

## **Глава 14. Генетика развития**

<b>14.1. Роль клеточного ядра в развитии</b>	<b>3</b>
<b>14.2. Тотипотентность генома</b>	<b>4</b>
<b>14.3. Детерминация</b>	<b>7</b>
<b>14.4. Раннее эмбриональное развитие дрозофилы</b>	<b>8</b>
<b>14.5. Гомология генов, контролирующих ранне развитие</b>	<b>15</b>
<b>14.6. Апоптоз (Генетически запрограммированная смерть клетки)</b>	<b>17</b>
<b>14.7. Генетический контроль метаморфоза у насекомых</b>	<b>17</b>

## 14. Генетика развития

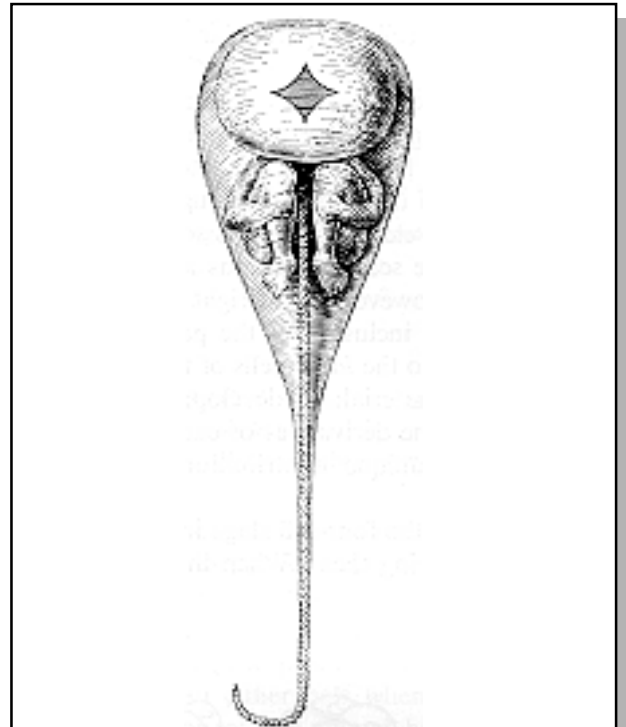
Вопрос о том, как из оплодотворенного яйца вырастает целый организм и как возникают различия между составляющими его клетками интересует людей почти 2000 лет, но, тем не менее, до сих пор остается одной из основных проблем биологии и генетики развития в частности.

В ходе развития формируются многочисленные органы и ткани совершенно не похожие друг на друга. Они организованы для выполнения определенных функций и каждая ткань поразительно отличается от остальных. Необходимо решить две проблемы: каким образом ткани дифференцируются друг от друга и каким образом дифференцированное состояние, характерное для каждой клетки, наследуется в ряду клеточных поколений.

Долгое время в биологической науке существовало мнение, что процесс развития это простой рост органов организма, уже сформированного (преформированного) в клетках зародышевого пути (рис. 14.1.).

В 1759 году Wolff предложил теорию эпигенеза, согласно которой каждый организм развивается в ходе онтогенеза не из преформированных органов, а из простого неорганизованного зародыша путём последовательного ряда новообразований.

По современным представлениям жизненный путь любого организма - это постоянное обновление всех клеток, тканей и органов. Детали этого процесса обновления определяются структурами,

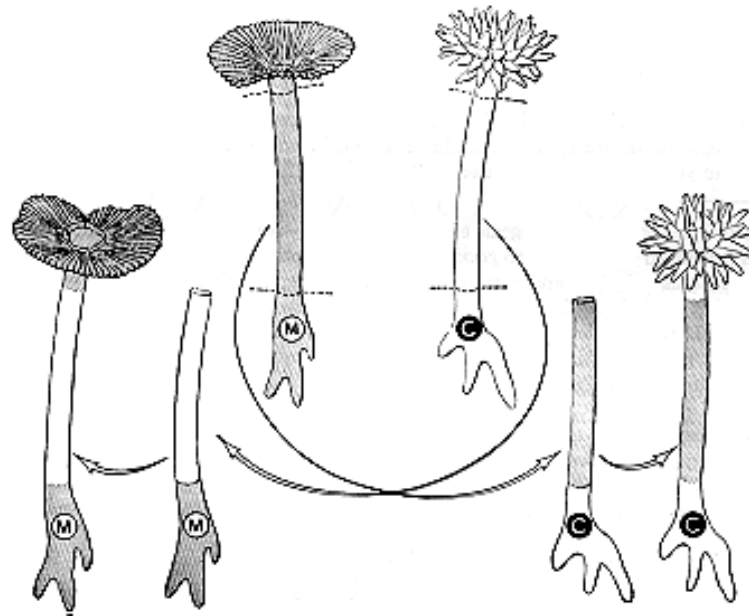


**Рис. 14.1.** Миниатюрный человек, формирующийся по мнению ранних биологов в сперматозоиде человека (Из: Hartsoeker, 1694, в кн. Srb et al., 1965, стр. 353)

сформировавшимися на предыдущих стадиях. Согласно этой точке зрения развитие не останавливается на какой-то определённой точке, а продолжается всю жизнь.

Зависимость развития от активности генов, заключенных в клеточном ядре, установлена в многочисленных опытах. Показана также роль состояния цитоплазмы в поддержании определенного дифференцированного состояния клетки в целом.

По мнению Т.Х. Моргана, высказанному еще в 1930-е годы, “ранние стадии развития определяются протоплазмой яйца, влияние же хромосом сперматозоида сказывается позже. Это означает, что протоплазма



**Рис. 14.2.** Регенерация шляпки при перекрестном сращивании у ацетабулярии (Из: Hammerling, 1943 в кн. Srb et al., 1965). *A. mediterranea* и *A. crenulata* изображены соответственно серым и белым цветом

яйца уже подверглась влиянию генов, содержащихся в самом яйце...” (Морган, 1937, стр. 129). “По мере протекания развития приходят в действие различные группы генов” (там же, стр. 13).

#### 14.1. Роль клеточного ядра в развитии

Для выяснения роли ядра в развитии проводили различные эксперименты. Г. Геммерлинг (Н. Haemmerling) провел опыты с замещением ядра у водоросли *Acetabularia*. Он использовал два вида этого рода - *A. mediterranea* и *A. crenulata*, различающиеся формой шляпки (рис. 14.2.). В период вегетативного цикла эта водоросль представляет собой крупную одноядерную клетку с длиной стебелька до 6 см. Различные виды ацетабулярии имеют специфическую форму шляпки.

Ядро находится в одном из ризоидов. Если шляпку или стебелек с

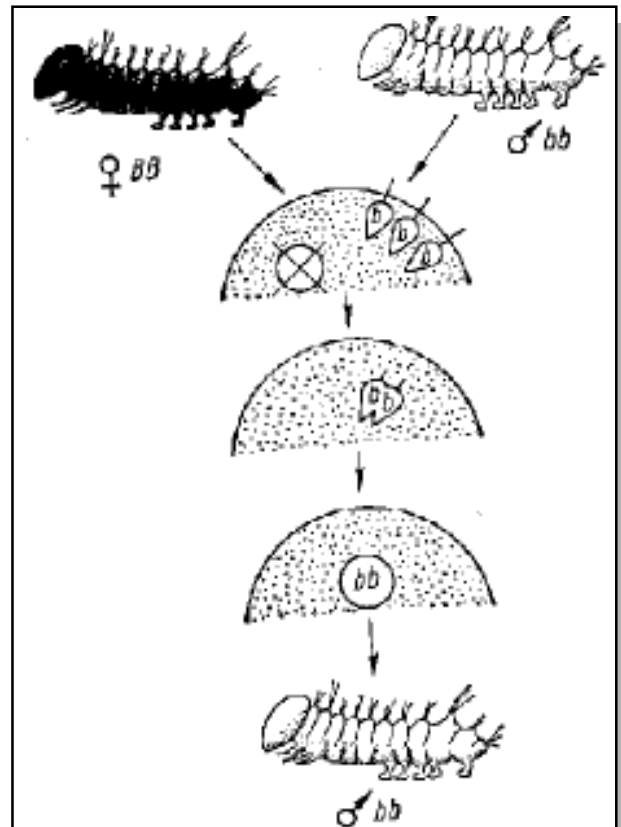
шапочкой отрезать, они вновь регенерируют из ризоида, содержащего ядро. При этом сохраняется форма шляпки, характерная для данного вида. Когда сращивали отрезанный стебелек одного вида с ризоидом другого, регенерирующая на стебельке шляпка имела форму, свойственную виду, которому принадлежало ядро (см. рис. 14.2.). Такой же результат был получен в том случае, когда извлеченное из ризоида ядро одного вида пересаживали в изолированный стебелек другого вида.

Б.Л. Астауров, основываясь на резко различной чувствительности ядра и цитоплазмы к ионизирующим излучениям, показал решающую роль ядра в определении признаков многоклеточных организмов. В норме у бабочки шелкопряда в яйцо при оплодотворении проникает несколько спермиев, но с ядром яйца сливается ядро

только одного из них, остальные спермии остаются на его периферии и затем распадаются, не участвуя в образовании и развитии зародыша. Подвергая неоплодотворенные яйца шелкопряда тепловому шоку и рентгеновскому облучению, можно полностью разрушить их ядра, не повредив цитоплазму, которая по сравнению с ядром гораздо менее чувствительна к этим воздействиям. Если затем такие ядра осеменить, то ядра двух проникших в ядро спермиев сливаются друг с другом и образуют ядро зиготы. Следовательно, здесь зигота имеет ядро, происходящее исключительно от отца, цитоплазма же целиком материнская. Развивающиеся из таких андрогенетических зигот особи шелкопряда всегда были самцами и довольно точно повторяют фенотип своих отцов, что особенно заметно, когда яйца принадлежат самкам одной породы, а спермии - самцам другой породы (рис. 14.3.).

### 14.2. Тотипотентность генома

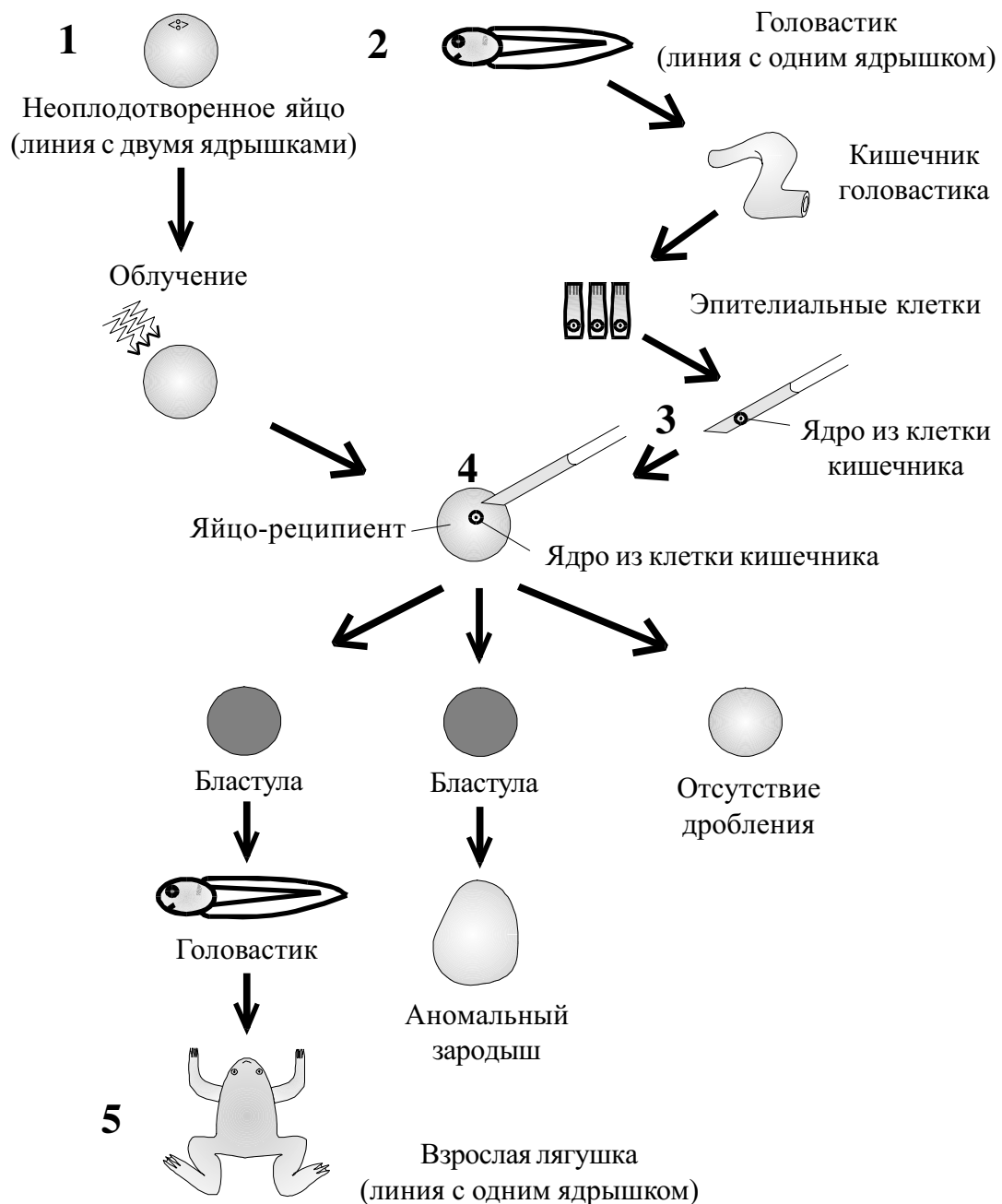
До сих пор обсуждается вопрос о том, сопровождается ли специализация клеток утратой генов, которые далее не понадобятся для каждого данного типа клеток. Например, сохраняются ли в ядре клеток кишечника гены, необходимые для синтеза гемоглобина - белка, характерного для эритроцитов, а в ядре нервной клетки - гены, необходимые для образования миозина - особого белка мышечных клеток? Если "ненужные" гены утрачиваются, то именно эта



**Рис. 14.3.** Андрогенез у тутового шелкопряда (Из: Б.Л. Астаурова в кн. Гершензон, 1983, стр. 83)

постоянная утрата различных генов и определяет специализацию клеток как предположил А. Вейсман еще в 1892 году. Противоположная точка зрения сводится к тому, что во всех клетках сохраняются все гены, однако в тех клетках, где их деятельность не нужна, они находятся в неактивном состоянии.

Для того, чтобы решить какая из этих гипотез верна, английский генетик Гёрдон трансплантировал ядра из специализированных клеток эпителия кишечника головастиков (рис. 14.4.) в неоплодотворённое яйцо, из которого предварительно было удалено свое ядро. При этом необходимо использование какого-либо ядерного маркера, который позволяет отличить потомков пересаженного ядра от потомков ядра-



**Рис. 14.4.** Схема пересадки ядер из кишечника головастика в неоплодотворенное яйцо лягушки (Из: Гердон, 1970, стр. 20). Ядро-реципиент, помеченное наличием двух ядрышек, разрушается в результате облучения ультрафиолетовыми лучами (1), затем у головастика выделяют кишечник (2) и берут клетки эпителиального слоя. Одиночную эпителиальную клетку засасывают в микропипетку, при этом клеточная оболочка разрушается (3), высвобождая ядро. Ядро клетки кишечника пересаживают в подготовленное яйцо (4), которое затем развивается. Около 1% яиц с пересаженными ядрами развиваются в лягушек, имеющих в ядре лишь одно ядрышко вместо обычных двух (5)

хозяина, поскольку нельзя быть уверенным, что не произошло случайной ошибки при удалении ядра-хозяина. Маркером в данном случае служило наличие двух ядрышек в ядрах клетки-хозяина и одного - в пересаживаемых ядрах.

В данных экспериментах около 1% яиц, в которые были пересажены ядра эпителия, дали взрослых лягушек. Таким образом, нормальная дифференцировка животных клеток не сопровождается утратой или необратимой инактивацией генов.

В феврале 1997 года в журнале Nature появилось сообщение, заставившее обсуждать проблемы генетики развития журналистов, политиков, юристов и государственных деятелей: группа учёных из Шотландии сообщила об успешной трансплантации ядер из дифференцированных клеток в яйцеклетки овец и получении нормально сформированного животного. Эти результаты открывают путь для фактически неограниченного вегетативного размножения любого индивидуума: каждая особь в результате трансплантации ядер из его клеток в реципиентов может дать начало миллиардам совершенно идентичных потомков. Этот процесс, как отмечалось в разделе 4, называют клонированием.

Схема опыта была аналогичной той, которую использовали Дж. Гёрдон и его сотрудники. Маркерами в данном случае служили масть овец и различные микросателлиты в составе ДНК. Ооциты выделяли из овец шотландской черномордой породы, а донорные клетки



**Рис. 14.5.** Овечка (на рисунке слева), развившаяся из клетки молочной железы, взятой от овцы беломордой породы и трансплантированной в овцу черномордой породы (справа) (Из: Wilmut et al., 1997)

были выделены из вымени овец беломордой породы Финн Дорсетт. После этого с помощью электрического импульса сливали энуклеированный ооцит с целой клеткой-донором. Экспериментально полученные зиготы помещали в яйцеводы самок, где они начинали дробиться и развивались в морулы, которые и были пересажены в матки черномордых овец. Из 277 экспериментально полученных зигот только одна прошла все стадии развития вплоть до рождения ягнёнка, который был беломордым (рис. 14.5.). (Детали экспериментов можно найти в статье: Wilmut et al., 1997).

Тот факт, что овечка выросла из яйцеклетки с ядром из взрослого животного, доказывает отсутствие необратимых модификаций генетического материала в ходе нормального развития.

### 14.3. Детерминация

Известно, что каждая клетка находится в некотором детерминированном состоянии. Детерминация представляет собой важное событие, в результате которого клетки с одинаковым набором генов начинают различаться по своим внешним признакам, или фенотипу. Много серьезных вопросов стоит перед исследователями: на какой стадии развития зародыша происходит эта детерминация? Насколько устойчиво такое состояние клетки? Наследуется ли это состояние всеми клетками, происходящими от детерминированной клетки-предшественника? Можно ли изменить детерминированность и переключить эти клетки на развитие в новых направлениях?

Для ответов на эти вопросы выдающийся швейцарский генетик Э. Хадорн использовал плодовую мушку дрозофилу. Известно, что в развитии высших насекомых, в том числе мух, происходит интересное разделение клеток по их функциям. Клетки одного типа начинают дифференцироваться с первых этапов эмбрионального развития, из них образуется тело личинки насекомого со всеми его органами. Клетки другого типа обособлены, они составляют так называемые имагинальные диски или зачатки взрослых органов. Хотя клетки имагинальных дисков находятся в контакте с соседними дифференцирующимися клетками, они находятся в эмбриональном состоянии в течение всего личиночного периода. В это время они делятся. В процессе

метаморфоза значительная часть личиночных органов рассасывается (или лизируется). Одновременно с этим клетки имагинальных дисков утрачивают свое эмбриональное состояние, они дифференцируются, превращаясь в специализированные ткани имаго (взрослой мухи). Из каждого диска образуется отдельная часть тела насекомого. Например, для каждой из шести будущих ног существует отдельный диск, голова образуется из трех пар дисков.

Имагинальные диски можно извлечь из тела личинки и пересадить в полость тела другой личинки. Когда личинка-хозяин превращается в куколку, трансплантант дифференцируется в соответствующий орган. Например, если трансплантирован глазной имагинальный диск, в брюшке личинки-хозяина развивается полностью сформировавшийся глаз.

В результате многих опытов Э. Хадорн обнаружил, что каждый имагинальный диск представляет собой своего рода мозаику из различных групп клеток, например, из одних участков мужского генитального диска образуется семяизвергательный канал, из других - различные элементы мужского полового члена, из третьих - анальные пластинки и задняя кишка. Следовательно, будущее разнообразие клеток детерминировано уже на личиночной стадии.

Неожиданные результаты были получены после трансплантации имагинальных дисков сразу во взрослых мух. Клетки неограниченно делились и разрастались. Если бы развитие этих

имагинальных дисков происходило в нормальной личинке, то эти клетки прекратили бы деление с началом метаморфоза: под влиянием гормона насекомых экдистерона они бы начали дифференцироваться в такие структуры взрослых особей, как щетинки, волоски, коготки и т.д. Неограниченный рост этих клеток, пересаженных в брюшко взрослых мух, продолжался более 6 лет. Поскольку муха дрозофила живет около месяца, размножающиеся клетки пересаживали в новую муху через каждые 2 недели. При этом клетки перенесли свыше 160 пересадок. Хотя трансплантанты жили во взрослых мухах годами, они сохранили свой исходный эмбриональный характер и не дифференцировались. Если же извлечь немного транспланта и ввести в личинку, эти клетки претерпевали метаморфоз и нормально дифференцировались в структуры взрослого организма. При этом, если несколько лет назад для трансплантации были взяты крыловые имагинальные диски, при обратной трансплантации также формировалось крыло. Таким образом, состояние детерминации может воспроизводиться длительное время без каких-либо изменений. Очень продолжительное время это свойство детерминированных клеток передается благодаря своего рода “клеточной наследственности” или определенного состояния ядерно-цитоплазматических отношений (или наличия в цитоплазме эпигенетических факторов).

В некоторых случаях нормальное состояние детерминированности в опытах Э. Хадорна резко изменялось.

Очень редко, из клеток генитального имагинального диска после длительного размножения в брюшке имаго, формировались органы головы или конечности, т.е. клетки больше не дифференцировались в соответствие с детерминацией их предков - произошла трансдетерминация. Вновь приобретенное трансдетерминированное состояние в дальнейшем также передается за счет клеточной наследственности очень продолжительное время.

Явление трансдетерминации, также как и результаты трансплантации ядер, полученные Дж. Гердоном свидетельствуют, что в основе дифференцировки не лежит необратимое состояние генов, тем более их потеря.

Очевидно также и то, что в основе любого детерминированного состояния лежит сбалансированная система ядерно-цитоплазматических отношений. Как может сформироваться такая система лучше всего показывают результаты самого раннего развития.

#### **14.4. Раннее эмбриональное развитие дрозофилы**

Еще в 1950-е годы сформировалось представление о морфогенах как о веществах, индуцирующих образование определенных частей тела. Предполагали, что “эти вещества диффундируют через ткань и их распределение диктует тот или иной путь развития клетки”. Позднее теория морфогенов получила значительное развитие. По современным представлениям морфоген выделяется из локального источника и во время последующей диффузии в ткани



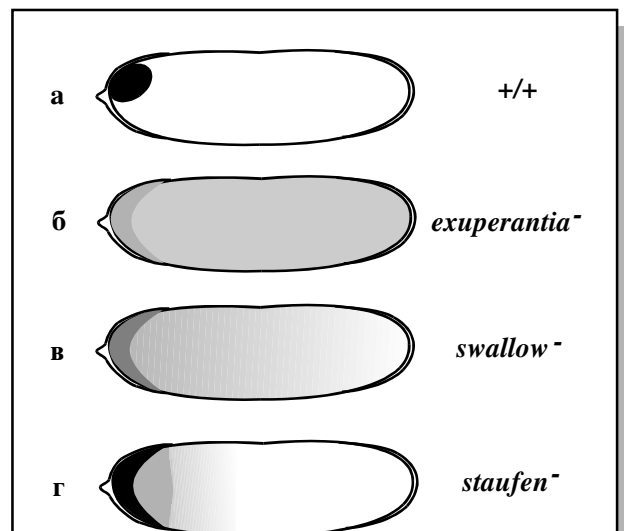
образуется градиент его концентрации. В каждой группе клеток свой набор и концентрация морфогенов, т.е. своя информация о последующем развитии - это то, что генетики развития называют позиционной информацией.

Лучше всего изучены градиенты морфогенов, образующиеся в развивающемся яйце дрозофилы.

Известно, что у дрозофил яйцо созревает в особой камере - фолликуле. Эта камера содержит ооцит - созревающее яйцо и 15 огромных питающих клеток, функция которых синтезировать продукцию и перекачивать ее в ооцит. В них функционируют т.н. "гены с материнским эффектом", т.е. такие гены, которые функционируют в питающих клетках ооцитов - в организме матери еще до оплодотворения яйца сперматозоидом и информация с них передается в ооцит. Один из таких генов - *bicoid*. Самки, гомозиготные по мутации *bc* откладывают яйца, в которых нормальные эмбрионы не развиваются, даже если эти яйца оплодотворены спермием, содержащим нормальный аллель гена *bicoid*. Совершенно очевидно, что весь продукт этого гена, необходимый для развития, синтезируется у матери и откладывается в яйце.

Оказывается, что белки, кодируемые генами, функционирующими в ходе созревания яйца и транспортируемые туда из питающих клеток, распределяются по оси яйца, образуя градиенты, характерные для продуктов каждого гена. На рис. 14.6. показано

распределение продукта гена *bicoid* в пределах яйца. Он занимает строго определенный участок. Чтобы продукт *bicoid* занял это место, нужно, чтобы поработали и другие гены, в случае мутаций которых данный продукт распределяется неправильно. Так, в нормальном яйце РНК гена *bicoid* (*bc*) располагается в узко локальном участке (рис. 14.6.а). Однако у ряда мутантов распределение этой РНК в яйце сильно изменено: в результате мутации гена *exuperantia* РНК гена *bc* более или менее равномерно распределена по всему яйцу с небольшим градиентом от переднего полюса к заднему. У мутантов *swallow* градиент этого морфогена выражен сильнее, т.е. распределение его ближе к нормальному: в передней части яйца выявлено большое скопление РНК *bicoid* и некоторое её количество распределено в остальной цитоплазме (рис. 14.6.б, в).



**Рис. 14.6.** Распределение по длине яйца дрозофилы матричной РНК, считанной с гена *bicoid* в нормальной линии (черное пятно) (а), у мутантов *exuperantia* (б), *swallow* (в) и *staufer* (г) (показаны штриховкой) (Из: Lawrence, 1992, p. 31)

Совсем близкое к норме, но все ещё ненормальное, распределение продукта *bicoid* обнаружено у мутантов *staufen* (рис. 14.6.г): у них РНК *bicoid* вообще не переходит в заднюю часть эмбриона.

Таким образом РНК считывается с гена *bicoid* ещё в питающих клетках ооцитов в материнском организме и поступает в яйцеклетки. Затем с помощью продуктов других генов, в данном случае это гены *exuperantia*, *swallow* и *staufen*, эта РНК занимает определённое положение в цитоплазме яйца, т.е. создаётся определённый градиент в распределении этого морфогена. В случае мутации любого из трёх перечисленных генов распределение РНК *bc* изменяется, что приводит к серьёзнейшим нарушениям развития.

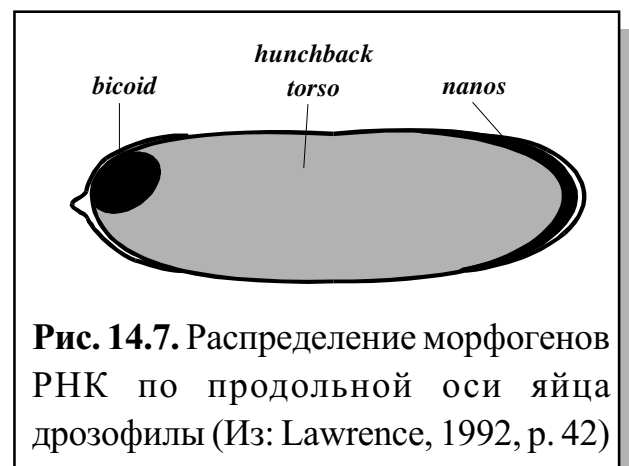
Известно, что в яйцо поступает РНК, считанная с огромного числа генов. Поскольку каждая из этих РНК ещё и распределяется по своим местам в яйце в результате активности других генов, совершенно очевидно сколь огромно число генов, участвующих в формировании яйца.

При созревании яйца в организме матери образуются четыре независимых системы: 1. Передне-задний градиент белков (РНК) гена *bicoid*, 2. Градиент белка гена *nanos*, расположенный в задней части яйца и необходимый для развития брюшка мухи. 3. Терминирующая система - это градиенты белка гена *torso*, расположенные на обоих полюсах яйца и необходимые для определения головной и хвостовой части тела. 4. Дорзо-вентральная система, которая зависит от активирования

рецепторного белка, кодируемого геном *Toll* (рис. 14.7.).

В свою очередь, после занятия правильного положения в яйце, продукты таких генов, как *bicoid*, вступают во взаимодействие с другими генами, которые активируются после оплодотворения и образования зиготы (зиготические гены). Белки гена *bicoid* связываются с контролирующими районами зиготических генов и активируют их. Понятно, что клетка, возникающая в области локализации морфогена *bc*, будет испытывать его влияние, и развитие пойдет в определённом направлении. Если же клетка расположена в задней части эмбриона, где морфогена *bicoid* нет (см. рис. 14.6.), она будет развиваться в другом направлении. Таким образом, набор определенных белков, накопленных цитоплазмой к данной стадии развития, способен активировать определенный набор генов, благодаря чему либо поддерживается данное дифференцированное состояние, либо развитие продвигается дальше.

Каким образом белковый продукт одного гена может взаимодействовать с другим геном? Оказалось, что



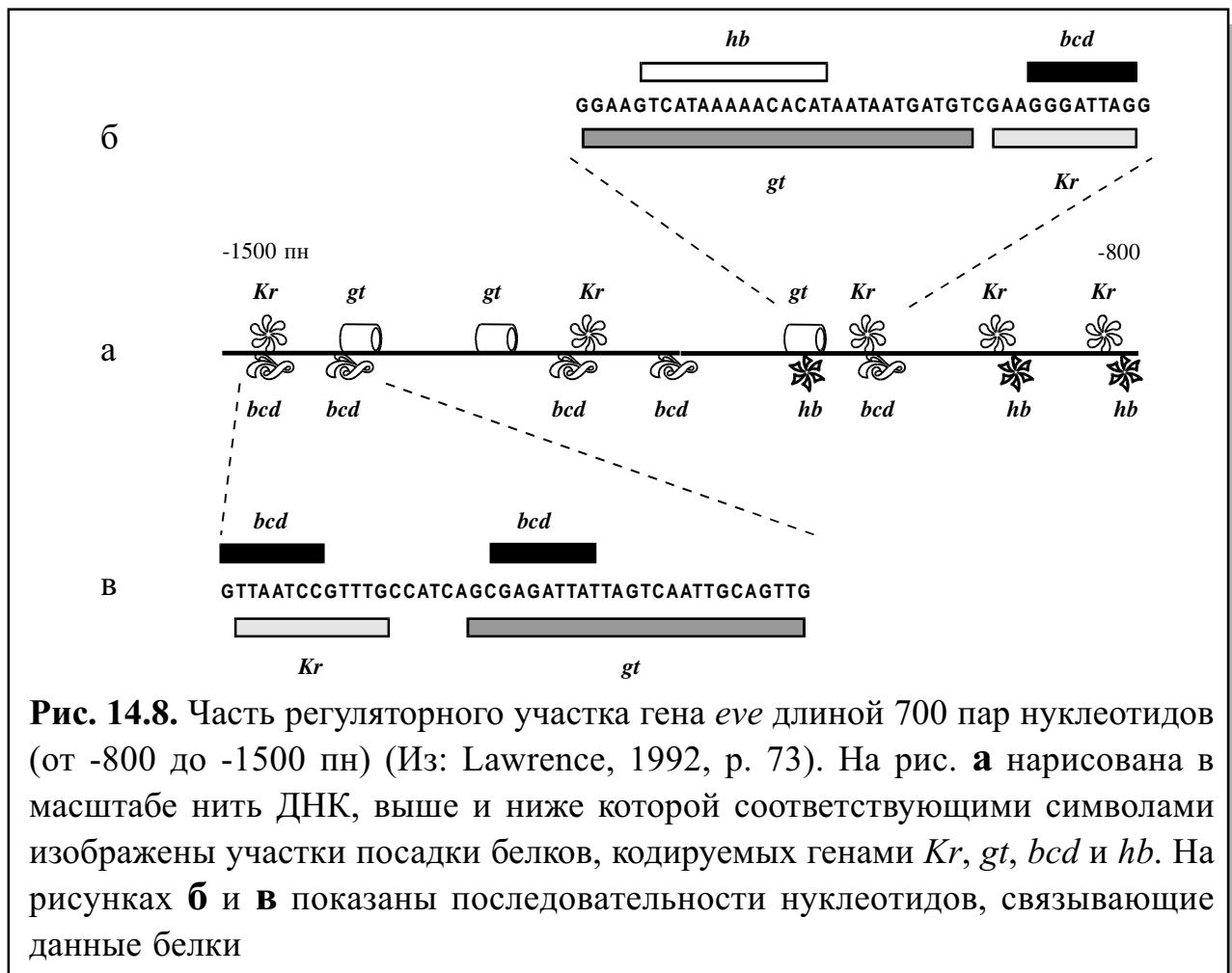
**Рис. 14.7.** Распределение морфогенов РНК по продольной оси яйца дрозофилы (Из: Lawrence, 1992, p. 42)

регуляторные части генов содержат специфические группы нуклеотидов (мотивы), имеющие сродство к определенным сочетаниям аминокислот (доменам) в молекулах белков. Посадка различных белковых факторов на соответствующие мотивы в нити ДНК приводит к изменениям ее пространственной организации и началу транскрипции кодирующей части гена (если белок является активатором) или блокированию транскрипции (если белок является инактиватором).

На рис. 14.8. изображен фрагмент (около 700 пар нуклеотидов) регуляторной части гена *eve* (*even-skipped*), который контролирует

развитие правильной сегментации тела дрозифилы. Видно, что мотивы нуклеотидов, связывающих активирующие белки генов *bcd* и *hb* часто перекрываются с мотивами, на которые садятся белки, подавляющие транскрипцию (гены *Kr* и *gt*).

Эти данные свидетельствуют о том, что расположение белков, синтезированных в материнском организме, в определенной части яйца (см. рис. 14.7.) имеет первостепенное значение для процесса активирования генов в уже начавшем развитии эмбрионе. Ясно, что ген *eve* будет функционировать в той части эмбриона, в которой содержится много материнских белков *bcd* и *hb* и не будет



**Рис. 14.8.** Часть регуляторного участка гена *eve* длиной 700 пар нуклеотидов (от -800 до -1500 нп) (Из: Lawrence, 1992, р. 73). На рис. **а** нарисована в масштабе нить ДНК, выше и ниже которой соответствующими символами изображены участки посадки белков, кодируемых генами *Kr*, *gt*, *bcd* и *hb*. На рисунках **б** и **в** показаны последовательности нуклеотидов, связывающие данные белки

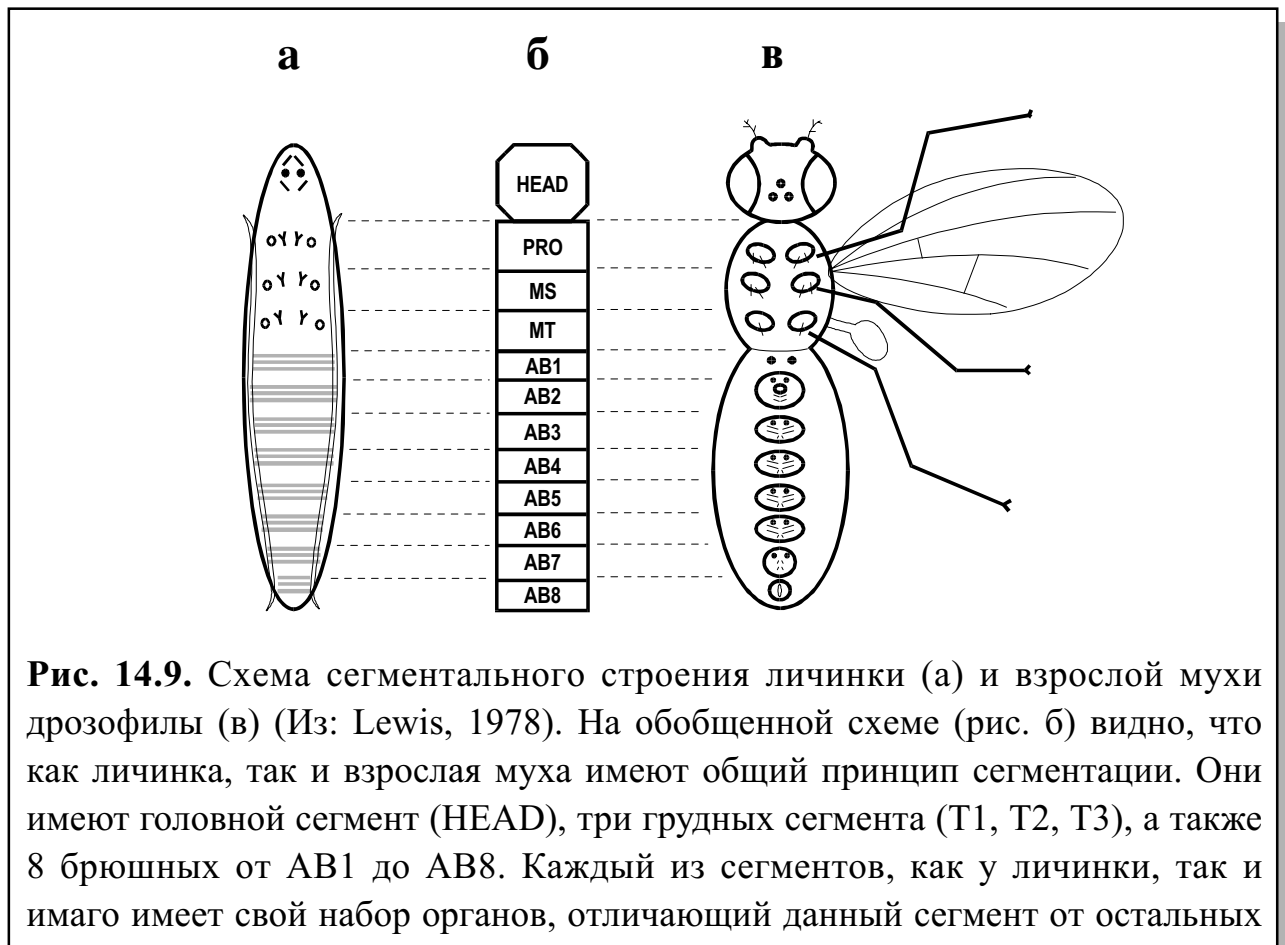
функционировать в клетках, содержащих избыток белков *Kr* и *gt*.

Одним из генов, осуществляющих важнейшую функцию на ранних этапах эмбрионального развития, является *BX-C* (комплекс *Bithorax*). Известно, что большинство представителей животного мира (исключая круглых червей) имеют сегментальное строение (рис. 14.9.), т.е. тело состоит из серии сегментов. У млекопитающих сегментальное строение наблюдается только на самых ранних этапах эмбриогенеза и эти сегменты носят название сомитов.

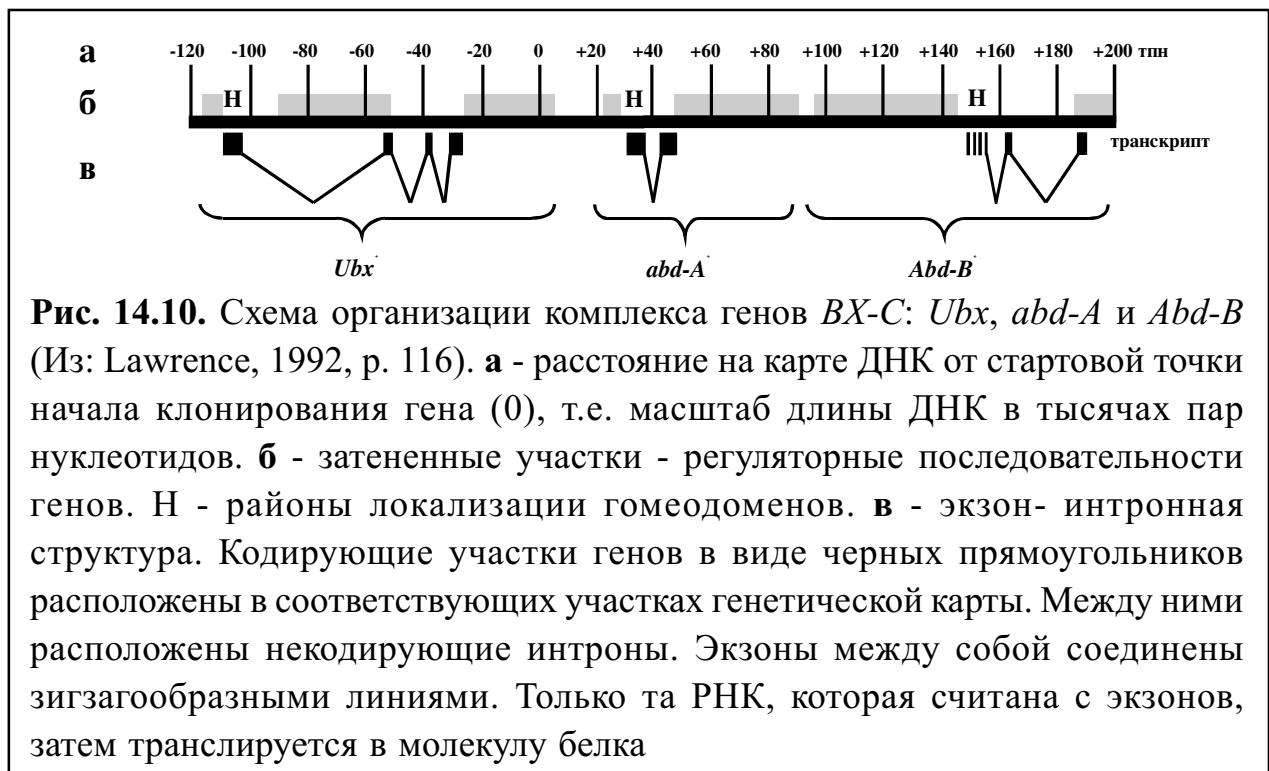
У дрозофилы личинки имеют ярко выраженные сегменты, у взрослых мух сегментацию, особенно брюшка, легко заметить даже невооруженным глазом (рис. 14.9.). Можно выделить всего 12 сегментов: один головной, три грудных и

восемь брюшных. Каждый сегмент имеет уникальный набор дифференцированных морфологических структур. Например, мезоторакальный сегмент несет пару крыльев и пару ног, метаторакальный - пару ног и пару гальтеров - особых булавовидных образований, помогающих удерживать равновесие в полете. Характерный набор можно найти и на сегментах личинки (см. рис. 14.9.).

По мнению выдающегося американского ученого Эдварда Льюиса, мухи эволюционировали из насекомых, имевших четыре крыла, а насекомые в свою очередь, произошли из членистоногих, имевших множество ног. В ходе эволюции мух у них должны были сформироваться несколько групп генов: те, которые подавляют развитие ног на брюшных сегментах многоножко-



**Рис. 14.9.** Схема сегментального строения личинки (а) и взрослой мухи дрозофилы (в) (Из: Lewis, 1978). На обобщенной схеме (рис. б) видно, что как личинка, так и взрослая муха имеют общий принцип сегментации. Они имеют головной сегмент (HEAD), три грудных сегмента (T1, T2, T3), а также 8 брюшных от AB1 до AB8. Каждый из сегментов, как у личинки, так и имаго имеет свой набор органов, отличающий данный сегмент от остальных



**Рис. 14.10.** Схема организации комплекса генов *BX-C*: *Ubx*, *abd-A* и *Abd-B* (Из: Lawrence, 1992, p. 116). **а** - расстояние на карте ДНК от стартовой точки начала клонирования гена (0), т.е. масштаб длины ДНК в тысячах пар нуклеотидов. **б** - затененные участки - регуляторные последовательности генов. Н - районы локализации гомеодоменов. **в** - экзон-интронная структура. Кодированные участки генов в виде черных прямоугольников расположены в соответствующих участках генетической карты. Между ними расположены некодирующие интроны. Экзоны между собой соединены зигзагообразными линиями. Только та РНК, которая считана с экзонов, затем транслируется в молекулу белка

подобных предков, а также генов, подавляющих развитие второй пары крыльев. Должна также была появиться группа генов, формирующих новые структуры: гальтеры и брюшные сегменты.

Одним из генов, влияющих на эти процессы, является *BX-C*. В ходе своих экспериментов Э. Льюис удалил ген *BX-C* с помощью небольшой нехватки хромосомного материала в том районе, где этот ген локализован. Организм без этого гена развивается до конца периода эмбрионального развития и затем гибнет.

Погибший эмбрион можно рассмотреть. Результаты оказались поразительными. Этот организм имел очень характерную морфологию: у него были только вторые торакальные сегменты (или мезоторакальные на рис. 14.9.). Если бы этот организм остался жить и вырос во взрослую муху, то она бы имела 10 пар крыльев и 10 пар ног. Э.

Льюис сделал вывод о том, что функция гена *BX-C* заключается в инактивации генов, формирующих ноги и крылья во всех последующих сегментах после второго торакального и в формировании всех структур на брюшных сегментах.

В дальнейших экспериментах оказалось, что *BX-C* содержит три различных гена: *Ubx*, *abd-A* и *Abd-B* (рис. 14.10.). Каждый из них контролирует формирование определенной группы сегментов. Мутации этих генов заставляют последующие сегменты развиваться в предыдущие, и генетический порядок мутантов грубо соответствует пространственному порядку органов по оси тела (рис. 14.11.). Так, если все три гена удалены (*Ubx*, *abd-A*, *Abd-B* на рис. 14.11.), нормально развиваются только первый торакальный (Т1) и девятый брюшной (А9) сегменты, контролируемые другими генами, все остальные сегменты (Т3 и все

последующие брюшные) развиваются как более ранние T2.

Если ген *Ubx* сохраняется, но повреждаются *abd-A* и *Abd-B*, нормально развиваются все грудные сегменты, а все брюшные представлены самым первым A1 (рис. 14.11.).

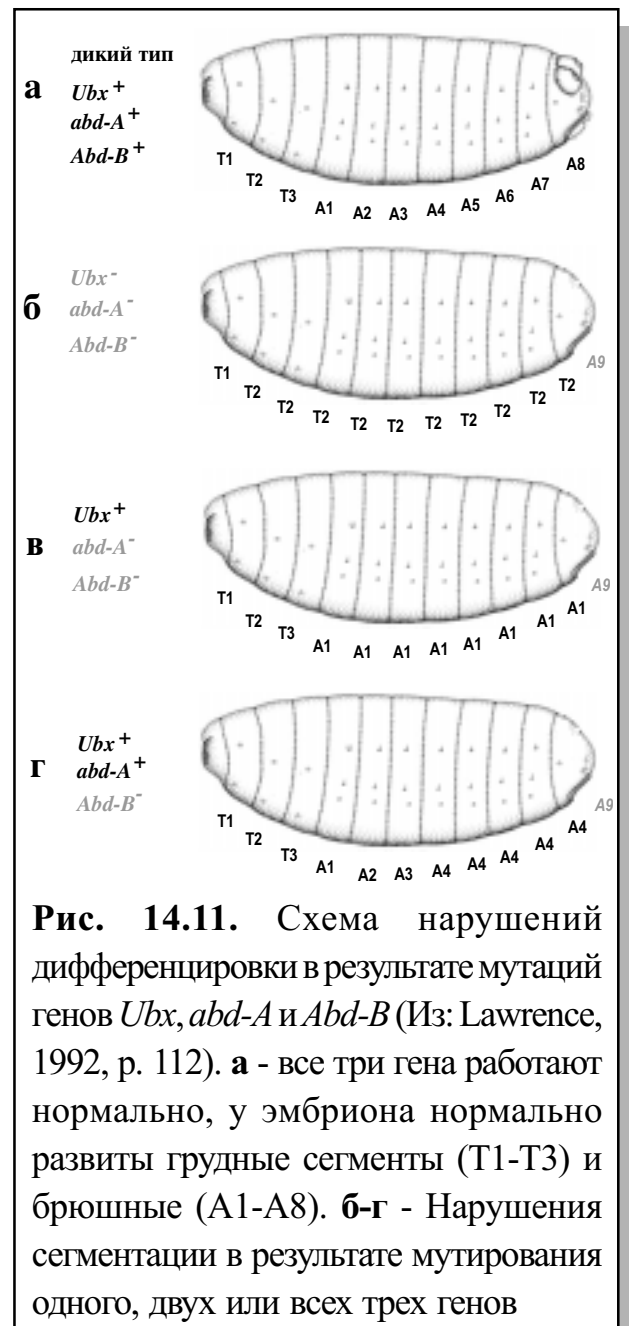
При повреждении *Abd-B* гена нормально развиваются все грудные сегменты, затем брюшные A1, A2 и A3, все остальные представлены сегментом A4 (см. рис. 14.11.).

В молекулярно-генетических экспериментах выяснили, что все три гена комплекса *VX-C* имеют гомологичные друг другу участки, т.е. последовательности нуклеотидов в них фактически одинаковы (более 90% сходства). Последовательность длиной 180 пар нуклеотидов, которая имела наибольшую гомологию, назвали гомеодоменом.

К настоящему времени найдены сотни генов, обладающих гомеодоменом: у человека, мышей, птиц, лягушек, червей, жуков. Фактически все представители животного мира, проходящие хотя бы на некоторых этапах развития стадию сегментированного зародыша, имеют гены, обладающие гомеодоменом. А у дрозофилы найдено около 100 генов,

#### Дополнение 14.1.

Нобелевская премия 1995 года была присуждена Э. Льюису, Х. Нюсслайн-Волхард и Э. Вишаусу (E.V. Lewis, C. Nusslein-Volhard, E.F. Wieshaus) за открытие генетического контроля раннего эмбрионального развития.



**Рис. 14.11.** Схема нарушений дифференцировки в результате мутаций генов *Ubx*, *abd-A* и *Abd-B* (Из: Lawrence, 1992, р. 112). **а** - все три гена работают нормально, у эмбриона нормально развиты грудные сегменты (T1-T3) и брюшные (A1-A8). **б-г** - Нарушения сегментации в результате мутирования одного, двух или всех трех генов

содержащих в своем составе гомеодомен. 180 пар нуклеотидов гомеодомена кодируют фрагмент полипептида длиной в 60 аминокислот, который скручен в 4  $\alpha$ -спирали, каждая из которых отделена от другой наклоном оси вращения. Третья из этих спиралей помещается в большую бороздку ДНК, опознает последовательность нуклеотидов и связывается с ними.

Таковыми свойствами структуры обладают ДНК-связывающие белки -

факторы транскрипции. Процессы взаимодействия нуклеотидов ДНК и аминокислот белка-фактора транскрипции организованы так, что определенная последовательность нуклеотидов связывается только с определенной последовательностью аминокислот. Поэтому нуклеотиды в гомеодомене и расположены в такой консервативной последовательности у представителей разных типов, классов, родов и видов животных. Например, из 60 аминокислот в гомеодомене мухи дрозофилы и лягушки ксенопуса 55 оказались одинаковыми.

Рассмотренные выше данные несомненно свидетельствуют о том, что развитие - это процесс последовательного включения все более и более усложняющихся генных систем. При этом продукты одних генов находят специальные посадочные площадки в регуляторных районах других генов, садятся на них и включают эти гены в активное функционирование. И так - сплошная последовательность включений и выключений генов.

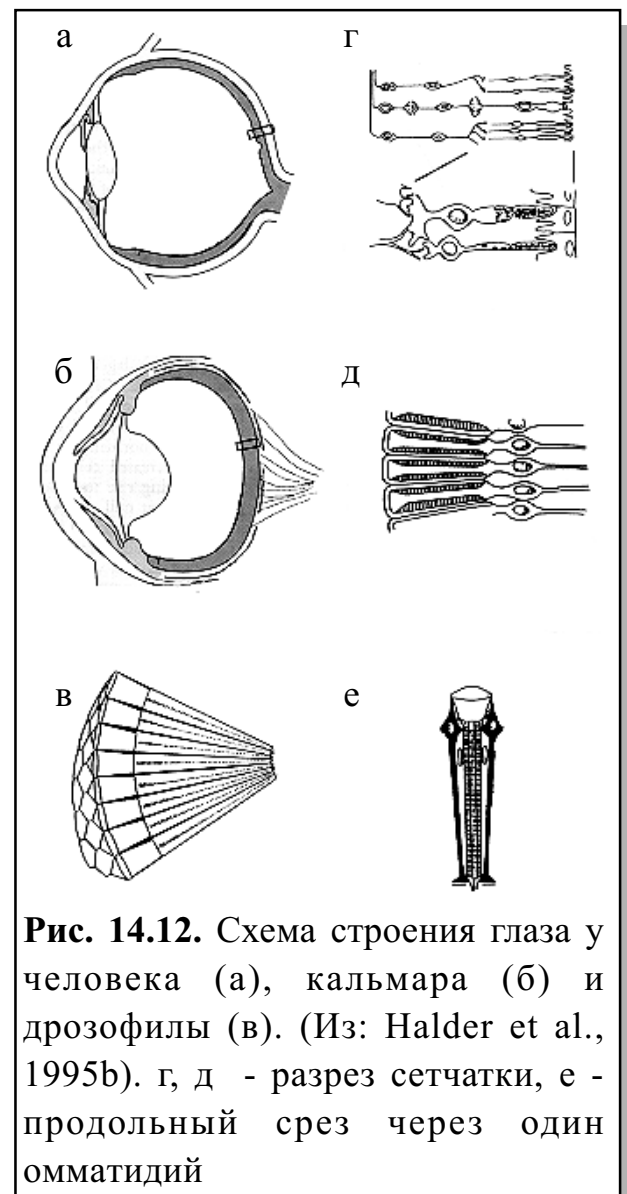
#### **14.5. Гомология генов, контролирующих раннее развитие**

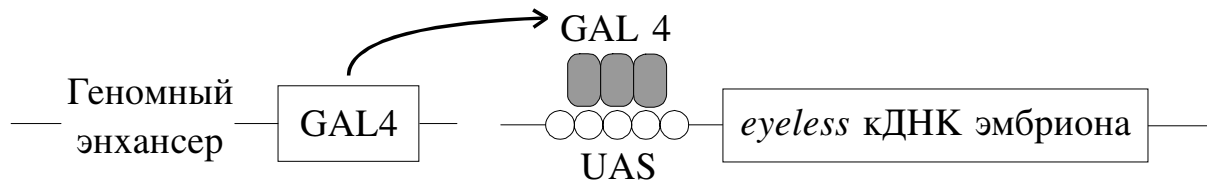
Описано огромное разнообразие типов, строения и функционирования глаз у животных (рис. 14.12.)

У дрозофилы мутация *eyeless* (*ey*) полностью останавливает развитие глаза (см. рис. 4.3.). У мыши и крысы мутация *Small eye* (*Sey*), а у человека - *Aniridia*, останавливает развитие глаз и эмбриона в целом.

Оказалось, что белки, кодируемые этими генами (*Pax*-гены), являются факторами транскрипции. Степень гомологии этих генов по аминокислотам достигает 97%.

Был сделан следующий эксперимент. Использовали линию дрозофил, трансформированную геном *GAL4*, выделенным из генома дрожжей. Этот ген встроился в геноме дрозофилы под энхансер, индуцирующий его экспрессию в крыловых, ножных и антеннальных имагинальных дисках (рис. 14.13).



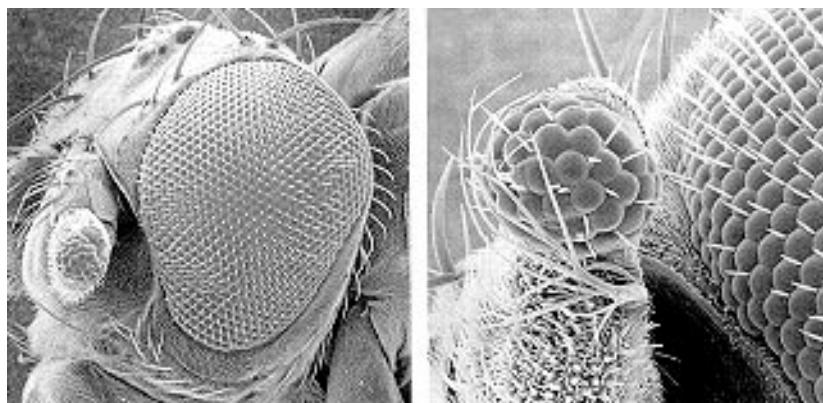


**Рис. 14.13.** Индуцированная экспрессия гена *eyeless* у дрозофилы (Из: Gehring, 1996)(Объяснения в тексте)

Под действием геномного энхансера синтезируется белок GAL4, который в свою очередь является активатором транскрипции, который может заставить экспрессироваться любой ген, если он расположен сразу после UAS (upstream activating sequence). UAS состоит из пяти сайтов связывания белка GAL4. Если вторично трансформировать мух конструкцией, состоящей из UAS и нужного гена, например гена или кДНК *ey*, как это показано на рис. 14.13., этот ген будет экспрессироваться не только в глазных, но и ножных, крыловых и антеннальных имагинальных дисках. В результате у имаго образуются дополнительные глаза на ногах, антеннах и крыльях. Это так называемые эктопические (т.е.

возникшие не на своем месте) глаза. Они имеют нормальную морфологию с нормальными фоторецепторами, линзами и пигментными клетками. Оказалось, что эктопические глаза возникают, если вместо собственно гена *eyeless* дрозофиле ввести ген *Small eye* мыши (рис. 14.14.).

Как было недавно установлено, около 2500 генов вовлечено в развитие глаза и весь каскад генов прямо или опосредованно контролируется одним главным, или мастер-геном. Именно матер-гены, контролирующие развитие на ранних этапах эмбриогенеза и имеют максимальную гомологию (см. дополнительно: Quiring et al., 1994; Halder et al., 1995a,b; Gehring, 1996).



**Рис. 14.14.** Индукция эктопического глаза на антенне дрозофилы, возникшего в результате индукции гена *Small eye* мыши (Из: Gehring, 1996). Меньшее (а) и большее (б) увеличение головы мухи с большим сложным фасеточным глазом и маленьким эктопическим глазом на антенне





Вальтер Геринг

#### **14.6. Апоптоз (Генетически запрограммированная смерть клетки)**

(См. Агол, 1996) (не читал).

#### **14.7. Генетический контроль метаморфоза у насекомых**

(не читал).

#### **Литература**

Агол В.И. Генетически запрограммированная смерть клетки. Соросовский образовательный журнал, №6, 20-24, 1996.

Алиханян С.И., Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. Москва, Высшая школа, 1-446, 1985.

Астауров Б.Л. Партеногенез, андрогенез и полиплоидия. Москва, Наука, 1-344, 1977.

Гердон Дж. Пересадка ядер и клеточная дифференцировка. В кн. "Молекулы и клетки", вып. 5, Москва, Мир, 1970, 19-37.

Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев, Наукова Думка, 1-558, 1983.

Корочкин Л.И. Как гены контролируют развитие клеток. Соросовский образовательный журнал, №1, 17-22, 1996.

Лобашев М.Е. Генетика (издание второе). Ленинград, Издательство ЛГУ, 1-751, 1967.

Маркерт К., Уршпрунг Г. Генетика развития. Москва, Мир, 1-270, 1973.

Морган Т.Г. Развитие и наследственность. Ленинград, Биомедгиз, 1-241, 1937.

Хадорн Э. В кн. "Молекулы и клетки", вып. 5, Москва, Мир, 1970, 54-61.

Корочкин Л.И. Взаимодействие генов в развитии. Москва, Наука, 1977, 200 с.

Gehring W.J. The master control gene for morphogenesis and evolution of the eye. *Genes to Cells* 1, 11-15, 1996.

Halder G., Callaerts P., Gehring W.J. Induction of ectopic eyes by targeted expression of the *eyeless* gene in

- 
- Drosophila*. Science 267, 1788-1792, 1995a.
- Halder G., Callaerts P., Gehring W.J. New perspectives on eye evolution. Current Opin. Genet. Developm. 5, 602-609, 1995b.
- Lewin B. Genes V. Oxford, New York, Tokyo, Oxford University Press, 1-1272, 1994.
- Lewis E.B. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. Nature, 1978, V. 276, 565-570.
- Lawrence P.A. The making of a fly. The genetics of animal design. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1992, 232 P.
- Lawrence P.A., Struhl G. Morphogens, compartments and pattern: lessons from *Drosophila*? Cell 85, 951-961, 1996.
- Quiring R., Walldorf U., Kloter U., Gehring W.J. Homology of the *eyeless* gene of *Drosophila* to the *Small eye* gene in mice and *Anitridia* in humans. Science 265, 785-789, 1994.
- Srb A.M., Owen R.D., Edgar R.S. General genetics. Second edition. San Francisco, London, W.H. Freeman and company, 1-577, 1965.
- Wilmot I., Schnieke A.E., McWhir J., Kind A.J., Campbell K.H.S. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cell. Nature 385, 810-813, 1997.