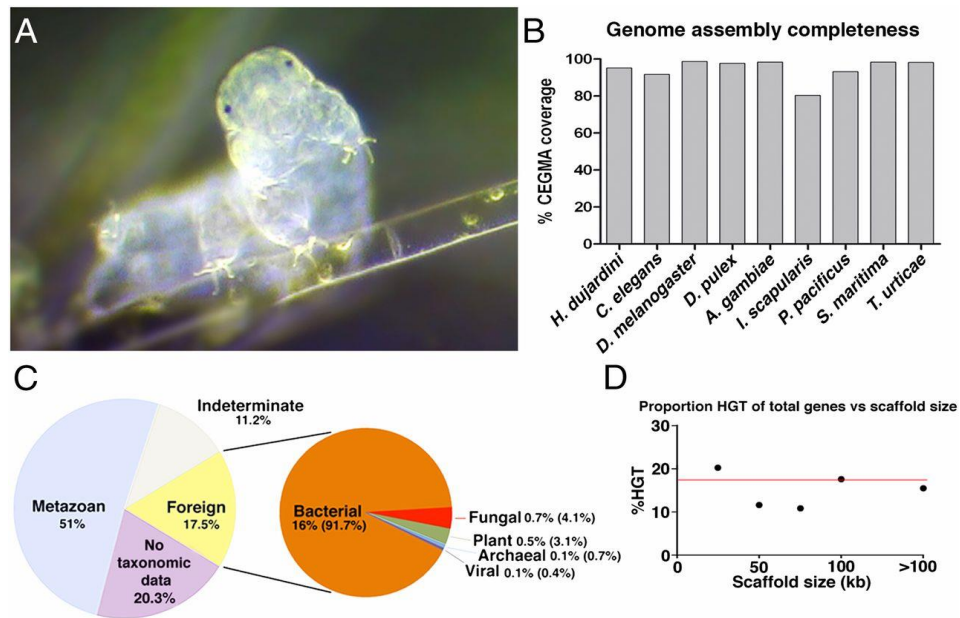
HGT između prokariota i eukariota intuitivno se čini još manje izravnim. Prokariotski geni podliježu transkripcijskim i translacijskim kontrolama koje su prilično drugačije od onih u eukariotskim genima. Stoga, i da su prokariotski geni bili uspješno integrirani u eukariotskom genomu, funkcionalna integracija bi predstavljala problem. Ove komplikacije su pojačane u podcarstvu metazoa, u kojih je zametna linija obično odvojena od ostatka stanica. Gen prikupljen od eukariota ne bi imao mogućnost biti uklopljen na razinu populacije ili vrste ako nije bio prenesen na iduću generaciju putem integracije u zametnu liniju. Analiza somatskih ljudskih uzoraka sugerira da je zasebna zametna linija stroga barijera za HGT<sup>9</sup>.

Za glavnu kontroverzu autori uzimaju primjer dugoživca (slika 8). U početnoj analizi nacрта genoma dugoživca bilo je predstavljeno da je HGT doprinio za čak 17% genskog seta<sup>9</sup>. Iako je ova brojka daleko manja od one kojom HGT utječe na genom prokariota, ovo je predstavljalo najveću proporciju gena za koju je uočeno da je stečena horizontalnim prijenosom u životinje do tada. Ubrzo nakon toga, izašlo je drugo istraživanje samostalnog genoma koje je opovrgnulo prvotnu teoriju te je predložilo teoriju u kojoj je postotak horizontalno prenesenih gena u dugoživaca 1-2% te da je na tu ogromnu razliku utjecala bakterijska kontaminacija koja je greškom pripisana genima stečenim HGT-om. Treća analiza, u kojoj su dugoživci prethodno tretirani s antibioticima te izgladnjivani prije sekvenciranja, i u kojoj su zaostale kontaminacije uklonjene, zaključila je da je HGT pridonjeo genskom setu u granicama od 4-5%. Do danas, drugi najveći nalaz pridaje 8-9% utjecaja HGT-a u rotifere *Bdelloidea*, s istom količinom

nesigurnosti kao i kod dugoživaca<sup>9</sup>. Tako i dalje ostaje nejasno od kolikog značaja je HGT prokariotskog podrijetla za razvitak eukariotskog genskog seta.

S druge strane, iako koncept pan genoma oblikovan putem HGT-a i diferencijalni gubitak gena ne vrijedi kao opće pravilo kod eukariota, ovo ne znači nužno da je HGT između prokariota i eukariota beznačajan za njihovu biologiju. Jedan od jasnijih dokaza dolazi od istraživanja odnosa između biljaka, parazitskih oblića i insekata<sup>9</sup>. Ove vrste životinja su stekle cijeli set enzima od bakterija koji im omogućavaju razgradnju stanične stijenke stanica u biljci, kao i druge biljne poli- i oligo-saharide da izbjegnu obrambene mehanizme biljke. Iako ovo stjecanje gena ne pridonosi velikom udjelu njihovog genskog seta, odigrava iznimno važnu ulogu u biologiji vrste. U oblića, ovi se geni transkribiraju u sekretornim organima. Enzimi pronađeni u sekreciji oblića i inaktivacija gena putem RNA interferencije smanjuje efikasnost parazitizma, te za potrebe pisanja ovoga rada vodim se mišljenjem da je HGT prokariota značajnije doprinio razvitku i evoluciji eukariotskog genoma.

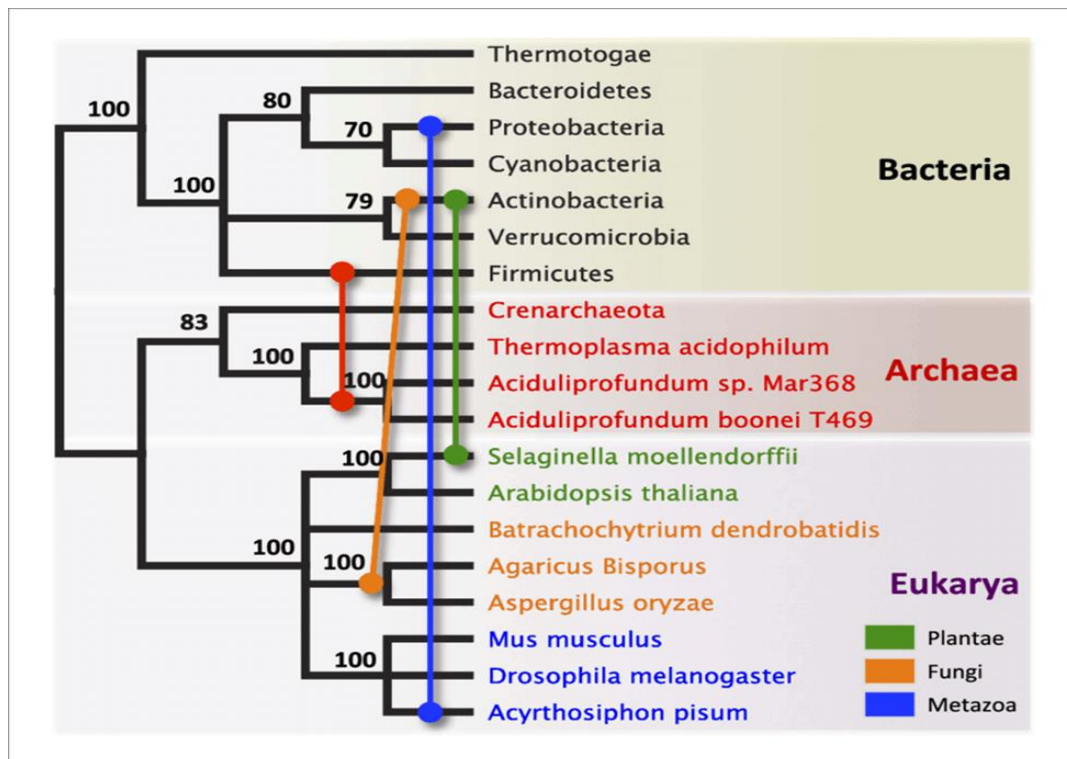




**Slika 8.** Utjecaj HGT na strukturu i sastav genoma dugoživca. *H. dujardini*. (A) Slika *H. dujardini* svjetlosnim mikroskopom. (B) Postotak pokrivenosti (potpuna+djelomična) jezgrenih eukariotskih gena u *H. dujardini* genomu, kao i sklopovi genoma nedavno sekvencioniranih modelnih organizama: *Anophelesgambiae*, *Daphniapulex*, *Ixodesscapularis*, *Pristionchuspacificus*, *Strigamiamaritime*, *Tetranychusurticae*. (C) Porijeklo gena u *H. dujardini* genomu određeno pomoću kalkulacije HGT indeksa metodom *Galaxy tools taxonomy extraction*. (D) Učestalost horizontalno prenesenih gena u odnosu na ukupan broj gena prema skali veličine genoma *H. dujardini*. Crvena linija ukazuje na proporciju HGT gena u ukupnom sastavu (17.5%) (preuzeto sa <https://www.pnas.org/content/112/52/15976>).

### 3.2.BAKTERIJSKI GENI U EUKARIOTA

Bakterijski geni u eukariota (slika 9); koliko ih je zapravo staničnog porijekla? S obzirom kako barijere za HGT očito nisu nepremostive, možemo proučiti postojeće podatke za približiti broj HGT izvedenih gena u eukariota. Poznato je da eukariotski genom sadrži mnoge bakterijske gene<sup>6</sup>. Zbog proteobakterijskog i cijanobakterijskog podrijetla mitohondrija i plastida, ti geni se zapravo smatraju mitohondrijskog ili plastidnog podrijetla<sup>6</sup>. Doista, filogenetska analiza 185 genoma raznih domena života otkrile su da najjači filogenetski signali dolaze od cijanobakterija, proteobakterija te arhebakterija<sup>6</sup>. Ovo se pripisuje plastidima, mitohondrijima ili arhejama koje su vjerojatno bile umiješane u postanak eukariotskih stanica. Međutim, jaki signali se također javljaju od različitih proteobakterijskih grupa (16.7%) kao i različitih drugih bakterija (13.8%), što postavlja pitanje: koliko je preostalih bakterijskih gena zapravo od mitohondrijskog ili plastidnog podrijetla?



**Slika 9.** Vremenski slijed HGT događanja (preuzeto sa [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-HGT-events-Bayesian-phylogeny-based-on-the-16S-rRNA-gene-from-selected-taxa\\_fig2\\_330684464](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-HGT-events-Bayesian-phylogeny-based-on-the-16S-rRNA-gene-from-selected-taxa_fig2_330684464))

Može se tvrditi da su brojni bakterijski geni proizašli od mitohondrija ili plastida. Prokariotski genom karakteriziran je stalnim prikupljanjem i gubljenjem gena. S vremenom, takva fluidnost može izbrisati proteobakterijske i cijanobakterijske otiske staničnog gena. Ovaj scenarij nije nezamisliv, posebno ako je preteča mitohondrija ili plastida bila filogenetski bazalna do postojećih proteobakterija ili cijanobakterija. Stoga, samostalna homologna zamjena ili u endosimbiotskom pretku ili u sestrinskom taksonu mogla bi u potpunosti izbrisati istinski filogenetski identitet gena izvedenog iz organela<sup>6</sup>. Fluidni prokariotski genomi, međutim, izgleda da nisu toliko značajan problem za identifikaciju gena izvedenog iz plastida. Većina funkcionalnih gena u plastidnom genomu su ili blisko povezani ili vrlo slični cijanobakterijskim sekvencama, usprkos dokazima za mogući HGT u cijanobakterijskom pretku plastida<sup>6</sup>. Slično tome, cijanobakterijski markeri najjači su od svih bakterijskih gena u eukariota, iako su neki geni izvedeni iz plastida brzo evolvirali kao posljedica funkcionalnog odvajanja od plastida. Stoga, sumnjivo je da bi fluidnost prokariotskih genoma mogla biti odgovorna za sve ili većinu gena drugog bakterijskog podrijetla.

Argument da su svi ili većina bakterijskih gena u eukariota staničnog podrijetla je sam po sebi povezan s dinamičkim prijenosom DNA od organela do jezgre<sup>6</sup>. Tijekom evolucije mitohondrija i plastida, mnogi stanični geni su bili ili postepeno izgubljeni ili preneseni u jezgru<sup>6</sup>. Organelarni prijenos gena (engl. *organelle gene transfer*, OGT) doveo je do ugradnje brojnih organelarnih gena u jezgreni genom. Međutim, rijetko je spominjano kako je prijenos funkcionalnih gena od mitohondrija ili plastida do jezgre ograničene genskim fondom ovih organela. Sadržaj gena stečen od mitohondrija i plastida u bilo kojem eukariotskom genomu mora biti manjeg broja od originalnog sadržaja gena proteobakterijskog i cijanobakterijskog predka. Premda je stalni prijenos DNA od organela do jezgre demonstriran eksperimentalno, funkcionalni geni su rijetko bili uključeni<sup>6</sup>. Suprotno tome, česti gubitak gena tokom organelarne evolucije, koji se odvija samostalno ili kao rezultat organelarnog prijenosa, doveo je do smanjenja prenosivog genetskog fonda u organelarnom genomu. Znatne redukcije genoma su zajednička obilježja mnogih endosimbionta, bakterija, ili eukariota. Iako skala izgubljenih gena naspram prijenosa u jezgru nije u potpunosti jasna, gubitak organelarnih gena može biti značajan u određenih organizama. Npr, ogroman gubitak organelarnih gena je posebno vidljiv u *Apicomplexa* (koljeno parazitskih

Alveolata), gdje su mitohondrijski i plastidni genomi značajno reducirani ili u potpunosti izgubljeni. Njihovi stanični genomi, sa genima koji su vjerojatno potekli od pet genoma (uključujući plastidni, mitohondrijski te jezgri genomi endosimbiontskih algi), nekad sadrže manje od 4,000 gena<sup>6</sup>. Jednom kada je gen izgubljen iz organelarnog genoma, vjerojatno je izgubljen zauvijek osim ako je homolog ponovno prenesen iz drugog izvora, što je vrlo rijetki fenomen. S vremenom, genski fond dostupan za organelarni prijenos gena postaje sve manji. U ovom smislu, OGT proces predstavlja zatvoreni sustav; na kraju će doseći kraj ulice kada prijenosni genski fond bude iscrpljen. Iako ovo ne smanjuje značenje OGT procesa u eukariotskoj evoluciji genoma, također sugerira da mitohondrijima i plastidima ne treba davati neograničenu moć pri objašnjavanju svih bakterijskih gena u eukariota. U odnosu na OGT, HGT predstavlja otvoreni sistem, koji teoretski omogućuje stjecanje gena iz gotovo neograničenih izvora. S obzirom na posljednje ograničenje procesa OGT, mnogi geni bakterijskog podrijetla mogu biti barem jednako objašnjeni mahanizmom HGT-a. Važna stavka je da veliki broj proteobakterijskih i cijanobakterijskih gena u eukariota podupire opažanje kako su proteobakterije i cijanobakterije najčešći endosimbionti u mnogim eukariotskim grupama. U drugim slučajevima, mogli su biti sekundarno izgubljeni, ostavljajući samo svoje gene u jezgri domaćina. Da su slični proteobakterijski endosimbionti postojali tijekom rane eukariotske evolucije, bilo bi skoro pa nemoguće razaznati njihov filogenetski otisak od onog koji dolazi od mitohondrijskog.

## 4. HGT MEHANIZAM U EUKARIOTA

Prokarioti su mali, jednostanični ili filamentozni organizmi koji ne posjeduju jezgru, imaju krute stanične stijenke koje ih štite od vanjskog svijeta. S druge strane, eukariotske stanice su prilično različite, dok su neke jednostanične ili nitaste poput većine protista (uključujući alge), mnoge su, poput većine biljaka, gljiva i životinja, višestanične. Ono što razlikuje eukariote od prokariota je to što sve njihove stanice sadrže jezgru gdje je većina ili cijela njihova DNA zatvorena membranom. To i činjenica kako se transkripcija DNA događa u zaštićenoj jezgri, dok se dekodiranje mRNA za stvaranje proteina događa u citoplazmi, u eukariota otežava prijem eukariota genetskog materijala iz vanjskih izvora, a samim time i proces HGT-a.

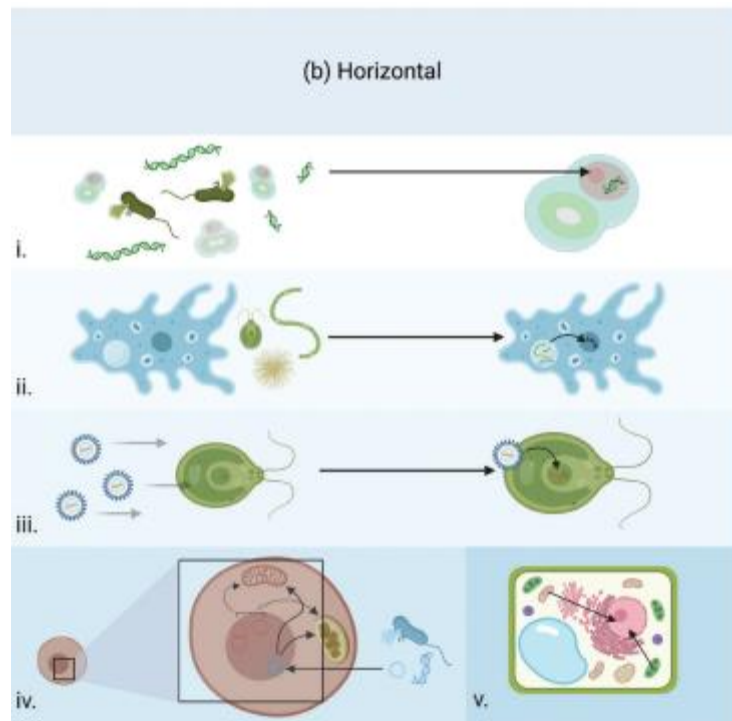
Horizontalni prijenos gena odvija se na različite načine u višestaničnom organizmu (slika 10). Jedna od metoda je uzimanje egzogenog genetskog materijala iz okoliša (analogno transformaciji u prokariota, (slika 10(i)), pri čemu se komadići nukleinskih kiselina inkorporiraju u jezgenu DNA. Drugi način je putem fagocitoze, procesom kojim jedna stanica ili jednostanični organizam proguta česticu (koja može biti druga stanica/organizam) i donosi je u stanicu gdje se obično probavlja. Za vrijeme ovog procesa može se odviti prijenos gena, u kojem se genetski materijal prenosi iz konzumirane stanice ili organizma u jezgru fagocitirajućeg organizma<sup>10</sup> (slika 10(ii)).

Treća metoda kada je eukariotska stanica biva inficirana od virusa u genom domaćina koji ubrizgava svoj DNA ili RNA u svrhu replikacije (slika 10(iii)).

Metoda slična egzogenom preuzimanju, karakteristična za eukariotske organizme (poput crvene alge *Porphyridium purpureum*<sup>10</sup>) koji imaju vlastiti plazmid te mogu biti domaćini bakterijskim plazmidima u vlastitoj jezgri, gdje se mogu replicirati i vjerojatno implementirati plazmidnu DNA u druge DNA nositelje poput organela, jezgrene DNA crvenih algi ili u genome drugih organizama (slika 10 (iv)).

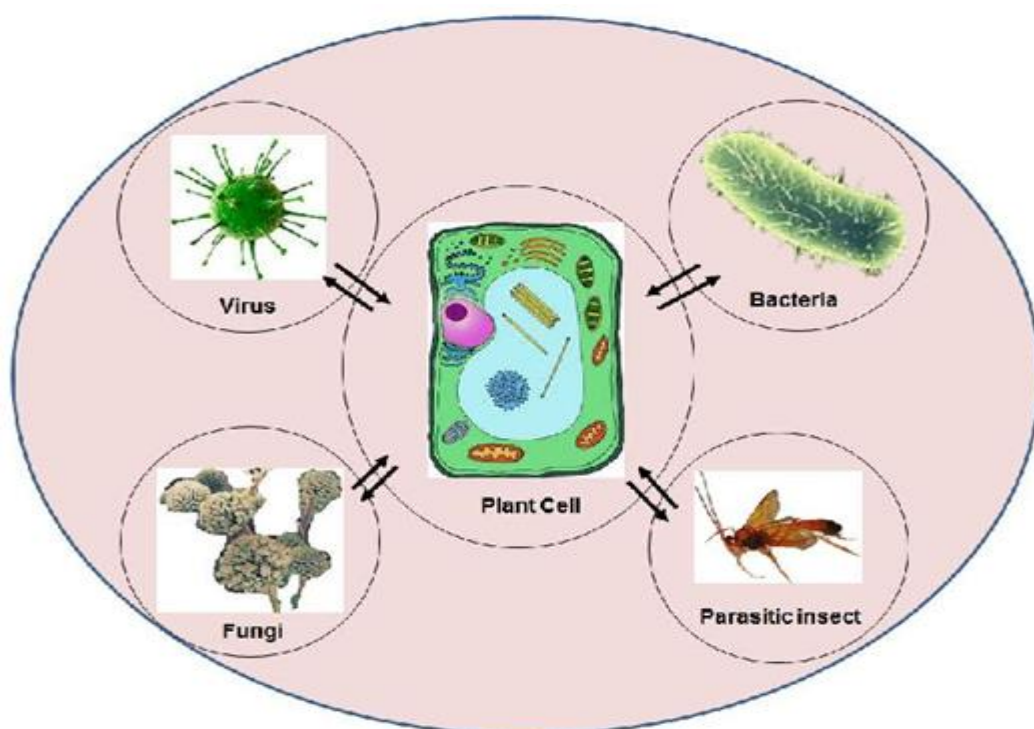
I na kraju, proces kojim stanica proguta drugu stanicu, ali je ne probavi, takva stanica može postati endosimbiont. Nekoliko puta u evolucijskoj povijesti endosimbionti su postali pravi organeli sposobni proizvoditi energiju poput mitohondrija i plastida<sup>10</sup> (slika 10 (v)). Nakon što se ove stanice ustale unutar stanice domaćina, podvrgavaju se velikoj redukciji genoma, i mnogi

njihovi geni prenose se u jezgru domaćina. To je proces koji se naziva endosimbiotski prijenos gena (engl. endosymbiotic gene transfer, EGT). Kako bi usprkos gubljenju velike količine gena takve stanice mogle normalno funkcionirati, jezgra domaćina mora sadržavati odgovarajući repertoar gena koji mogu preuzeti preostale funkcije organela. Kako se određeni putevi moraju očuvati da bi organeli ostali funkcionalni, nakon tako velike redukcije genoma to možda neće biti moguće procesom EGT-a između organelarnog genoma i samog genoma domaćina. Kao kompenzacija, pokazano je da geni stečeni horizontalno iz drugih izvora mogu nadoknaditi nedostatak gena iz neadekvatnih izvora. Pretpostavlja se da plastidi ne bi bili ono što trenutno jesu bez komplementacije gena putem HGT-a iz klamidijjskih stanica koje su bile inkorporirane u jezgrenu DNA organizma pretka nosioca plastida<sup>10</sup>.



**Slika 10.** Mehanizmi horizontalnog prijenosa gena u eukariota<sup>10</sup>

U biljaka, HGT djeluje putem prirodnih faktora, kao što je interakcija domaćina i parazita (slika 11). Parazit se ponaša kao vektor koji prenosi mitohondrijske gene između dvije različite vrste biljaka. Zapravo, epifiti i paraziti mogu prouzročiti genetske promjene pri prijenosu DNA kod biljaka<sup>5</sup>. HTG preko transpozona je prevladavajuća metoda, kako između biljaka, tako i životinja koje dijele svoj genetski materijal. Transmisija transpozona između riže i prosa je jedan od najjasnijih primjera genetske izmjene posredovane transpozonomima, koji su također poznati kao skačući geni ili sebična DNA<sup>5</sup>. Drugi novonastali posrednici HGT u eukariota s kliničkim implikacijama uključuju egzosome, apoptička tijela, cfDNA (engl. *Cell-free DNA*).



**Slika 11.** Različiti tipovi horizontalnog prijenosa u biljaka (preuzeto sa <https://www.semanticscholar.org/paper/Horizontal-gene-transfer%3A-Its-impacts-and-Das-Patra/ba31f7a90835025ca91bc13b1cb031a09116a47f/figure/1>)

## **4.1.POSLJEDICA HGT: OD EVOLUCIJSKE FLEKSIBILNOSTI DO PROGRESIJE BOLESTI**

HGT medijatori, pronalaze svoju ulogu u širokom rasponu djelovanja, od genske fleksibilnosti i pojave korisnih svojstava za svakodnevno preživljavanje do razvoja različitih bolesti, otpornosti na antibiotike, lijekove za liječenje raka i metastaza. U slijedećem poglavlju navest ćemo neke od korisnih i štetnih posljedica koje su rezultat procesa izmjene gena na relaciji prokariot-eukariot, virus-eukariot i eukariot-eukariot.

### **4.1.1.Posljedice prokariotsko-eukariotske izmjene gena**

#### **4.1.1.1.Primjer adaptacije na okoliš**

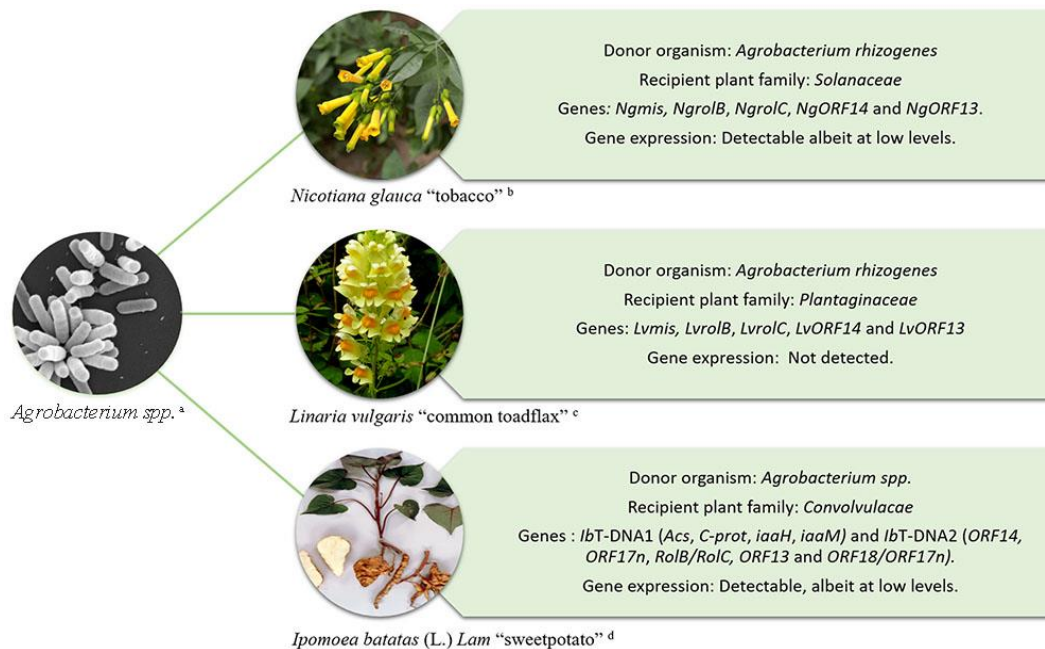
Način na koji organizmi preživljavaju u okolišu onečišćenim arsenom očit je primjer HGT prijenosa između različitih kraljevstva živoga svijeta, koji omogućava ekstremofilnim eukariotima prilagodbu na takve uvjete. Primjer su organizmi koji su horizontalno primili gen za ArsM As(III) SAM metiltransferazu od bakterija ili arheja<sup>5</sup>. Horizontalni prijenos ArsM gena sa bakterija do različitih drugih kraljevstva omogućio je otpornost na toksičnost ovoga metala. Arsenit [As(III)] anorganski je trovalentni arsen preveden u otrovniji oblik zvan metilarsenit [MAs(III)] uz pomoć reakcije metilacije arsM gena. U strukturi arsM gena koji ispoljavaju očuvani S-adenozinmetionin vezajući motiv za prijenos metila na As(III), u termofilnih alga *Cyanidioschyzonmerolae* sp. 5508. detektirana su tri očuvana cisteinska ostatka ArsM proteina na pozicijama Cys72, Cys174 i Cys224. Nadalje, ArsH gen pretvara MA(III) u manje toksičan metilarsenat [MA(V)] preko procesa oksidacije<sup>5</sup>.

#### **4.1.1.2.Prijenos gena nositelja otpornosti na lijekove**

Prisutnost bakterija otpornih na antibiotike (engl. *Antibiotic resistant bacteria*, ARB) u okolišu te stjecanje gena (engl. *Antibiotic resistance genes*, ARG) u kliničkih sojeva mikroorganizama ozbiljan je zdravstveni problem. Gljive dokazano uzrokuju prijenos i distribuciju bakterija u različitim djelovima tla. Gljive imaju sposobnost rasprostranjivanja na velike udaljenosti te mogu skladištenjem plazmida obogatiti one bakterije koje im asistiraju u prehrani u njihovoj mikrosferi. Gljive iz tla kao prenosnici ARG olakšavaju HGT i povećavaju njihove šanse za distribuciju. Naknadno, ARG se dodatno šire nekontroliranim korištenjem antibiotika koji



predstavljaju selekcijski pritisak te ulaze u prehrambeni lanac. Navodnjavanje biljaka otpadnom vodom i životinjskim gnjojivima kontaminiranim bakterijama je vrlo efikasan način širenja ARG-a putem raznolikih i brojnih bakterija koje su domaćini otpornim determinantama<sup>11</sup>. *Agrobacterium tumefaciens* očiti je primjer HGT-a s bakterija na eukariote (slika 12). Ova Gram-negativna bakterija u mogućnosti je prenijeti i sjediniti DNA sa genomom biljke, uzrokujući tumore na korijenu (engl. *crowngall disease*). Fizička vezanost *A. tumefaciens* za staničnu stijenku biljke zahtijeva transfer T-DNA. Prijenos ovih DNA makromolekula u stanicu je moguće preko tipa IV sekrecijskog sustava (T4SS). Ovaj sekrecijski sistem ima mogućnost širenja antibiotске otpornosti s prijenosom plazmida. S druge strane *A. tumefaciens* je korišten kao koristan prijenosni sistem za genetičke transformacije biljaka. Na ovaj način, bakterije su sposobne mijenjati eukariotske genome posredovanjem HGT-a<sup>2</sup>.



**Slika 12.** Horizontalni prijenos gena doprinosi evoluciji biljaka (preuzeto sa <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.02015/full>)

## 4.1.2. Posljedice izmjene gena eukariota posredovane virusima

### 4.1.2.1. Ljudski genetski poremećaji

Slučajna mobilizacija retrotranspozona LINE-1 (L1) u našem genomu može rezultirati različitim poremećajima. Mutacije detektirane u 5% novorođenčadi i više od 120 poznatih ljudskih bolesti povezane su sa umetanjem retrotranspozona L1, Alus i SVA<sup>12</sup>. Osim raka, kao tipični primjer za aberantnu mutaciju/epigenetsku promjenu, umetanja retrotranspozona L1 su uključena u patogenezu nekoliko različitih genetskih poremećaja<sup>5</sup>. Neke od njih proizlaze iz adicije/delecije trinukleotidnog para koji utječe na ekspresiju odgovarajućeg gena za proširenje heksamernog ponavljanja unutar SVA retrotranspozona u TATA faktoru 1 vezanom za protein TAF1 u X vezanoj distoniji kod pacijenata oboljelih od Parkinsonove bolesti<sup>5</sup>. Druge uključuju Huntingtonovu bolest (HD domena)<sup>5</sup>, hemofiliju A (L1 element)<sup>5</sup>, te cističnu fibrozu (Alu element)<sup>5</sup>.

### 4.1.3. Posljedice izmjene gena između eukariota

U ovom dijelu razmotrit će se implikacija novo stečenih HGT alata iz eukariotskih stanica za promoviranje korisnih osobina kao i brojnih bolesti u ljudi, osobito raka.

#### 4.1.3.1. Eukariotska evolucija

Biljke, posebice parazitske, prihvaćaju veliku količinu gena horizontalnim prijenosom. U parazitskih biljaka, izmjena genoma je postojana djelomično i zbog ovisnosti o hrani domaćina. One penetriraju tkivo biljke donora pomoću svojih haustorija za unos nutrijenata kao i njihovog genetskog materijala<sup>13</sup>. HGT u budućnosti može pomoći kontrolirati generacije i funkcije parazitskih biljaka, koji predstavljaju jedan od najvećih poljoprivrednih problema svijeta. DNA prenesena horizontalno može voditi do adaptivne evolucije biljke primatelja. Rezultati analize transkriptoma tri parazitska pripadnika biljne porodice *Orobanchaceae* (*Triphysariaversicolor*, *Striga rmonthica* i *Phelipanchea egyptiaca*) i neparazitskog pripadnika *Lindenbergia* potvrdili su slučajeve aseksualnog prijenosa DNA između parazitskog pripadnika *Orobanchaceae* i njihova domaćina. Ovi rezultati dokazuju da veća ovisnost parazitske biljke o domaćinu može

povećati mogućnost za odvijanje HGT te da se HGT odvija značajnije u heterotrofnim biljkama nego u ne parazitskim biljkama<sup>5</sup>. Dokazi o HGT-u nađeni su u 10 parazitskih porodica biljaka (tablica 2) i većinom uključuju mitohondrijsku DNA. To je vjerojatno posljedica nekoliko jedinstvenih svojstava mitohondrija, uključujući njihovu sposobnost da aktivno preuzimaju DNA, te da se podvrgavaju često fuziji i fisiji<sup>14</sup>.

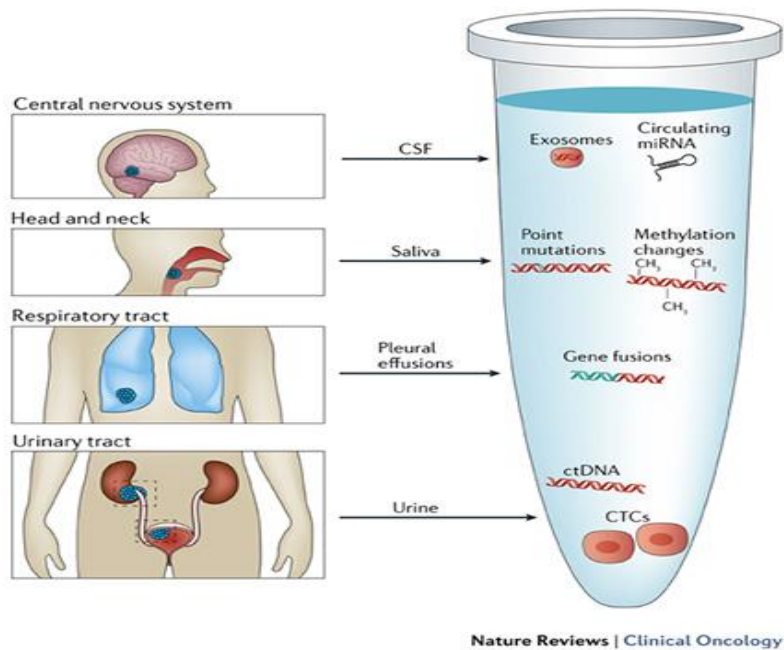
**Tablica 2.** Horizontalni transfer gena u parazitskih biljaka posredstvom mitohondrija<sup>14</sup>

<b>BILJNA PORODICA</b>	<b>VRSTA TRANSGENA</b>
Apodanthaceae	1 mitohondrijski gen 2 mitohondrijska gena
Cassytha (Lauraceae)	1 mitohondrijski gen
Cuscuta (Convolvulaceae)	1 mitohondrijski gen 3 mitohondrijska gena 1 jezgri gen
Cynomoriaceae	2 mitohondrijska gena
Hydnoraceae	1 mitohondrijski gen
Lennooideae (Boraginaceae)	1 mitohondrijski gen
Mitrastemonaceae	1 mitohondrijski gen 2 mitohondrijska gena
Orobanchaceae	1 mitohondrijski gen 1 plastidni gen 1 jezgri gen 1 plastidni gen 1 jezgri gen 1 jezgri gen
Rafflesiaceae	1 mitohondrijski gen 1 mitohondrijski gen 1 mitohondrijski gen 47 jezgrih gena i 2 mitohondrijska gena 11 mitohondrijska i 14 plastidnih gena 15 plastidnih gena

Santalales	2 mitohondrijska gena 1 mitohondrijski gen
------------	---

#### 4.1.3.2. Evolucija raka

Nedavna istraživanja otkrila su nove medijatore HGT-a pomoću kojih stanice raka mogu slati signale za transformaciju do udaljenih normalnih stanica odnosno stanica raka. Ovo je važno otkriće jer su ovi događaji aktivno povezani s progresijom raka i izbijanjem metastaza. Ta istraživanja pripisuju najveću važnost medijatorima HGT-a kao što su egzosomi, cfDNA i apoptotičkim tijelima, preko kojih udaljene stanice raka imaju mogućnost komunicirati. Novonastala metoda dijagnosticiranja raka, zvana tekuća biopsija (slika 13), pregledava individualne uzorke krvi pacijenata za postojanje ovih klinički važnih otisaka (markera) koje za sobom ostavljaju ovi elementi. Hvatanje ovih rijetkih biomarkera ultrasenzitivnim sistemima detekcije (biosenzorima) može omogućiti bitnu informaciju vezanu za podrijetlo tkiva, stadij bolesti, praćenje progresije te odgovor na lijek<sup>15</sup>. Metoda omogućuje liječnicima određivanje načina liječenja koji najbolje odgovara stadiju bolesti, odnosno poduzimanje pravovremene intervencije za suzbijanje bolesti i postizanje željenih rezultata<sup>5</sup>.



**Slika 13.** Tekuća biopsija (preuzeto sa <https://www.esmo.org/oncology-news/archive/how-different-forms-of-liquid-biopsies-can-be-exploited-to-guide-patient-care>)

## 5. ZAKLJUČAK I BUDUĆA PERSPEKTIVA ZA HGT

Život u stalnom dinamičkom i promjenjivom mikrokolišu zahtijeva određene alate koji omogućuju mikroorganizmima potrebnu prilagodbu na nove uvjete, gdje se horizontalni prijenos gena javlja kao djelotvorni princip koji im omogućava potrebnu adaptaciju, a samim time i preživljavanje. HGT može biti za ili protiv skupljanja genetskih/fenotipskih promjena stanica primatelja. Pojava fenotipskih promjena može biti trenutna (bakterijska rezistencija) ili zakašnjela (neurodegenerativne bolesti). U globalu, neosporna je činjenica da se HGT odvija u/između svih pet carstava živoga svijeta.

HGT se može ponašati kao dvosjekli mač, u jednu ruku potiče inovacije i raznolikost živoga svijeta, a u drugu njegovi učinci mogu djelovati suprotno od olakšanja preživljavanja, pogotovo u ljudi. Na primjer, rezistencija poslije ere antibiotika smatra se jednom od budućih posljedica HGT-a, kada bakterije više neće davati nikakav odgovor na djelovanje antibiotika. Isto tako, u kontekstu drugih bolesti, kao što je rak, HGT ne da samo promovira razvoj klonske populacije sposobne za tumorogenezu, nego također potpiruje heterogenost tumorskih stanica i razvoj otpornosti na više različitih lijekova<sup>5</sup>. Takva prednost preživljavanja tumora dijelom je posredovana putem, od novo otkrivenih HGT posrednika u eukariota. DNA mrtvih tumorskih stanica, zvana apoptotičnim tijelima, može biti prenesena u žive tumorske stanice, kako sama, tako u kompleksu s drugim biomaterijalima ili upakirana u izvanstaničnu vezikulu (engl. *extracellular vesicles, EV*).

Organotipične metastaze, koje se odnose na tendenciju tumora da se ukorijeni u selektivnim i odabranim organima, su dokazano regulirane egzosomima. Ekspresija određenog površinskog receptora na egzosomu dokazano priprema sekundarne organe za metastazu tumora. Prekidanjem ovih interakcija može se selektivno izbjeći metastatska razvijanja u više modela miševa<sup>5</sup>.

Najbitniji aspekt u HGT-u je razumijevanje mehanizma transmisije, što omogućava mnoge prednosti i mogućnosti. Na primjer, umjesto fokusiranja na razvoj novih antibiotika, horizontalni prijenos u bakterija se treba smatrati terapijskim ciljem. S obzirom na to da proces razvoja novih antibiotika zahtjeva puno vremena te je vrlo skup proces, ometanje HGT-a u populaciji bakterija, koristeći CRISPR-Cas system, može prekinuti genetsku izmjenu bakterija. Ne samo da bi s time razvoj rezistencije na antibiotske lijekove bio spriječen, nego inter- i intra- transmisija

virulencijskih faktora između vrsta može biti smanjena. Ovo je najveća važnost s obzirom na sve veći broj slučajeva stečene otpornosti na širok spektar klinički korištenih antibiotika.

Iako postoji mogućnost da HGT nije prevladavajući mehanizam za prijenos gena, te da nije toliko doprinio sastavu genoma eukariota koliko u prokariota, i dalje predstavlja evlucijski te biološki važan događaj. Uočavanjem sve veće biološke raznolikosti između vrsta detektiraju se novi intrigantni HGT slučajevi koji potiču rasprave i debate među evolucionarnim biologima.

## POPIS LITERATURE

1. Van Etten J, Bhattacharya D. Horizontal Gene Transfer in Eukaryotes: Not if, but How Much? *Trends Genet.* 2020;36(12):915-925. doi:10.1016/j.tig.2020.08.006
2. Husnik F, Nikoh N, Koga R, et al. Horizontal Gene Transfer from Diverse Bacteria to an Insect Genome Enables a Tripartite Nested Mealybug Symbiosis. *Cell.* 2013;153(7):1567-1578. doi:10.1016/j.cell.2013.05.040
3. Ivancevic AM, Kortschak RD, Bertozzi T, Adelson DL. Horizontal transfer of BovB and L1 retrotransposons in eukaryotes. *Genome Biol.* 2018;19(1):1-13. doi:10.1186/s13059-018-1456-7
4. Garcia-Vallve S, Romeu A, Palau J. Horizontal gene transfer in bacterial and archaeal complete genomes. *Genome Res.* 2000;10(11):1719-1725. doi:10.1101/gr.130000
5. Emamalipour M, Seidi K, Zununi Vahed S, et al. Horizontal Gene Transfer: From Evolutionary Flexibility to Disease Progression. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8(May). doi:10.3389/fcell.2020.00229
6. Huang J. Horizontal gene transfer in eukaryotes: The weak-link model. *BioEssays.* 2013;35(10):868-875. doi:10.1002/bies.201300007
7. Hall JPJ, Brockhurst MA, Harrison E. Sampling the mobile gene pool: Innovation via horizontal gene transfer in bacteria. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2017;372(1735). doi:10.1098/rstb.2016.0424
8. Adato O, Ninyo N, Gophna U, Snir S. Detecting Horizontal Gene Transfer between Closely Related Taxa. *PLoS Comput Biol.* 2015;11(10):1-23. doi:10.1371/journal.pcbi.1004408
9. Danchin EGJ. Lateral gene transfer in eukaryotes: Tip of the iceberg or of the ice cube. *BMC Biol.* 2016;14(1):1-4. doi:10.1186/s12915-016-0330-x
10. Van Etten J. Red Algal Extremophiles: Novel Genes and Paradigms. *Micros Today.* 2020;28(6):28-35. doi:10.1017/s1551929520001534
11. Pärnänen K, Karkman A, Tamminen M, Lyra C, Hultman J. Evaluating the mobility potential of antibiotic resistance genes in environmental resistomes without metagenomics. *Nat Publ Gr.* 2016;(October):1-9. doi:10.1038/srep35790
12. Cordaux R, Hedges DJ, Herke SW, Batzer MA. Estimating the retrotransposition rate of human Alu elements. 2006;373:134-137. doi:10.1016/j.gene.2006.01.019
13. Science E, Price VJ, McBride SW, et al. *Enterococcus faecalis* CRISPR-Cas Is a Robust Barrier to Conjugative Antibiotic Resistance Dissemination in the Murine Intestine. 2019;4(4):1-11.



14. Davis CC, Xi Z. Horizontal gene transfer in parasitic plants. *Curr Opin Plant Biol.* 2015;26(Table 1):14-19. doi:10.1016/j.pbi.2015.05.008
15. Shin J, Lin C, Lim HN. Horizontal transfer of DNA methylation patterns into bacterial chromosomes. Published online 2016:1-12. doi:10.1093/nar/gkw230

## LITERATURA S INTERNETA

1. <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/basics/gene/>
2. <https://socratic.org/questions/58dd6f867c01491521d49be3>
3. [https://www.researchgate.net/figure/Difference-between-Horizontal-gene-transfer-and-Vertical-gene-transfer\\_fig9\\_274708754](https://www.researchgate.net/figure/Difference-between-Horizontal-gene-transfer-and-Vertical-gene-transfer_fig9_274708754)<https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-vertical-and-horizontal-gene-transfer/>
4. <https://in.pinterest.com/pin/419679259024149466/>
5. [https://www.researchgate.net/figure/Eukaryogenesis-and-horizontal-gene-transfer-The-figure-presents-the-endosymbiotic\\_fig1\\_305644463](https://www.researchgate.net/figure/Eukaryogenesis-and-horizontal-gene-transfer-The-figure-presents-the-endosymbiotic_fig1_305644463))
6. [https://www.researchgate.net/figure/Horizontal-gene-transfer-between-bacteria-Adopted-from-Furuya-Lowy-42\\_fig1\\_338527769](https://www.researchgate.net/figure/Horizontal-gene-transfer-between-bacteria-Adopted-from-Furuya-Lowy-42_fig1_338527769)
7. <https://www.pnas.org/content/112/52/15976>
8. [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-HGT-events-Bayesian-phylogeny-based-on-the-16S-rRNA-gene-from-selected-taxa\\_fig2\\_330684464](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-HGT-events-Bayesian-phylogeny-based-on-the-16S-rRNA-gene-from-selected-taxa_fig2_330684464)
9. <https://www.semanticscholar.org/paper/Horizontal-gene-transfer%3A-Its-impacts-and-Das-Patra/ba31f7a90835025ca91bc13b1cb031a09116a47f/figure/1>
10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.02015/full>)
11. <https://www.esmo.org/oncology-news/archive/how-different-forms-of-liquid-biopsies-can-be-exploited-to-guide-patient-care>)

## POPIS SLIKA

Slika 1. Gen kao odsječak DNA (preuzeto sa <a href="https://medlineplus.gov/genetics/understanding/basics/gene/">https://medlineplus.gov/genetics/understanding/basics/gene/</a> ) .....	2
Slika 2. Vertikalni i horizontalni prijenos gena u bakterija (preuzeto sa <a href="https://socratic.org/questions/58dd6f867c01491521d49be3">https://socratic.org/questions/58dd6f867c01491521d49be3</a> ) .....	3
Slika 3. Vrste vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena (preuzeto sa <a href="https://www.researchgate.net/figure/Difference-between-Horizontal-gene-transfer-and-Vertical-gene-transfer_fig9_274708754">https://www.researchgate.net/figure/Difference-between-Horizontal-gene-transfer-and-Vertical-gene-transfer_fig9_274708754</a> <a href="https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-vertical-and-horizontal-gene-transfer/">https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-vertical-and-horizontal-gene-transfer/</a> ) .....	5
Slika 4. Glavni metabolički putevi u eukariotskoj stanici adaptirani utjecajem HGT prijenosa (preuzeto iz Julia Van Etten <sup>1</sup> i Debashish Bhattacharya, 2020) .....	6
Slika 5. Bakterije se mogu adaptirati prenošenjem korisne mutacije na potomstvo ili horizontalnim prijenosom plazmida iz druge vrste (preuzeto sa <a href="https://in.pinterest.com/pin/419679259024149466/">https://in.pinterest.com/pin/419679259024149466/</a> ). .....	8
Slika 6. Eukariogeneza i horizontalni prijenos gena (preuzeto sa <a href="https://www.researchgate.net/figure/Eukaryogenesis-and-horizontal-gene-transfer-The-figure-presents-the-endosymbiotic_fig1_305644463">https://www.researchgate.net/figure/Eukaryogenesis-and-horizontal-gene-transfer-The-figure-presents-the-endosymbiotic_fig1_305644463</a> ) .....	10
Slika 7. HGT mehanizmi u bakterija (preuzeto sa <a href="https://www.researchgate.net/figure/Horizontal-gene-transfer-between-bacteria-Adopted-from-Furuya-Lowy-42_fig1_338527769">https://www.researchgate.net/figure/Horizontal-gene-transfer-between-bacteria-Adopted-from-Furuya-Lowy-42_fig1_338527769</a> ) .....	14
Slika 8 .Utjecaj HGT na strukturu i sastav genoma dugoživca. <i>H. dujardini</i> . (A) Slika <i>H. dujardini</i> svjetlosnim mikroskopom. (B) Postotak pokrivenosti (potpuna+djelomična) jezgrenih eukariotskih gena u <i>H. dujardini</i> genomu, kao i sklopovi genoma nedavno sekvencioniranih modelnih organizama: <i>Anophelesgambiae</i> , <i>Daphniapulex</i> , <i>Ixodesscapularis</i> , <i>Pristionchuspacificus</i> , <i>Strigamiamaritime</i> , <i>Tetranychusurticae</i> . (C) Izvor gena u <i>H. dujardini</i> genomu određeno pomoću HGT indeks kalkulacija koristeći <i>Galaxy tools taxonomy extraction</i> . (D) Učestalost horizontalno prenesenih gena u odnosu na ukupan broj gena prema skali veličine genoma <i>H. dujardini</i> . Crvena linija ukazuje na proporciju HGT gena u ukupnom sastavu (17.5%)( preuzeto sa <a href="https://www.pnas.org/content/112/52/15976">https://www.pnas.org/content/112/52/15976</a> ). .....	17
Slika 9. Vremenski slijed HGT događanja (preuzeto sa <a href="https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-HGT-events-Bayesian-phylogeny-based-on-the-16S-rRNA-gene-from-selected-taxa_fig2_330684464">https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-HGT-events-Bayesian-phylogeny-based-on-the-16S-rRNA-gene-from-selected-taxa_fig2_330684464</a> ) .....	18
Slika 10. Mehanizmi horizontalnog prijenosa gena u eukariota (preuzeto iz Julia Van Etten, 2020.) .....	22
Slika 11. Različiti tipovi horizontalnog prijenosa u biljaka (preuzeto sa <a href="https://www.semanticscholar.org/paper/Horizontal-gene-transfer%3A-Its-impacts-and-Das-Patra/ba31f7a90835025ca91bc13b1cb031a09116a47f/figure/1">https://www.semanticscholar.org/paper/Horizontal-gene-transfer%3A-Its-impacts-and-Das-Patra/ba31f7a90835025ca91bc13b1cb031a09116a47f/figure/1</a> ) .....	23
Slika 12. Horizontalni prijenos gena doprinosi evoluciji biljaka (preuzeto sa <a href="https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.02015/full">https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.02015/full</a> ) .....	25
Slika 13. Tekuća biopsija (preuzeto sa <a href="https://www.esmo.org/oncology-news/archive/how-different-forms-of-liquid-biopsies-can-be-exploited-to-guide-patient-care">https://www.esmo.org/oncology-news/archive/how-different-forms-of-liquid-biopsies-can-be-exploited-to-guide-patient-care</a> ) .....	29

## POPIS TABLICA

Tablica 1. Glavne razlike vertikalnog i horizontalnog prijenosa gena .....	4
Tablica 2. Horizontalni transfer gena u parazitskih biljaka posredstvom mitohondrija <sup>6</sup> .....	27

## SKRAĆENICE

HGT	<i>Horizontal gene transfer</i>	Horizontalni prijenos gena
DNA	<i>Deoxyribonucleicacid</i>	Deoksiribonukleinska kiselina
RNA	<i>Ribonucleicacid</i>	Ribonukleinska kiselina
EVs	<i>Vesicularelements</i>	Vezikularne čestice
cfDNA	<i>Cell-freeDNA</i>	Stanice bez DNA
MV	<i>Membrane vesicles</i>	Membranske vezikule
OGT	<i>Organelle gene transfer</i>	Organelarni prijenos gena
EGT	<i>Endosymbiotic gene transfer</i>	Endosimbiotski prijenos gena
ARB	<i>Antibioticresistantbacteria</i>	Bakterije otporne na antibiotike
ARG	<i>Antibioticresistancegenes</i>	Geni otporni na antibiotike
EV	<i>Extracellularevesicles</i>	Vanstanične vezikule