

GENE ACTION IN EARLY DEVELOPMENT OF DROSOPHILA

I. F. ZHIMULEV

The dependence of cell differentiation on gene activity was established in numerous experiments. In the modern molecular genetic experiments numerous genes were discovered which exert control of development of many organs during early embryonal development. These genes are arranged as cascades of genes.

Зависимость клеточной дифференцировки от активности генов установлена в самых разнообразных опытах. В современных молекулярно-генетических экспериментах выявлены гены, осуществляющие контроль развития многих органов. Функционально эти гены организованы в каскады.

ДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ В РАННЕМ РАЗВИТИИ ДРОЗОФИЛЫ

И. Ф. ЖИМУЛЕВ

Новосибирский государственный университет

В ходе развития организма формируются многочисленные органы и ткани, совершенно непохожие друг на друга. Они приспособлены для выполнения определенных функций, и каждая ткань поразительно отличается от остальных. В исследовании дифференцировки органов и тканей необходимо решить две проблемы: каким образом ткани становятся непохожими друг на друга и каким образом дифференцированное состояние, характерное для каждой клетки, наследуется в ряду клеточных поколений. В последние годы благодаря использованию в исследованиях недавно разработанных методов молекулярной биологии и клонирования ДНК достигнуты огромные успехи в понимании того, как развивается организм и как происходит дифференциация клеток. Наиболее важные успехи достигнуты в области изучения действия генов в самом раннем эмбриональном развитии дрозофилы. Генетики, добившиеся выдающихся успехов в этой области, Эдвард Льюис, Кристина Нюсслайн-Волхард и Эрик Вишаус получили в 1995 году Нобелевскую премию.

Еще в 50-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, то есть своя информация о последующем развитии, — то, что генетики 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 состоит в том, чтобы синтезировать продукцию и перекачивать ее в ооцит. В них функционируют так называемые гены с материнским эффектом, то есть такие гены, которые функционируют в питающих клетках ооцитов — в организме матери еще до оплодотворения яйца сперматозоидом, и информация, считанная с них, передается в ооцит.

Оказывается, что белки, кодируемые генами, функционирующими в ходе созревания яйца и транспортируемые туда из питающих клеток, распределяются по оси яйца, образуя градиент. На рис. 1 показано распределение в пределах яйца продукта гена *bicoid*. Он занимает строго определенный участок яйца. Чтобы продукт занял это место, нужно, чтобы поработали и другие гены. Если гены мутируют, продукт распределяется неправильно. Так, в нормальном яйце РНК гена *bicoid* (*bcd*) располагается в узлокальном участке (рис. 1). Однако у некоторых мутантов распределение этой РНК в яйце сильно изменено: в результате мутации гена *exuperantia* РНК *bcd* более или менее равномерно распределена по всему яйцу с небольшим градиентом от переднего полюса к заднему. У мутантов *swallow* градиент этого морфогена выражен сильнее, то есть распределение его ближе к нормальному: в передней части яйца выявлено большое скопление РНК *bcd* и некоторое ее количество распределено в остальной цитоплазме (рис. 1). Совсем близкое к норме, но все еще ненормальное распределение продукта *bcd* обнаружено у мутантов *staufer* (рис. 1): у них РНК *bcd* вообще не переходит в заднюю часть эмбриона.

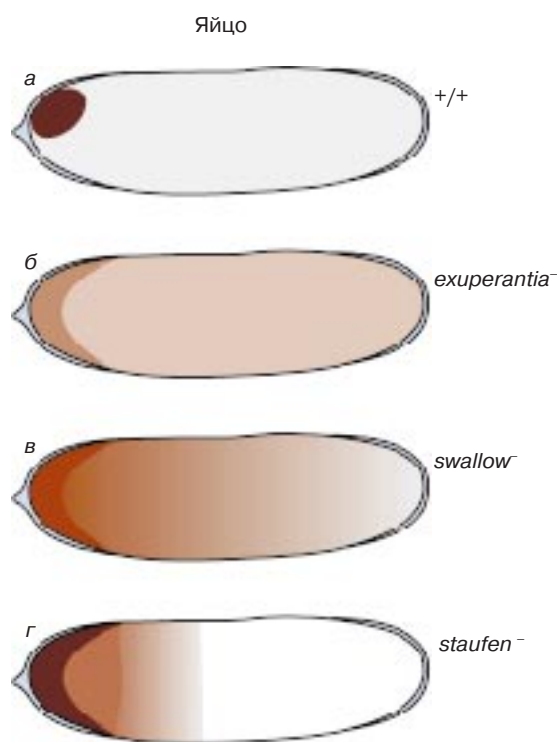


Рис. 1. Распределение по длине яйца дрозофилы матричной РНК, считанной с гена *bicoid* в нормальной линии (темное пятно) (а), у мутантов *exuperantia* (б), *swallow* (в) и *staufer* (г) (по [4])

Таким образом РНК считывается с гена *bicoid* еще 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 *staufer*) эта РНК занимает определенное положение в цитоплазме яйца, то есть создается определенный градиент в распределении этого морфогена. В случае мутации любого из трех перечисленных генов распределение РНК *bcd* изменяется, что приводит к серьезнейшим нарушениям развития.

Известно, что в яйцо поступает РНК, считанная с огромного числа генов. Поскольку каждая из этих РНК еще и распределяется по своим местам в яйце в результате активности других генов, совершенно очевидно сколь огромно число генов, участвующих в формировании яйца. 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 *bcd*, будет испытывать его влияние и развитие пойдет в одном направлении; если клетка расположена в задней части эмбриона, где морфогена *bcd* нет (см. рис. 1), 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? Установлено, что любой ген состоит из трех элементов: некодирующей и нетранскрибируемой (регуляторной) части, расположенной в начале любого гена, а также кодирующих фрагментов — экзонов, перемежаемых некодирующими, но транскрибируемыми участками — интронами. Оказалось, что 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. 2 изображен фрагмент (около 700 пар нуклеотидов) регуляторной части гена *eve* (*even-skipped*), который контролирует развитие правильной сегментации тела дрозофилы. Видно, что мотивы нуклеотидов, связывающих активирующие белки генов *bcd* и *hb*, часто перекрываются с мотивами,

6

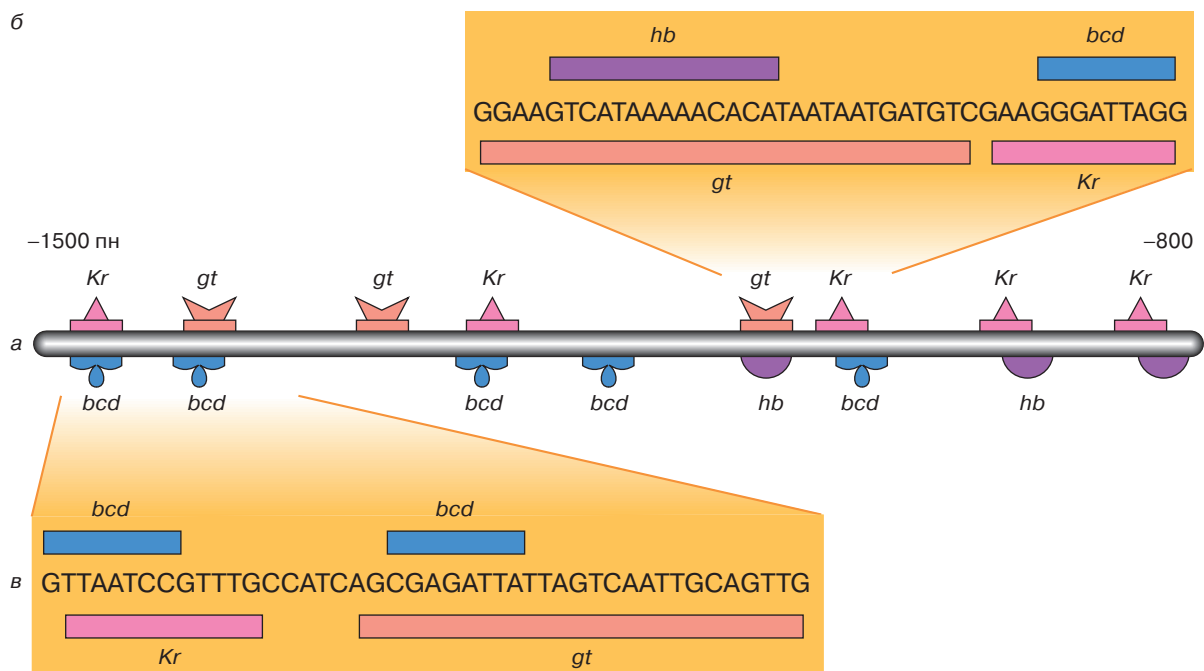


Рис. 2. Часть регуляторного участка гена *eve* длиной 700 пар нуклеотидов (от -800 до -1500 пн) (по [4]): на рис. а нарисована в масштабе нить ДНК, выше и ниже которой соответствующими символами изображены участки посадки белков, кодируемых генами *Kr*, *gt*, *bcd* и *hb*; б и в – последовательности нуклеотидов, связывающие данные белки

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. 1) 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 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. 3), то есть тело состоит из серии члеников или сегментов. У млекопитающих сегментальное строение наблюдается 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. 3). 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 образова-

ний, помогающих удерживать равновесие в полете. Характерный набор можно найти и на сегментах личинки (см. рис. 3).

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 формироваться несколько групп генов: тех, которые подавляют развитие ног на брюшных сегментах многоножкоподобных 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 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. Результаты изучения погибшего эмбриона оказались поразительными. Этот организм имел характерную морфологию: у него были только вторые торакальные сегменты (или мезоторакальные на рис. 3). Если бы этот организм остался жить и вырос во взрослую муху, то она имела бы 10 пар крыльев и 10 пар ног. Э. Льюис сделал вывод о том, что функция гена *BX-C* заключается в инактивации генов,

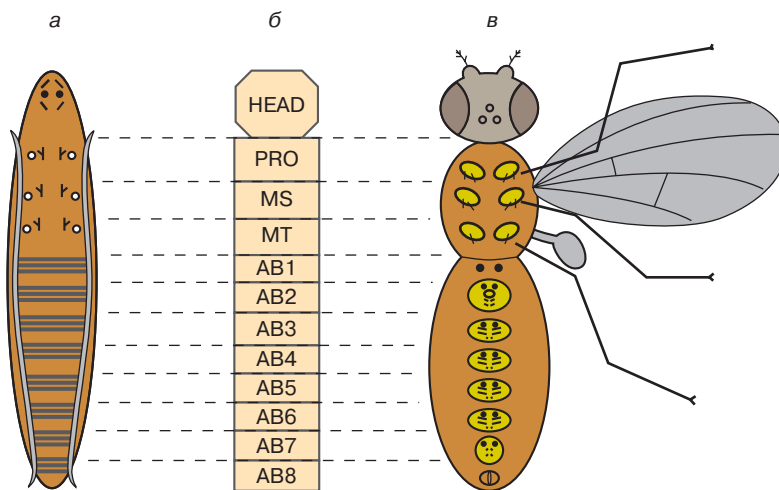


Рис. 3. Схема сегментального строения личинки (а) и взрослой мухи дрозофилы (в) (по [7]). На обобщенной схеме (б) видно, что как личинка, так и взрослая муха имеют общий принцип сегментации. Они имеют головной сегмент (HEAD), три грудных сегмента (T1, T2, T3), а также восемь брюшных от AB1 до AB8. Каждый из сегментов как у личинки, так и имаго имеет свой набор органов, отличающий данный сегмент от остальных

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. 4). 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. 5). Так, если все три гена удалены (*Ubx⁻*, *abd-A⁻*, *Abd-B⁻* на рис. 5), нормально развиваются только первый торакальный (T1) и девятый брюшной (A9) сегменты, контролируемые другими генами. Все остальные сегменты (T3 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. 5). При повреждении гена *Abd-B* нормально развиваются все грудные сег-

менты, затем брюшные A1, A2 и A3, все остальные представлены сегментом A4 (см. рис. 5).

В молекулярно-генетических экспериментах выяснили, что все три гена комплекса *BX-C* имеют гомологичные друг другу участки, то есть последовательности нуклеотидов в них 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, содержащих в своем составе гомеодомен. 180 пар нуклеотидов гомеодомена кодируют полипептид длиной 60 аминокислот. Эти 60 аминокислот скручены в четыре α -спирали, каждая из которых отделена от другой наклоном оси вращения. Третья из этих спиралей помещается

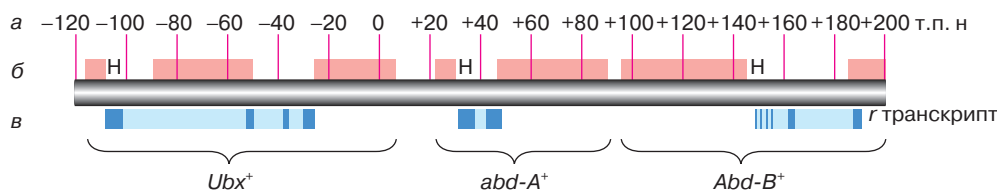


Рис. 4. Схема организации комплекса генов *BX-C*: *Ubx*, *abd-A* и *Abd-B* (по [4]): а – расстояние на карте ДНК от стартовой точки начала клонирования гена (0), то есть масштаб длины ДНК в тысячах пар нуклеотидов; б – затененные участки – регуляторные последовательности генов. Н – районы локализации гомеодоменов; в – экзонинтронная структура. Кодирующие 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 экзона, затем транскрибируется в молекулу белка

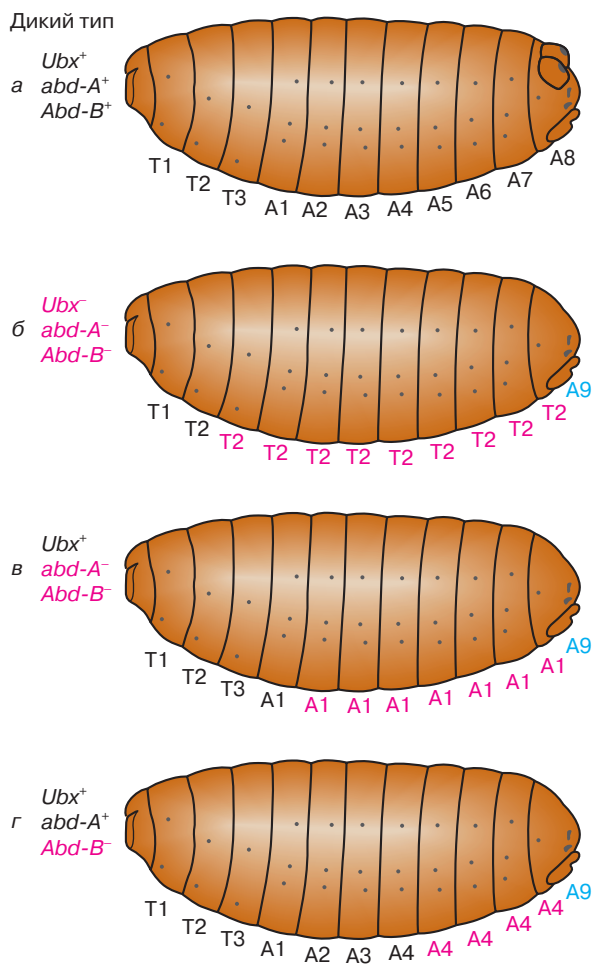


Рис. 5. Схема нарушений дифференцировки в результате мутаций генов *Ubx*, *abd-A* и *Abd-B* (по [4]): а – все три гена работают нормально, у эмбриона нормально развиты грудные сегменты (Т1–Т3) и брюшные (А1–А8); б–г – нарушения сегментации в результате мутирования трех, двух или одного гена

в большую бороздку ДНК, опознает последовательность нуклеотидов и связывается с ними.

Такими свойствами структуры обладают связывающиеся с ДНК белки – факторы транскрипции. Взаимодействие нуклеотидов в ДНК и аминокислот

белка – фактора транскрипции происходит 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 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 в ходе всего развития – непрерывающаяся последовательность включений и выключений генов.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Гердон Дж. // Молекулы и клетки. М.: Мир, 1970. Вып. 5. С. 19–37.
2. Хадорн Э. // Там же. С. 54–61.
3. Корочкин Л.И. Взаимодействие генов в развитии. М.: Наука, 1977. 200 с.
4. Lawrence P.A. The Making of a Fly: The Genetics of Animal Design. Oxford: Blackwell Sci. Publ., 1992. 232 p.
5. Lawrence P.A., Morata G. // Cell. 1994. Vol. 78. P. 181–189.
6. Lawrence P.A., Struhl G. // Cell. 1996. Vol. 85. P. 951–961.
7. Lewis E.B. // Nature. 1978. Vol. 276. P. 565–570.
8. Martin C.H. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1995. Vol. 92. P. 8398–8402.

* * *

Игорь Федорович Жимулев, доктор биологических наук, зав. лабораторией молекулярной цитогенетики Института цитологии и генетики СО РАН, профессор кафедры цитологии и генетики Новосибирского государственного университета, академик Европейской академии наук, член-корреспондент Российской академии естественных наук. Автор около 180 научных статей, в том числе четырех монографий.