

THE DEVELOPMENTALLY PROGRAMMED REARRANGEMENTS OF GENOMES

V. M. GLASER

Programmed genomic rearrangements based on special recombination systems occur on certain steps in the life cycle of various organisms. Such events participate in the regulation of gene expression during the development. In the article are considered patterns of developmentally regulated DNA reorganizations in bacteria, protozoa and metazoan animals.

У многих организмов на определенных стадиях онтогенеза происходят закономерные перестройки в генетическом аппарате, основанные на работе специальных систем генетической рекомбинации. Эти перестройки участвуют в регуляции работы генов в процессе развития организмов. В статье рассмотрены примеры запрограммированных перестроек у бактерий, простейших и многоклеточных животных.

© Глазер В.М., 1998

ЗАПРОГРАММИРОВАННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ОНТОГЕНЕЗЕ

В. М. ГЛАЗЕР

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Одна из глобальных проблем современной биологии — регуляция работы генов сложна и многогранна из-за необычайного разнообразия участвующих в ней процессов. Этому вопросу посвящены три статьи в “Соросовском Образовательном Журнале” [1–3], но они охватывают только часть проблемы, которая вряд ли будет исчерпана в обозримом будущем.

Мы рассмотрим некоторые из способов регуляции генов, в основе которых лежат перестройки генетического материала (ДНК), происходящие в онтогенезе. Такие перестройки широко распространены и у одноклеточных организмов, и в соматических клетках многоклеточных. Они могут осуществляться на различных этапах жизненных циклов организмов. Многие из них возникают случайно, тогда как другие закономерно происходят на строго детерминированных стадиях дифференцировки определенных типов клеток. В последние годы наблюдается накопление экспериментальных данных о закономерных (запрограммированных) перестройках генетического материала в онтогенезе различных представителей живого мира. Недавно возникло новое направление генетики, изучающее запрограммированные перестройки геномов как явления, непосредственно связанные с клеточной дифференцировкой.

В основе реорганизации геномов лежит генетическая рекомбинация. Общеизвестно, что рекомбинация является важным источником наследственной изменчивости и играет одну из главных ролей в эволюции органического мира. Такая рекомбинация проявляется в виде случайных событий. Однако вместе с изучением запрограммированных перестроек пришло понимание и важной роли рекомбинации в онтогенезе живых организмов. Рекомбинация выступает здесь как один из способов регуляции экспрессии генов. Ее участие существенно дополняет другие, более традиционные способы генетической регуляции. Не будь этого, природа никогда не достигла бы того разнообразия форм жизни, которое нам еще довелось застать.

Сразу оговоримся, что в разных перестройках задействованы различные типы рекомбинации. Их

молекулярные механизмы разобраны в статьях [4, 5]. В этой статье достаточно ограничиться самыми общими схемами рекомбинационных процессов, по которым осуществляются перестройки и на которые мы будем опираться в дальнейшем, акцентируя внимание на биологическом значении этих явлений. Отметим только, что речь пойдет как о внутримолекулярной рекомбинации, так и о рекомбинации между молекулами ДНК. Но в отличие от обычного кроссинговера, который происходит преимущественно в мейозе, здесь функционируют главным образом эктопическая (см. [4]) и сайт-специфическая (см. [5]) рекомбинации, которые осуществляются путем кроссинговера между повторяющимися последовательностями ДНК. Напомним, что разнообразные повторяющиеся последовательности представлены в широком ассортименте в геномах всех организмов. По отношению друг к другу они могут находиться либо в прямой, либо в обратной (обращенные повторы) ориентации, что определяет результат рекомбинации. В осуществлении запрограммированных перестроек обычно используются особые, специфические повторы ДНК. У эукариот такие процессы особенно характерны для соматических клеток. Отметим, что, хотя молекулярные механизмы эктопической и сайт-специфической рекомбинаций принципиально различны [4, 5], их схемы, будучи представлены в общем, упрощенном, без детализации реакций на молекулярном уровне, совпадают. Поэтому для успешного восприятия материала этой статьи необходимо разобрать схемы эктопической рекомбинации, которые представлены на рис. 2 в статье [4]. Это важно, так как в схемах, которые будут приведены в данной статье, сами рекомбинационные реакции изображены не будут. Это делается для того, чтобы не перегружать схемы деталями и избежать повторения рисунка из статьи [4]. И в тексте и в рисунках ограничимся лишь констатацией участия рекомбинационных реакций в расчете на знание читателем их схем.

Рассмотрение конкретных примеров геномных перестроек начнем с более просто устроенных прокариотических организмов. В качестве отправной точки вспомним хорошо изученную систему незапрограммированных (случайных) перестроек ДНК (см. [5]).

САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИНВЕРСИИ СЕГМЕНТОВ ХРОМОСОМ У ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ИХ БАКТЕРИОФАГОВ

Эти перестройки распространены среди некоторых бактерий, относящихся к группе энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Citrobacter*), и их умеренных бактериофагов (P1, P7, Mu, D108). Они проявляются в поворотах на 180° (инверсиях) специальных сегментов хромосомы, ограниченных обращенными повторами. Инверсии происходят с высокой частотой путем кроссингове-

ра между повторами, катализируемого специальными ферментами – инвертазами. Назначение инверсий заключается в изменении ориентации генов, расположенных в районе рекомбинации, относительно их промоторов. Таким образом, инверсии включают одни гены и выключают другие.

Эти процессы (главным образом их молекулярный механизм) уже были описаны нами [5]. Однако для цельности изложения материала и сохранения его логики рассмотрим один пример сайт-специфической инверсии, но уже с точки зрения ее биологической функции. Система, осуществляющая сайт-специфическую инверсию специального сегмента Н (993 п.н.) в хромосоме *S. typhimurium*, ответственна за смену флагеллинов – жгутиковых антигенов этой патогенной для грызунов бактерии (рис. 1). После того как организм хозяина выработал антитела к антигену, который внесла заразившая его бактерия, в популяции ее потомков за счет переключения генов флагеллинов случайно возникают клетки с другим антигеном. Благодаря устойчивости к выработанному в зараженном организме антителу эти клетки начинают размножаться и обеспечивают новую волну инфекции. Таким образом, переключение

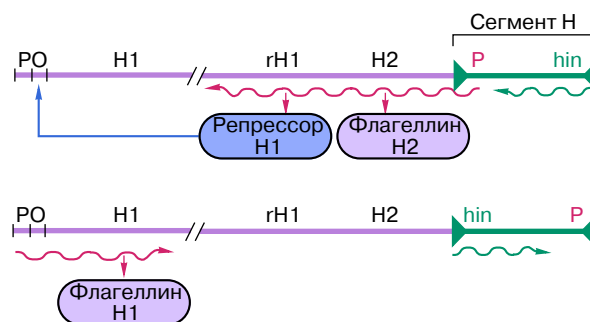


Рис. 1. Схема регуляции генов флагеллинов у *Salmonella typhimurium*. Регуляция генов флагеллинов осуществляется путем инверсий сегмента Н (выделен зеленым цветом). Сегмент Н имеет на концах обращенные повторы, изображенные в виде зеленых треугольников. Сегмент несет ген инвертазы *hin* с собственным промотором, не показанным на рисунке, и с промотором Р (выделен красным цветом), общим для гена флагеллина *H2* и гена *rH1*, кодирующего репрессор гена *H1*. Ген флагеллина *H1* находится в другом районе хромосомы и имеет собственный оператор О и промотор Р. На верхнем рисунке гены *rH1* и *H2* состыкованы со своим промотором и экспрессируются. Продукт гена *rH1* подавляет ген *H1*, в результате синтезируется только флагеллин *H2*. На нижнем рисунке представлен результат инверсии сегмента Н. Промотор генов *rH1* и *H2* отворачивается от них (экспрессия генов прекращается), и ничто не препятствует синтезу флагеллина *H1*. Волнистые стрелки показывают транскрипты генов. Стрелка, ведущая от белка-репрессора к оператору гена *H1*, изображает репрессию этого гена

генов при инверсии специального сегмента хромосомы имеет приспособительное значение.

Рассмотренные в этом разделе рекомбинационные перестройки являются случайными, хотя и с некоторыми оговорками: они осуществляются в специфических участках генома и с высокой частотой, достаточной для того, чтобы несущие их особи обязательно появлялись в бактериальной или фаговой популяции. Этот тип перестроек можно рассматривать как переходный между полностью случайными рекомбинационными событиями, происходящими в произвольных участках хромосом (такими, например, как обычный мейотический или митотический кроссинговер или транспозиции подвижных генетических элементов), и запрограммированными геномными перестройками, которые обязательно происходят в заданное время в определенном участке генома.

ЗАПРОГРАММИРОВАННЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ДНК У БАКТЕРИЙ

До настоящего времени у бактерий известны четыре примера таких перестроек. Одна происходит в хромосоме так называемой материнской клетки в ходе споруляции у *Bacillus subtilis* – сенной палочки, три другие – в процессе дифференцировки гетероцист у нитчатых цианобактерий. Суть всех четырех перестроек заключается в том, что у определенных генов, необходимых для развития, кодирующие последовательности прерваны специальными ДНК-элементами. В определенных клетках на определенной стадии развития происходит восстановление кодирующих последовательностей. Каждый элемент имеет на своих концах короткие прямые повторы и кодирует собственную рекомбиназу – фермент, который узнает прямые повторы и катализирует вырезание элемента в виде кольцевой молекулы ДНК и состыковку разделенных частей генов путем рекомбинации между повторами. Эти перестройки закономерно происходят на определенной стадии морфологической дифференцировки и являются участниками более сложных событий, включающих последовательную активацию многих других генов.

Развитие эндоспоры у *B. subtilis*

В ответ на неблагоприятные условия бактерия начинает формировать эндоспору. Так называют спору, возникающую внутри клетки. Эндоспора – толстостенное образование, высокоустойчивое к неблагоприятным факторам среды и находящееся в состоянии анабиоза, что позволяет пережить плохие времена. При попадании в нормальные условия она прорастает.

Процесс споруляции осуществляется по сложной программе (рис. 2). При этом бактериальная клетка превращается в так называемый спорангий.

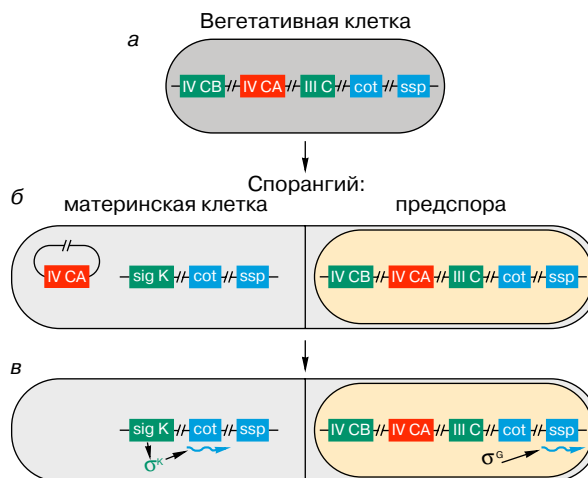


Рис. 2. Сокращенная схема отдельной регуляции экспрессии генов в двух частях спорангия в процессе споруляции у *Bacillus subtilis*: а – участок хромосомы вегетативной клетки, несущий некоторые гены, участвующие в процессе споруляции. Гены изображены в виде прямоугольников; б – дивергенция генетического материала в разных частях спорангия. Только в материнской клетке происходит перестройка хромосомы, приводящая к удалению элемента из 42 т.п.н. с геном *IVCA* (выделен красным цветом). При этом происходит состыковка сегментов *IVCB* и *IIIC* с образованием гена *sigK*; в – дифференциальная экспрессия генов в материнской клетке и предспоре, вызываемая факторами σ^K и σ^G . Волнистые стрелки изображают транскрипты генов. Остальные пояснения даны в тексте

Споруляция проходит через несколько хорошо морфологически различимых стадий, из которых нас интересует одна – образование асимметрично расположенной перегородки, которая делит спорангий на две неравные части: большую материнскую клетку и меньшую предспору (forespore). Перед этим произошел последний раунд вегетативной репликации ДНК, в результате которого материнская клетка и предспора унаследовали по одинаковой хромосоме. Но затем происходит дивергенция путей дифференцировки. Предспора развивается в зрелую эндоспору, тогда как материнская клетка, которая обеспечивает развитие эндоспоры, после исполнения своей роли отбрасывается. Таким образом, предспора соответствует зародышевой клетке многоклеточного организма, так как после прорастания она дает потомство. В то же время материнскую клетку можно рассматривать как конечно дифференцированную, так как она неспособна к репликации ДНК и делению.

Главное в процессе споруляции заключается в том, что регуляция экспрессии генов в обеих частях спорангия осуществляется по-разному. В каждой из них работает свой набор генов, ответственных за развитие эндоспоры. В целом в споруляции участвуют

более 80 генов. Их продукты необходимы для созревания и последующего прорастания эндоспоры. В ходе развития эндоспоры реализуется высокоупорядоченная программа последовательного включения определенных генов в разных частях спорангия. Важная часть в управлении этой программой основана на последовательном появлении разных сигма-факторов РНК-полимеразы. Как известно, сигма-факторы являются субъединицами бактериальных РНК-полимераз. Они придают холоферменту способность узнавать специфические типы промоторов, то есть включать определенные гены [1]. Рассмотрение всей схемы регуляции процесса споруляции выходит за рамки этой статьи. Мы ограничимся той ее частью, которая непосредственно связана с перестройкой генома.

Различия в экспрессии генов в двух частях спорангия определяются, в частности, наличием специфичных для них факторов σ^K и σ^G (см. рис. 2). Фактор σ^K включает определенные гены в материнской клетке, например гены *cot* (кодируют полипептидные компоненты оболочки эндоспоры). Фактор σ^G функционирует в предспоре, например он включает гены *ssp* (кодируют низкомолекулярные белки, участвующие в формировании эндоспоры). Особый интерес представляет ген *sigK*, кодирующий σ^K . Дело в том, что в вегетативных клетках он содержит вставку в виде элемента из 42 т.п.н., которая разделяет его на две части, называемые *spoIVCB* (кодирует аминоконцевую часть σ^K) и *spoIIIC* (кодирует карбокси-концевую часть) (рис. 2, а). Естественно, что в таком виде ген неактивен. В ходе споруляции эти две разобщенные части состыкуются с точностью до одного нуклеотида в общую кодирующую рамку: образуется нормальный ген. Эта перестройка происходит только в материнской клетке (рис. 2, б). Она осуществляется путем рекомбинации между прямыми повторами 5'-AATGA на концах элемента. Рекомбиназа, катализирующая перестройку, кодируется геном *spoIVCA*, который находится внутри самого элемента из 42 т.п.н., вырезаемого в виде кольца. Интересно, что эта рекомбиназа высоко гомологична описанным выше инвертазам и составляет с ними одно семейство белков.

Дифференцировка гетероцист у цианобактерий

Мы уже говорили, что цианобактерии обеспечивают три из четырех известных случаев регуляции экспрессии генов у бактерий путем запрограммированных геномных перестроек. Но сначала несколько слов о самом биологическом явлении, которое подвергается такой регуляции. Дело в том, что многие виды цианобактерий способны осуществлять азотфиксацию. Этот глобальный биологический процесс является основным природным способом образования связанных форм азота из атмосферного азота. Ключевую роль в процессе азотфиксации

играет ферментный комплекс, называемый нитрогеназой. Помимо других особенностей ее регуляции нитрогеназа отличается чувствительностью к кислороду, то есть для процесса азотфиксации необходима защита от него. У цианобактерий ситуация осложняется тем, что они обладают оксигенным типом фотосинтеза, сопровождающимся образованием кислорода — яда для нитрогеназы. Различные цианобактерии выходят из положения разными способами. Нитчатые, то есть образующие цепочки клеток, цианобактерии, относящиеся к родам *Anabaena* и *Nostoc*, формируют специально предназначенные для азотфиксации клетки, называемые гетероцистами. От наружного кислорода они защищены особой двухслойной оболочкой. Внутри гетероцист кислород не выделяется, так как фотосинтез в них не идет, его осуществляют вегетативные клетки. Благодаря толстостенной оболочке гетероцисты морфологически отличаются от вегетативных клеток. Кроме того, уже на ранних этапах дифференцировки гетероцист в них исчезают фотосинтетические пигменты — фикобилины, придающие синезеленый цвет вегетативным клеткам. Таким образом, эти два типа клеток различаются и морфологически, и биохимически. Подобно материнской клетке при споруляции у *B. subtilis*, гетероцисту также можно рассматривать как конечно дифференцированную клетку: она выполняет специальную функцию и неспособна к репликации ДНК и клеточному делению.

Теперь мы подошли к рекомбинационным перестройкам, которые играют заметную роль на определенной стадии дифференцировки гетероцисты. Одна из них происходит в гене *nifD*, кодирующем одну из субъединиц нитрогеназы. В вегетативных клетках этот ген расчленен на две части элементом из 11 т.п.н. При дифференцировке гетероцисты вырезание элемента вместе с геном собственной рекомбиназы происходит по уже знакомой нам схеме, но на этот раз по прямым повторам 5'-CGGAGAATCC. И здесь восстановление кодирующей последовательности гена происходит с точностью до нуклеотида. Аналогичный процесс независимо происходит в гене *fdxN*, также связанном с азотфиксацией. Кодирующая последовательность этого гена прервана элементом размером 55 т.п.н. с концевыми повторами 5'-GAATA. Совсем недавно была описана еще одна такая перестройка у *Anabaena*. Она обнаружена в гене *hupL*, кодирующем одну из субъединиц поглощающей гидрогеназы — фермента, также связанного с азотфиксацией. Для восстановления кодирующей рамки гена вырезается фрагмент размером 10,5 т.п.н., фланкированный прямыми 16-нуклеотидными повторами. Сам фрагмент тоже содержит ген сайт-специфической рекомбиназы. Можно полагать, что это не последняя из обнаруженных геномных перестроек такого типа, происходящих при формировании гетероцист. Разумеется, дифференцировка

гетероцист не сводится к описанным перестройкам. В ней задействовано много других генов.

РАЗВИТИЕ МАКРОНУКЛЕУСА У БРЮХОРЕСНИЧНЫХ ИНFUЗОРИЙ

Генетический аппарат ресничных инфузорий отличается ядерным диморфизмом. Он проявляется в наличии в клетке двух типов ядер: малого, оно же микронуклеус (Ми), и большого — макронуклеуса (Ма). Ми служит генеративным ядром, используемым для передачи наследственной информации в ряду поколений. В вегетативно растущих клетках гены Ми не транскрибируются. Зато активно транскрибируются гены Ма, выполняющего роль рабочего ядра и контролирующего процессы жизнедеятельности. Ма богаче ДНК (хроматином) по сравнению с Ми в сотни и даже тысячи раз. При бесполом размножении диплоидный Ми делится путем митоза, а Ма — с помощью прямого деления. Но это не может продолжаться бесконечно: постепенно Ма стареет, что приводит к ослаблению метаболической активности клетки. Необходимо обновление Ма. Поэтому время от времени у инфузорий происходит конъюгация — своеобразная форма полового процесса. Две клетки прикладываются друг к другу и плавают вместе 10–12 часов, а затем расходятся. За время конъюгации их Ма начали разрушаться, а Ми поделились путем мейоза на четыре гаплоидных ядра каждое. Ход последующих событий варьирует в деталях у разных видов инфузорий, но принципиальная схема общая: клетки партнеров обмениваются гаплоидными ядрами, по одному от каждой клетки, затем каждое сливается с местным (стационарным) гаплоидным ядром, то есть происходит оплодотворение. К этому моменту все лишние ядра дегенерируют, и в каждой клетке остается по одному диплоидному ядру — продукту оплодотворения. После расхождения партнеров ядро делится митотически на два. Одно из дочерних ядер останется Ми, другое превратится в Ма. Развитие Ма занимает несколько дней и сопровождается полной реорганизацией генома Ми-предшественника.

Чтобы облегчить понимание столь сложного процесса, сравним организацию Ми и Ма брюхо-ресничных инфузорий (Hypotrichida), представителями которых являются различные виды родов *Oxytricha* и *Euplotes*. ДНК хромосом Ми имеет большие размеры, характерные для эукариотических хромосом. Гены в них собраны в группы с длинными промежутками между ними, заполненными разнообразными уникальными и повторяющимися последовательностями ДНК. Важная особенность генов Ми заключается в том, что все они прерваны особыми элементами, называемым IES (internal eliminated sequences). Кодлирующие участки генов, разделенные IES, называют MDS (macro-nuclear destined sequences). Каждая IES уникальна, то есть все они разные. Размеры изученных IES варьируют от

14 до 548 п.н. Судя по их частоте на единицу длины ДНК, геном Ми должен содержать более 50 тыс. IES. Наличие этих элементов является достаточным, хотя и не единственным объяснением отсутствия экспрессии Ми-генов.

Вся ДНК в Ма представлена короткими молекулами с размерами от нескольких сот п.н. до 15 т.п.н., не содержащими никаких IES. Каждая молекула содержит одну единицу транскрипции и соответствует одному гену. Она окаймлена теломерами в виде повторов нуклеотидов, например повторов 5'-C₄A₄ у *Oxytricha*, то есть каждый ген в Ма является отдельной хромосомой. Каждый ген-хромосома представлен множеством (до тысячи, у некоторых генов до десятков тысяч) копий. У *Oxytricha nova* геном Ма в целом содержит примерно $2,5 \cdot 10^7$ генов-хромосом.

Приведенное сопоставление геномов позволяет представить, какая коренная перестройка генетического материала происходит при развитии Ма из Ми (рис. 3, а). Она начинается сразу после конъюгации

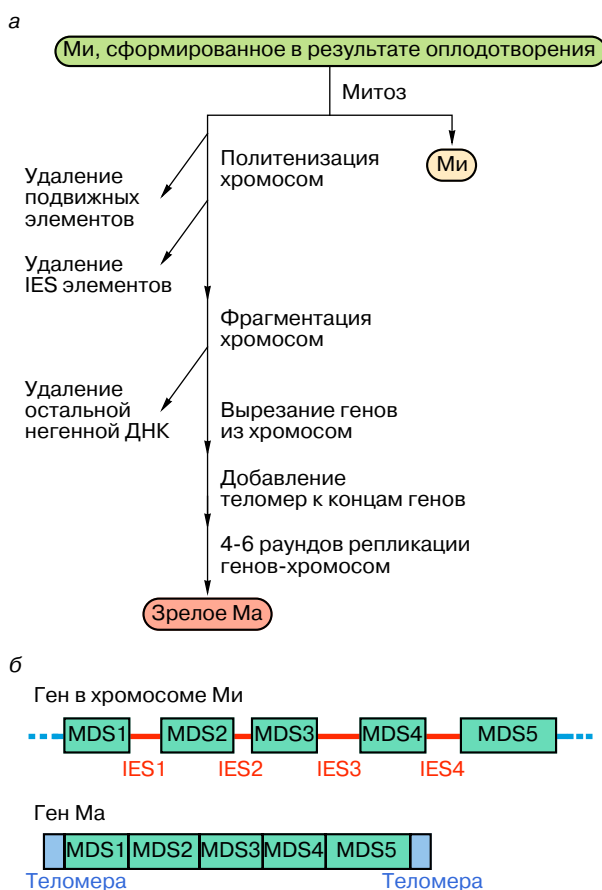


Рис. 3. Дифференцировка Ма у брюхо-ресничных инфузорий: а — общая схема дифференцировки ядер из оплодотворенного ядра; б — схема превращения микроядерного гена в ген Ма. Объяснение рисунка см. в тексте

с множественных раундов репликации хромосом в исходном Ми без его деления. Это приводит к образованию так называемых политенных хромосом, состоящих из многих параллельно уложенных копий одной хромосомы. Политенизация хромосом увеличивает их размеры.

Во время политенизации происходит важное для реорганизации генома Ми удаление всех IES (рис. 3, б). Оно осуществляется путем множественных событий рекомбинации по прямым повторам ДНК, имеющимся на концах каждого IES. У *E. crassus* IES несут концевые повторы от 2 до 4 п.н. и всегда содержат димер 5'-ТА, у *O. nova* – от 2 до 19 п.н. и не содержат 5'-ТА. Поскольку IES прерывают кодирующие участки генов (MDS), состыковка последних при вырезании IES (в виде колец) происходит с точностью до нуклеотида по той же схеме, что и аналогичная рекомбинация у бактерий. Помимо коротких IES ДНК Ми *E. crassus* содержит два родственных элемента размером около 5,3 т.п.н., называемых TEC1 и TEC2. Эти элементы принадлежат к подвижным генетическим элементам (см. [5]). TEC-элементы представлены в Ми примерно 30 тыс. копиями и все вырезаются в виде колец, скорее всего способом, сходным с удалением IES (здесь также фигурируют повторы 5'ТА). Элиминация TEC происходит не менее чем за 10 часов до вырезания IES. Ми *O. fallax* также содержит подвижный элемент TBE1 с аналогичной судьбой.

После политенизации и удаления IES и подвижных элементов происходит разрезание политенных хромосом на фрагменты, соответствующие отдельным генам. Механизм фрагментации хромосом пока невыяснен. У равноресничных инфузорий, к которым принадлежит всем известная инфузория-туфелька, обнаружены особые участки, в которых происходят разрывы хромосом. Их называют CBS (chromosome breakage sequences). У брюхоносных такие участки не обнаружены.

Фрагментация хромосом сопровождается массовым удалением и распадом всех других последовательностей ДНК, расположенных в межгенных промежутках. Окончательно исчезают остатки ядер и вырезанные раньше кольцевые ДНК. В целом удаленная часть генома составляет 90–95%. На концах вырезанных генов (а они уже представлены многими копиями в результате политенизации) синтезируются теломеры (это делает фермент теломеразы), после чего они дополнительно умножаются примерно до тысячи копий путем 4–6 раундов репликации. На этом дифференцировка Ма завершается, и инфузория возвращается к обычной жизни.

ДИМИНУЦИЯ ХРОМАТИНА В ОНТОГЕНЕЗЕ НЕМАТОД

Так принято называть явление, открытое у нематод еще в 1887 году классиком клеточной биологии

Т. Бовери. К настоящему времени оно обнаружено у 11 видов нематод, паразитирующих в кишечнике человека и других млекопитающих. Диминуция заключается в фрагментации хромосом и элиминации значительной части хроматина в предшествующих соматических клетках в ходе первых делений оплодотворенной яйцеклетки. Результатом этого процесса являются разная структура хромосом и разное содержание ДНК в соматических и генеративных клетках. Цитологическую картину диминуции хроматина можно рассмотреть на примере лошадиной аскариды *Parascaris univalens*, у которой в диплоидном ядре оплодотворенной яйцеклетки находятся всего две крупные гомологичные хромосомы (рис. 4). Первое деление дробления (на рисунке не показано) происходит путем обычного митоза, где хроматиды нормально распределяются по двум дочерним клеткам, обозначенным как Г1 и С1. При втором делении дробления (рис. 4, а) такой же нормальный митоз повторяется в клетке Г1, расположенной на брюшной стороне будущего зародыша. Он приводит к клеткам Г2 и С2. Другая судьба у клетки С1, в которой центральная часть хроматид распадается на большое число фрагментов. Разрывы, приводящие к образованию фрагментов, происходят в определенных участках, имеющих соответствующее название – СБР (chromosomal breakage regions). С помощью теломеразы на их концах синтезируются теломеры. Только эти фрагменты отходят в анафазе в два дочерних ядра, где становятся мелкими хромосомами, тогда как крупные концевые части хроматид остаются в экваториальной плоскости и тем самым впоследствии оказываются вне ядра, где в конечном счете элиминируются. В результате ядра двух дочерних клеток С1а и С1б содержат меньше хроматина по сравнению с клетками С2 и Г2. Это и есть диминуция хроматина. В ходе дальнейшего развития эмбриона диминуция повторяется еще три раза в клетках С2, С3 и С4, являющихся предшественницами соматических клеток (рис. 4, б). Из избежавших диминуции клеток линии, обозначаемой на рисунке буквой Г, в ходе дальнейшей дифференцировки образуются генеративные клетки.

Для осуществления диминуции важно, что хромосомы нематод являются полицентрическими, то есть имеют диффузные центромеры. В митозах, сопровождаемых диминуцией, нити веретена прикрепляются только к неэлиминируемым фрагментам хроматид, что объясняет последующие события. Напротив, в митотических клетках зародышевого пути непрерывный кинетохор распространяется на всю длину хроматиды.

У *P. univalens* при диминуции удаляется около 85% хроматина. Основная часть удаляемого материала состоит из сателлитной ДНК. Сателлитная ДНК представляет собой многократно повторяющиеся короткие последовательности, обычно отождествляемые с гетерохроматином. Однако при диминуции

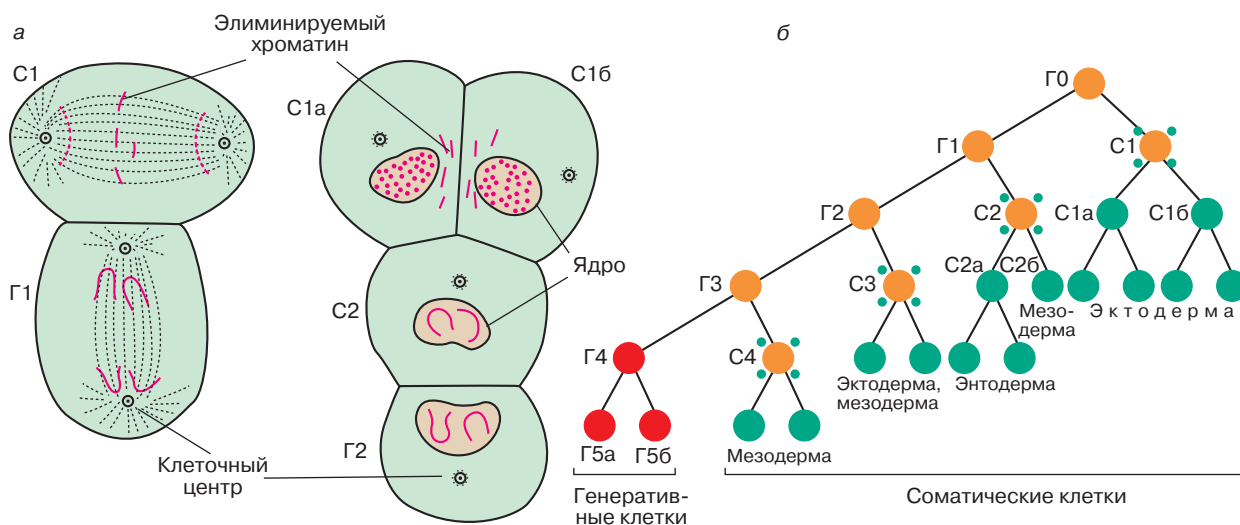


Рис. 4. Диминуция хроматина у *Parascaris univalens*: а – цитологическая картина диминуции хроматина. На левой схеме изображены анафазы второго деления дробления на стадии двух клеток. Диминуция происходит в верхней клетке С1. В нижней клетке Г1 идет нормальный митоз. Справа представлена стадия четырех клеток после завершения второго деления дробления; б – схема дифференцировки клеток зародышевого пути и соматических клеток на ранних стадиях эмбрионального развития аскариды. Пресоматические клетки С1, С2, С3 и С4, подвергшиеся диминуции, изображены кружками, окруженными четырьмя точками. Остальные пояснения см. в тексте

удаляются и некоторые уникальные гены, например ген *ALEP1*, который кодирует определенный рибосомный белок. Этот белок синтезируется только в генеративных клетках и отсутствует в соматических. Здесь мы встречаемся с оригинальным механизмом выключения гена – его удалением из соматического генома. Таким образом, элиминируемый хроматин содержит не просто ненужную ДНК, но необходим для клеток зародышевого пути. Предполагается, что элиминация гена *ALEP1* вызывает структурные различия между рибосомами зародышевых и соматических клеток, которые могут обуславливать дифференциальную трансляцию специфических мРНК в двух типах клеток.

Онтогенетическая элиминация хроматина обнаружена также у циклопа и некоторых насекомых: у галлицы *Miastor metraloas*, бабочек *Fumea casta*, *Solenobia pineti*, жуков *Dytiscus marginalis*, *Columbetes fuscus* и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные примеры запрограммированных геномных перестроек не исчерпывают списка явлений такого рода. Например, определенные изменения в содержании сателлитных и умеренно повторяющихся ДНК, происходящие во время эмбрионального развития, обнаружены в некоторых тканях морского ежа, цыпленка, мыши, человека. Запрограммированная амплификация генов рибосомных РНК и гистонов в ооцитах и других типах клеток описана у амфибий, насекомых и многих

других животных. В основе амплификации могут лежать и рекомбинация, и дифференциальная репликация ДНК.

И конечно, представленная картина не может быть полной без самого яркого примера запрограммированных перестроек – формирования генов иммуноглобулинов у позвоночных, лежащего в основе их иммунитета. Этот вопрос уже рассмотрен в статье Г.И. Абелева [6]. Добавим только, что клетки полового пути и все соматические клетки, кроме В-лимфоцитов, не имеют этих генов, а содержат лишь их заготовки в виде многих копий разобренных кодирующих сегментов, собранных в специальные кластеры. Гены иммуноглобулинов формируются только в клетках-предшественниках В-лимфоцитов путем рекомбинационной состыковки кодирующих сегментов хотя и определенного типа (V, D, J), но случайно выбранных из множества им подобных и подстановки собранного гена под специальный промотор. Самое главное заключается в том, что эти перестройки происходят в несколько последовательных этапов, и каждый этап приурочен к строго определенной стадии дифференцировки В-лимфоцитов. Аналогичные процессы наблюдаются и при дифференцировке Т-лимфоцитов.

А теперь выделим основные механизмы регуляции работы генов, ради которых происходят перестройки ДНК: 1) подстановка кодирующей рамки гена под промотор, 2) состыковка разобренных частей гена, 3) удаление гена из генома, 4) увеличение количества копий гена (амплификация). Кроме

того, в некоторых случаях перестройки делают геном более компактным и повышают эффективность его использования. Таким образом, можно констатировать существование в природе специализированных систем рекомбинации, участвующих в регуляции активности генов путем направленных перестроек генома.

Нельзя не выделить одно важное обстоятельство, красной нитью прошедшее через всю статью. Общеизвестно, что генетическая информация в морфологически и биохимически различающихся клетках многоклеточного организма, возникших из одной оплодотворенной клетки, одинакова [3]. И это в основном так. В основном, но не во всем, как видно из приведенных данных о различиях в генетическом материале между генеративными и соматическими клетками (или клетками, которые можно приравнять к одному из этих клеточных типов).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гвоздев В.А.* Механизмы регуляции активности генов в процессе транскрипции // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 1. С. 23–31.

2. *Гвоздев В.А.* Регуляция активности генов при созревании клеточных РНК // Там же. № 12. С. 11–18.

3. *Корочкин Л.И.* Как гены контролируют развитие клеток // Там же. № 1. С. 17–22.

4. *Глазер В.М.* Гомологичная генетическая рекомбинация // Там же. 1998. № 7. С. 13–21.

5. *Глазер В.М.* Генетическая рекомбинация без гомологии: процессы, ведущие к перестройкам в генетическом материале // Там же. № 7. С. 22–29.

6. *Абелев Г.И.* Основы иммунитета // Там же. 1996. № 5. С. 4–10.

* * *

Вадим Моисеевич Глазер, кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики Московского государственного университета. Автор более 100 публикаций в области генетики микроорганизмов и молекулярной генетики и двух учебно-методических пособий.