
**МОРФОГЕНЕЗ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКА,
ЭВОЛЮЦИЯ**

УДК 591

РОЛЬ ПАРАГЕНОМА В РАЗВИТИИ ОРГАНИЗМОВ¹

© 2007 г. А. М. Оловников

*Институт биохимической физики РАН
125319 Москва, ул. Черняховского, д. 5–94*

E-mail: olovnikov@dol.ru

Поступила в редакцию 26.10.06 г.

Рассматривается представление о парагеноме как о транзиторном наборе коротких молекул ДНК, появляющихся на поверхности хромосом в ходе индивидуального развития для управления геномом. В состав парагенома входят принтомеры, хрономеры и филомеры. Хрономеры и принтомеры облигатны для клеток определенных дифференцировок, но разные по дифференцировке клетки отличаются наборами этих органелл. Филомеры факультативны, поскольку возникают только при формировании модификаций развития. Парагеном – это система, управляющая конфигурацией хроматина и уровнем экспрессии структурных генов, обеспечивающая интерпретацию клетками их позиционной информации и дифференцировку в регуляторном морфогенезе, а также контролирующая развитие организма во времени. Расшифровка парагенома позволит в будущем осуществлять прямое репрограммирование соматических клеточных ядер без привлечения стволовых клеток и без использования яйцеклеток.

Ключевые слова: морфогенез, парагеном, принтомеры, хрономеры, эволюция.

Морфогенетическое поле – одна из наиболее фундаментальных концепций эмбриологии (Jaeger, Reinitz, 2006), но динамически протекающие в таких полях регуляторные события – едва ли не самая большая нераскрытая тайна биологии развития. В 1891 г. Дриш открыл явление эмбриональных регуляций, под которым, как известно, понимают восстановление полноценной, нормально организованной структуры организма, несмотря на удаление, добавление или перемещение некоторых клеток зародыша; позднее оказалось, что регуляции дришевского типа буквально пронизывают весь онтогенез и они возможны лишь при наличии мульти(тоти)потентности клеток, вовлеченных в процесс (Белоусов, 2005). Дриш первым понял то, что Вольперт позже точно обозначил термином “позиционная информация” (Wolpert, 1996). Согласно этой концепции, клетки, компетентные к восприятию инициирующего сигнала (индуктор дифференцировки, морфоген), специализируются, ориентируясь (с помощью неизвестного механизма): а) на концентрацию морфогенетически активного фактора (морфогена) в данной точке зародыша, б) на соотношение концентраций нескольких морфогенов или, наконец, в) на продолжительность действия морфогена на клетку (Wolpert, 2002). Один и тот же морфоген может играть неодинаковую роль у разных видов, в различных местах и на раз-

ных стадиях развития одного вида (Tsikolia, 2006). Согласно “концентрационной модели”, близкой к концепции позиционной информации, не только само возникновение зачатков, но и их взаимное расположение в пространстве находится под контролем градиентов концентрации индукционных факторов, оси распространения которых создают систему координат. В ее рамках неслучайным образом располагаются осевые зачатки органов. Клеточные миграции способствуют перемещениям мишеней и источников морфогенов относительно друг друга, причем форма взаимодействующих клеточных групп меняется, создавая локальные и дальнедистантные натяжения и релаксации. Как в этих условиях воздействия индукторов на клетки-мишени могут быть ими поняты и устойчиво запомнены? На этот вопрос общепринятого ответа нет до сих пор. Как клетки интерпретируют свою позицию на оси концентрационного градиента индуктора и как “запоминают” приобретенное в той или иной позиции новое состояние – на этот вопрос я пытаюсь дать свой ответ в предлагаемой работе. Но этим она не ограничивается. Здесь развивается также представление о парагеноме как некоей сущности, не менее важной для эукариот, чем их геном. Парагеном играет роль как в индивидуальном развитии, так и в событиях, имеющих отношение к адаптациям и филогенезу.

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 04-04-49600).

Несмотря на расшифровку генома, где в линейной форме закодировано развитие организма,

и несмотря на успехи в изучении механического контроля тканевого морфогенеза, мы все еще не понимаем (Ingber, 2006), за счет чего эмбриональные ткани и органы формируются как оптимально спланированные трехмерные формы.

Не решена и другая задача биологии развития – до конца не понят механизм клеточной памяти о достигнутом состоянии клеточной дифференцировки (обычная ссылка на метилирование и другие эпигенетические эффекты представляется недостаточной). Решение этой задачи упирается в проблему “регуляции регуляторов”: если дифференцировку поддерживает некий регулятор, то нужен второй регулятор, следящий за первым, – третий, следящий за вторым, и т.д. Нет общепринятого ответа и на вопрос, как осуществляется строгий контроль за своевременностью развития и предотвращением, например, слишком раннего полового созревания и старения (проблема темпорального контроля в биологии развития). Трудности, связанные с неясностями в понимании событий индивидуального развития, накладывают свое влияние и на область, пограничную с биологией развития и в значительной мере от нее зависящую, – речь, конечно, об эволюционной биологии. Предлагаемые заметки по этим вопросам объединяет общая идея, которую можно сформулировать так: текущие представления о геноме как единственной информотеке и единственной *оперативной* памяти организма принципиально неполны – не хватает одного важнейшего элемента, который может быть обозначен как парагеном.

ЧТО ТАКОЕ ПАРАГЕНОМ, КАК ОН СОЗДАЕТСЯ И ПОЧЕМУ ВАЖЕН ДЛЯ МОРФОГЕНЕЗА

Парагеном – это совокупность содержащих гены ядерных органелл, которые в ходе нормально индивидуального развития образуются при дифференцировках в виде копий, вынесенных за пределы нуклеотидной последовательности хромосомной ДНК, но оставляемых прикрепленными к хромосоме (в этом их отличие от экстрахромосомной ДНК). Эти амплификаты – латеральные, т.е. они расположены бок о бок с хромосомной ДНК, чем отличаются от тандемных повторов в самой хромосомной ДНК. Гипотетические компоненты парагенома представлены особыми ядерными органеллами. В их число входят принтомеры и хрономеры. Родовое название для них – редумеры, оно просто отражает способность принтомер и хрономер уменьшаться в длину в результате концевого недокопирования, что подробно рассмотрено ранее (Оловников, 1999, 2003, 2005; Olovnikov, 2004–2006).

Помимо названных органелл, облигатных для многих событий морфогенеза, в состав парагено-

ма входит, но уже как факультативный элемент, еще один вариант постулируемых ядерных органелл – филомеры или, иначе, адаптены. Филомеры – это органеллы, которые в отличие от принтомер и хрономер создаются в половых клетках в экстремальных для развития организма условиях и играют роль транзиторных органелл, помогающих в адаптации.

Парагеном – это вся перихромосомная ДНК, отличающаяся от хромосомной ДНК, т.е. от ядерного генома, двумя основными свойствами – транзиторностью и способностью осуществлять контроль над хромосомными генами, участвующими в дифференцировках. Хотя перихромосомная ДНК представлена копиями определенных сегментов генома, тем не менее именно на нее возложены многие ключевые регуляторные функции в работе клетки и в функционировании самого ядерного генома. В какой-то мере, если использовать известный афоризм, хвост действительно виляет собакой, ибо именно парагеном в значительной мере управляет работой генома.

Весь парагеном создается через обратную транскрипцию хромосомных оригиналов (в совокупности эти оригиналы представляют собой хромосомный “протопарагеном”). Поэтому парагеном проходит через стадию, так сказать, квази-экстрахромосомной ДНК. Однако возникающие продукты, а именно комплексы РНК–ДНК, а затем и двухспиральная ДНК, не покидают место своего возникновения и закрепляются непосредственно над своим хромосомным оригиналом. В противном случае каждому продукту обратной транскрипции пришлось бы искать свой оригинал по всему ядру, что резко снизило бы результативность процесса создания парагеномных структур. Для того чтобы избежать такого осложнения, согласно излагаемой гипотезе, клетками используется следующий простой прием, работающий при создании всех молекул перихромосомной ДНК. Молекулы обратной транскриптазы (вероятно, в комплексе со вспомогательными белками) перед созданием очередной молекулы перихромосомной ДНК иммобилизуются на поверхности хромосомы над соответствующим хромосомным оригиналом – это обеспечивается белками гетерохроматина в клетке, компетентной к соответствующей дифференцировке или детерминации. Поэтому на молекуле обратной транскриптазы должен быть найден домен, участвующий в процессе временного привязывания самого фермента (или его комплекса с другим фактором) к гетерохроматину. Выбор конкретного сегмента в хромосоме при этом определяется, конечно, не обратной транскриптазой, а теми факторами клетки, которые отвечают за состояние ее компетентности (т.е. за ее готовность произвести строго определенную дифференцировку в случае прихода соответствующего индуктора). Последо-

вательное транзиторное (преходящее, временное) связывание молекул указанного фермента с разными сегментами хромосом несопоставимо проще осуществить по сравнению с поисками молекулами ДНК их хромосомных гнезд, соответствующих расположению хромосомных оригиналов, с которых были сняты копии.

Парагеном – это обобщающее понятие для всех вариантов предполагаемой перихромосомной двухспиральной ДНК, к которой гипотетически относятся расположенные в собственных хромосомных гнездах (на поверхности хромосом) относительно небольшие (предположительно от 1 до 10–15 т. п. н.) линейные молекулы ДНК, т.е. упомянутые принтомеры, хрономеры, филломеры, а также некоторые другие ДНК-содержащие элементы ядра, удерживающиеся на хромосомах.

По набору своих генов парагеномы клеток одинаковой дифференцировки идентичны, тогда как клетки разных дифференцировок отличаются парагеномами. Другими словами, клетки одного организма, имея одинаковый геном, могут иметь неодинаковые парагеномы. Задача парагеномов – исполнять нечто вроде той роли, которую выполняет оперативная память в компьютерах, но не только; да и эта аналогия, как все аналогии, весьма приблизительна. Более подробно роль парагенома можно объяснить, рассказав о функциях его разных элементов. Принтомеры и хрономеры – наиболее обычные компоненты парагенома, обязательные для определенных типов клеток. Принтомеры играют ключевую роль в морфогенезе, конкретнее, в чтении клетками позиционной информации, а хрономеры нужны для контроля за своевременным развертыванием ряда событий индивидуального развития во времени (Оловников, 1999, 2003). Краткое рассмотрение перечисленных элементов целесообразно начать с центральной нерешенной проблемы современной биологии развития – с механизма регуляторного морфогенеза.

В МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОМ ПОЛЕ ВОЗНИКАЮТ ТОЛЬКО ДВЕ ГРУППЫ КЛЕТОК. БИНАРНОСТЬ ВЫБОРА КЛЕТОЧНОЙ СУДЬБЫ

В отличие от представлений Вольперта можно предположить, что клетки не способны определять множество значений своих позиций на оси градиента и что они способны на самом деле только определить, далеко или близко они находятся от источника индуктора. Конкретнее, я утверждаю, что клетки в морфогенетическом поле способны делать выбор только по бинарному принципу – принимать состояния А или В (почти как в компьютере с его 1 или 0) и никакие больше. Как это реализуется?

Участие принтомер в интерпретации позиционной информации осуществляется на основе распаковки строго определенных хромосомных сегментов (протопринтомер), протекающей под влиянием морфогенетического индуктора, концентрация которого высока вблизи его источника и низка на противоположном конце морфогенетического поля. Все клетки морфогенетического или, иначе, эмбрионального поля находятся в состоянии компетентности, т.е. способны ответить на иницирующий сигнал распаковкой и последующей кратковременной транскрипцией (после чего протопринтомеры вновь запаковываются и в зависимости от специализации клеточного клона надолго либо навсегда транскрипционно замолкают). К приходу клетки в состояние компетентности соответствующий сегмент гетерохроматина меняет свою конфигурацию, подготавливаясь к возможному акту распаковки. Согласно гипотезе, одновременно в клетке компетентны только два типа протопринтомер, т.е. хромосомных предшественников принтомер. Обозначим эти протопринтомеры соответственно как резистентную (R) и нерезистентную, сенситивную (S). Для распаковки протопринтомеры R требуется высокий, а для S даже низкий уровень индукторного сигнала. Распаковка любой протопринтомеры делает ее доступной для транскрипции, а транскрипт (благодаря активности локально расположенной на хромосоме обратотранскриптазной активности) здесь же превращается в принтомеру – в перихромосомную молекулу ДНК. Далее она начинает работать, удерживаясь в своем хромосомном гнезде, образованном с участием соответствующей протопринтомеры, которая после создания принтомеры вновь компактизуется, транскрипционно замолкая. Клетки, далеко отстоящие друг от друга на оси морфогенетического градиента, будут принимать одно из двух возможных состояний дифференцировки. Более конкретно, в клетках морфогенетического поля, оказавшихся вблизи источника сигнала (т.е. на фоне его высокого уровня), распакованными и активированными окажутся оба типа компетентных протопринтомер – R и S. На противоположном полюсе эмбрионального клеточного поля будет активирована только протопринтомера S. Это приводит к возникновению гетерогенности исходно идентичных клеток, причем возникшее их различие может касаться особенностей метаболизма, экспрессии разных наборов белков и других факторов, в том числе и белков клеточной адгезии на поверхности клеток. Последнее обстоятельство обеспечивает последующее обособление двух возникших клеточных популяций, в том числе и в середине морфогенетического поля, где перемешаны клетки, принявшие противоположные решения, но расходящиеся затем на два лагеря благодаря клеточной сортировке, которая мо-

жет и должна осуществляться в ходе последующих так называемых поисковых миграций, характерных вообще для самых разнообразных типов клеток (Васильев, Гельфанд, 2006). Таким путем клетки морфогенетического поля получают возможность интерпретировать свою позиционную информацию и в соответствии с ней менять свою специфичность. Именно использование принтомер, как бы запечатлевающих (отсюда и сам термин – принтомера) для клетки достигнутое ею состояние, позволяет ей интерпретировать позиционную информацию. Благодаря умению читать позиционную информацию клетки в ходе самого раннего развития могут разными путями прийти к одному и тому же результату: например, даже перемешав искусственно бластомеры или уменьшив их число, нельзя помешать клеткам, заново создающим свои принтомеры, специализироваться в строгом соответствии с давним правилом механики развития, гласящим словами Дриша, что “судьба части есть функция ее положения в целом”. Именно эта, принтомерная, активность лежит в основе способности организмов к эквивинальному развитию, дающему одинаковый конечный результат, несмотря на принудительное перемещение клеток.

Память клетки о полученной позиционной информации сохраняется благодаря принтомерам R и S и далее соматически наследуется. Суть дела не меняется, находятся ли эти R и S на одной или на разных хромосомах клетки. В итоге все клетки, как вблизи источника морфогенетического концентрационного градиента, так и на противоположном краю морфогенетического поля, исходно состоящем из одинаковых клеток, обретут совершенно различные цитофенотипы, сформировав благодаря этому одну структуру вблизи источника морфогенетического индуктора и вторую, отличающуюся по форме и/или по биохимии, вдали от него.

Очередная пара протопринтомер R2 и S2 приобретает компетентность, т.е. способность отвечать на определенный морфоген (на тот же или новый), только после того как уже созданы принтомеры R1 и S1; именно принтомеры R1 и S1 через каскад внутриклеточных событий помогают затем протопринтомерам R2 и S2 приобрести их собственную компетентность. Следующая пара протопринтомер R3 и S3 получает свою компетентность только после создания в клетке принтомер R2 и S2 и т.д. Получение компетентности протопринтомерами означает приобретение соответствующими сегментами гетерохроматина меньшей компактизации и связывание этих сегментов с соответствующими вспомогательными белками ядра (в том числе с обратной транскриптазой). Такое пошаговое изменение свойств клеток никак не препятствует интерпретации индивидуальными клетками их конкретной позицион-

ной информации и их способности последовательно специализироваться. Пошаговая интерпретация и запоминание (посредством принтомер) достигнутого состояния позволяет создавать нормальные закладки сложных органов (например, конечностей) даже из беспорядочно перемешанных клеток.

РНК, кодируемые парагеномом, могли бы направлять морфогенез, контролируя качественный и количественный состав молекул клеточной адгезии, влияя на свойства цитоскелетов, экстраклеточного матрикса и т.д. Один из путей воздействия регуляторных РНК на хромосомные гены лежит через ранее постулированную ионно-фонтанную систему регуляции эукариотического генома (Оловников, 2001). Рассматриваемый механизм регуляции морфогенеза и создаваемых в нем цитодифференцировок должен присутствовать в различных морфогенетических полях и последовательно осуществляться под воздействием разнообразных морфогенов и при разных ориентациях осей морфогенетических градиентов. Повторяющиеся циклы создания и экспрессии очередных наборов принтомер являются основой любых регуляторных морфогенезов, способных создавать самые причудливые формы живого. Предложенный механизм является ключевым для образования мультиклеточных органов и фактически служит способом перевода линейно закодированной в геноме информации в трехмерную форму.

ВЫБОР КЛЕТОЧНОЙ СУДЬБЫ: ПРИНТОМЕРЫ И ГРАДИЕНТЫ

Клеточная судьба в морфогенезе зависит от набора принтомер, которые клетка получает, находясь в концентрационном градиенте индуктора, на оси которого расположено морфогенетическое поле. Сначала поэтому – немного о градиентах.

Идею концентрационных градиентов веществ, детерминирующих судьбы клеток в индивидуальном развитии, предложил Бовери (Boveri, 1901). Хёрстадиус показал различия в потенциях к развитию вдоль анимально-вегетативной оси эмбриона морского ежа и объяснил их в терминах градиентов соответствующих факторов (Hörstadius, 1939). Чайлд детально развил представление о градиентах факторов в эмбриогенезе (Child, 1941). Вольперт сформулировал, что морфогены или индукторы дифференцировки, способные к диффузии по ткани, есть основа приобретения каждой клеткой морфогенетического поля определенного значения (value) позиционной информации, а именно некоей информации о конкретной позиции клетки на оси градиента концентраций, т.е. на оси между источником и стоком морфогена (Wolpert, 1996). Действительно, высо-

кие и низкие концентрации по-разному влияют на клетки эмбрионального поля (часто очень небольшого, примерно в сотню клеток). Так, найдено, что высокие концентрации активина (фактор из семейства TGF β), фиксированного на носителе, вызывают экспрессию белка goosecoid, а низкие концентрации – экспрессию маркера Xbrachyury, что типично для нормального развития *Xenopus* (Gurdon, Bourillot, 2001). Впервые реальное существование концентрационного градиента морфогена в развитии дрозофилы (на примере транскрипционного фактора bicoid) продемонстрировано в конце 1980-х гг. (Driever, Nusslein-Volhard, 1988). Градиент факторов, задающих морфологический паттерн, может создаваться на основе разных процессов, среди которых, например, накопление и распад той мРНК, которая кодирует морфоген (Dubrulle, Pourquie, 2004), а также срок экспозиции клеток-мишеней (Harfe et al., 2004).

Ввиду несомненного значения механических факторов в развитии их роль иногда противопоставляют роли химических градиентов. В этой связи подчеркивают полутвердое (semi-solid) состояние клеток, которое затрудняет свободную диффузию сигнала (Hunter, 2000). На это можно возразить, однако, что для таких сигналов, как, например, NO-радикал, способных опосредовать влияние некоторых индукторов, ни цитоплазма, ни мембраны клеток существенным препятствием не являются. Кроме того, этот сигнал относительно стабилен (время жизни составляет несколько секунд). Участие оксида азота в морфогенезе и дифференцировках, от формообразования плодовой мушки до функционирования костного мозга, широко исследуется (Enikolopov et al., 1999; Regulski et al., 2004). Оксид азота и некоторые другие легко распространяющиеся в ткани молекулы столь важны для интерпретации клетками их позиционной информации в морфогенезе, возможно, как раз в связи с указанным свойством внутренней клеточной среды.

Для распаковки доменов гетерохроматина, содержащих протопринтомеры, т.е. хромосомные оригиналы будущих принтомер, могла бы, в частности, использоваться активация гуанилатциклазы окисью азота. Известно, что контакт NO с гемовым железом фермента открывает доступ субстрата (GTP) к каталитическому центру гуанилатциклазы, где из GTP синтезируется cGMP. В свою очередь cGMP как вторичный мессенджер запускает каскад событий, приводящих к декомпактизации определенных сегментов гетерохроматина. Влияние cGMP на морфогенез и дифференцировку клеток у грызунов осуществляется с участием cGMP-зависимой протеинкиназы типа II (Pfeifer et al., 1996; Chikuda et al., 2004). Поскольку окись азота может использовать различные сигнальные пути для индукции экспрессии генов (Hemish et al., 2003), разные варианты протоприн-

томер могли бы активироваться под воздействием неидентичных NO-зависимых вспомогательных факторов. Некоторые индукторы дифференцировки (например ретиноевая кислота и 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$) в ряде случаев также действуют через NO, но иначе – через модулирование уровня оксида азота (Datta, Lianos, 1999; James et al., 1999). Простагландины – еще один класс индукторов, также свободно диффундирующих в тканях, в том числе через мембранные барьеры (Zhang, Rivest, 1999). Следует заметить, что огромного разнообразия индукторов дифференцировки для морфогенеза вообще, по-видимому, не требуется. Их изобилие, вероятно, заменяется большим набором протопринтомер, вспомогательные белки которых ответственны за рецепцию относительно небольшого числа иницирующих сигналов.

Морфогенетическое поле – центральная игровая площадка индивидуального развития. Морфогенетическое поле как часть целого есть та клеточная территория, состав, место и время существования которой, находящиеся под контролем химических и физических воздействий со стороны целого, ориентированы на создание принтомер и через них – на созидание многоклеточных структур. После своей специализации под контролем “новорожденных” принтомер потомки клеток, побывавших в одном эмбриональном поле, могут стать участниками нового морфогенетического поля. Ось градиента нового индуктора может быть по-новому ориентирована. Ориентация осей – это неперемнная прерогатива целого, по отношению к которому морфогенетическое поле является частью. В новом поле создаются новые принтомеры. Циклы создания новых принтомер и зависящих от них дифференцировок следуют в ходе эмбриогенеза один за другим. В целом благодаря принтомерам как части парагенома линейно записанная в хромосомной ДНК, т.е. в геноме, информация переводится в 3D-форму развивающегося многоклеточного существа. Нормальное развитие допустимо, несмотря на варибельность (конечно, в определенных пределах) как числа участвующих клеток (Day, Lawrence, 2000), так и размера эмбриона (Rands, 1986; Kirschner et al., 2000). Для того чтобы даже при очень высокой концентрации морфогена развитие было возможным (т.е. чтобы вблизи стока не активировались обе протопринтомеры R и S), допустимо, чтобы в отношении клеток, успевших приобрести обе принтомеры R и S, действовал, так сказать, кворум-эффект: они выделяют фактор, нейтрализующий избыточный эффект морфогена и разрешающий клеткам противоположного конца морфогенетического поля отвечать только образованием принтомеры S, но не R и S. Альтернатива этому – искажение развития в избытке морфогена в виде формирования только одной из двух возможных в

норме специализаций в данном морфогенетическом поле. Такой, например, морфоген как ретиноевая кислота способен не только вызывать дубликацию конечности (Niederreither et al., 1996), но еще и утрату задней части эмбриона (Kessel, 1992). В специализации клеток, как известно, определенную роль играет эффект клеточной кооперации, описанный Гёрдоном как “community effect” (Gurdon et al., 1993a), суть которого в том, что клеточная дифференцировка оказывается неустойчивой, если число дифференцирующихся клеток мало, а при увеличении числа клеток они взаимно стабилизируют друг друга, и состояние дифференцировки становится устойчивым. Когда Асашима с соавт. инкубировали недифференцированные клетки, взятые из animal cap эмбрионов *Xenopus* в высоких, нефизиологических концентрациях активина, то возникали различные ткани, хотя и не в том порядке, как в нормальном развитии. Здесь вновь проявил себя эффект Гёрдона: если при формировании пронефроса клеток было меньше 100, они погибали, а если их было больше 500, то формировались гетерогенные ткани (Uochi et al., 1996; Akiizumi, Asashima, 2001). Помимо роли “community effect” в демаркации между разными эмбриональными тканями (Gurdon et al., 1993b), этот эффект мог бы исполнять, возможно, и другую роль. Речь идет о защите от случайных и ненужных в данном месте дифференцировок. Если клеток слишком мало и они не получают сигналы друг от друга, значит, клетки начали ошибочно специализироваться, и поэтому их лучше уничтожить. (Возможно и альтернативное объяснение: когда клеток слишком мало, все клетки морфогенетического поля оказываются в избытке индуктора и создают только один вариант принтомер (типа RS), и тогда отсутствие клеток типа S воспринимается как угроза.) Если же клетки после создания своего парагенома провели определенный срок в контакте с идентичными им клетками, это служило сигналом о том, что все нормально и теперь они могут даже ликвидировать прежние контакты, сохраняя достигнутую специфичность. Что касается упомянутых дифференцировок в нефизиологических условиях и в отсутствие градиента индуктора (Uochi et al., 1996; Akiizumi, Asashima, 2001), то они являются просто следствием принудительной декомпактизации некоторых протопринтомер из большого числа ждущих своей очереди к распаковке. Их гетерохроматин распаковывается в искусственных условиях с нарушением нормальной последовательности таких событий.

ПАРАГЕНОМ, МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛЯ И АЛЛОМЕТРИЧЕСКИЙ РОСТ

Клетки морфогенетического поля, претерпев дифференцировку или детерминацию (в общей

форме – ту или иную специализацию), не всегда обособляются в виде двух групп, совершенно равных по числу клеток. При специализации по бинарному принципу в поле формируются (под действием градиента морфогена и при участии принтомер) две группы клеток, которые по типу принтомер могут быть обозначены соответственно как группа RS и группа S. Конкретный результат, т.е. численность, как и фенотип клеток одной из этих групп зависит от специфичности соответствующих принтомер, которые отличаются в разных дифференцировках друг от друга по своим регуляторным генам, контролирующим помимо молекул клеточной адгезии пролиферативную активность клеток, их способность мигрировать в ответ на тот или иной стимул со стороны целого и т.д. При прочих равных условиях чем большее число клеток составляет, например, группу RS, тем меньше клеток остается на долю группы S. На соотношение клеток в обеих группах могут влиять как упомянутые выше сдвиги в концентрации морфогена, время экспозиции клеток и т.п., так и особенности принтомер. Именно принтомеры есть в норме та основа, которая предопределяет не только особенности клеток данной группы, но также ее размер и морфологию. Следует особо подчеркнуть, что принтомеры через продукты своих регуляторных генов могут управлять не только качественным составом хромосомных генов, которым позволено экспрессироваться при определенной дифференцировке, но и количественной стороной их экспрессии, повышая или понижая ее интенсивность. Последнее, в частности, принципиально достижимо за счет использования предсказываемой ионно-фонтанной системы эукариотического ядра (Оловников, 2001). Из этого следуют выводы, весьма существенные для понимания тех удивительных наблюдений, которые сделал Д. Арси Томпсон (Thompson, 1917) и которые касаются проблемы аллометрического роста.

Изменение в эволюции генного набора протопринтомер (и, значит, принтомер) может быть основой ярких отличий аллометрического роста у эволюционно близких организмов. Количественные морфологические признаки, описывающие форму и функционирование существ, связаны, по Томпсону, аллометрическими зависимостями и могут быть графически размещены вдоль линий, которые соответствуют траекториями трансформаций количественных признаков. Томпсонов метод трансформации координат (Thompson, 1917) состоит в растяжении, сжатии или скосе прямоугольной сетки координат, на которую нанесен контур целого животного или органа. Метод иллюстрирует локальные усиления и ослабления интенсивности роста разных сегментов тела, которые достигаются за счет их неравномерного роста. Так создаются характерные для каждого

организма видоспецифические формы и пропорции. Усиливая рост, например, одних участков черепа и замедляя его в других местах, можно в принципе на основе конструкции черепа шимпанзе получить череп современного человека. Точно так же можно трансформировать очертания и соотношения органов одних ракообразных в других, как и различных рыб друг в друга. И то же самое с близкородственными растениями. Сам факт Томпсоновых трансформаций многократно подтвержден на разных сериях видов (Richards, Kavanagh, 1943, 1945; Jacobson, Gordon, 1976; Gordon, Jacobson, 1978; Bookstein, 1978; Bookstein et al., 1985). Явление это отнесено к самым красивым в биологии (Белоусов, 2005). Механизмы, контролирующие аллометрическую диверсификацию и способные управлять изменением пропорций организмов в эволюции, должны быть, вероятно, принципиально едиными и для тела животного, и для цветка растения. Но механизмы такой диверсификации до сих пор не выявлены (Smith et al., 1996; Sausedo et al., 1997; Hay et al., 2000; Weiss et al., 2005; Gordon, 2006). Существенно отметить, что линейность аллометрических соотношений (они касаются различных размерных показателей, таких как масса тела, ширина и длина растущего листа растения, соотношение размеров костей в конечностях и т.п.) сохраняется в широких пределах, причем как при оптимальной скорости роста, так и при ее вариациях, вызванных колебаниями внешних условий (Мина, Клевезаль, 1976; Петухов, 1981; Белоусов, 1987, 2005; Белинцев, 1991; Зотин, Зотина, 1993). Большое биологическое значение имеют коэффициенты аллометрического роста. Например, с ростом тела его масса возрастает в третьей степени, а сечение костей – во второй, и потому коэффициент аллометрического роста кости должен быть таким, чтобы рост ее в толщину был выше, чем в длину. Поэтому коэффициенты аллометрического роста, строго соблюдаемые как при росте шеи жирафы, так и при росте листа хлопчатника, могут быть в эволюции объектом естественного отбора (Белоусов, 2005). Белоусов (2005) справедливо подчеркивает, что направления максимального и минимального анизометрического роста закладываются, по всей видимости, еще в эмбриогенезе. Важно отметить, что искусственное изменение абсолютных размеров зародышей и соответственно количества клеток в зачатках их органов не мешает развивающимся организмам сохранять видоспецифические пропорции этих зачатков.

Что именно стоит за этим эффектом, который просто взывает, по слову современного историка науки, к поискам все еще не найденной причины, – это в настоящее время считается неизвестным (Arthur, 2006). По мнению Гилберта, Рэффа и др. (Gilbert et al., 1996; Гилберт и др., 1997), именно морфогенетическое поле (а вовсе не гены и не

клетки) есть основа онтогенеза, а изменения в этом поле – основа эволюционных сдвигов. Они рассматривают морфогенетические поля как своеобразные модули, которые посредничают между генотипом и фенотипом. Соглашаясь с акцентом, который делают эти авторы на роли морфогенетического поля, следует, однако, подчеркнуть, что поле есть просто место встречи индуктора с протопринтомерами. В результате этой встречи на свет рождаются принтомеры – дирижеры очередного шага, который клеткам предстоит сделать в морфогенезе. На этой удобной площадке именно принтомеры посредничают между геномом и фенотипом. Эволюционные сдвиги, касающиеся протопринтомер (и, следовательно, их перихромосомных копий – принтомер) лежат в основе наиболее радикальных эволюционных преобразований, в том числе тех, которые касаются аллометрических трансформаций видоспецифических пропорций. Благодаря активности копий регуляторных генов, оригиналы которых молчат в геноме, парагеном способен не только модулировать уровни экспрессии структурных генов, но и набирать новые команды игроков, т.е. обеспечивать одновременную экспрессию строго определенного набора хромосомных генов, что, собственно, лежит в основе любой дифференцировки. Эволюционное изменение набора генов в молчащем гетерохроматине (в протопринтомерах) с неизбежностью должно отражаться на списке дифференцировок, к которым способен данный биологический вид. Впрочем, некоторые важные преобразования в филогенезе принципиально недостижимы на уровне парагенома. Например, если для какого-то макроэволюционного преобразования необходим новый фермент, то должна произойти мутация в структурном гене, и никакими комбинациями принтомер ее не заменить. Тем не менее многие макроэволюционные достижения (крыло птицы, лапа крота, глаз орла и т.д.) в ходе своего возникновения, конечно, сопровождавшиеся мелкими мутациями структурных генов, требовали в первую очередь именно того, на что способен парагеном, – объединения структурных генов в новые команды, преобразования прежних морфологических структур, надления новых видов соответствующей продолжительностью жизни и т.д. Все это – прерогатива прежде всего парагенома. Что касается, например, продолжительности жизни, более или менее адекватной той экологической нише, которую занимает данный биологический вид, то эта темпоральная функция возложена на ту часть парагенома, которая относится к хрономерам. Эволюционные изменения в принтомерах и хрономерах являются главной причиной модификаций аллометрического роста и основными участниками макроэволюции, а мутации структурных генов влияют в основном на микроэволюцию.

Это особенно правдоподобно, если учесть, что большинство примеров макроэволюции – это чаще всего преобразования видоспецифических пропорций, за которые в первую очередь отвечают принтомеры. Когда принтомеры будут найдены, можно будет, меняя состав их генов, менять пропорции зачатков и возникающих на их основе организмов, т.е. экспериментально получать те картины, которые силой логики создал Д'Арсси Томпсон.

Эволюционные изменения в органах часто базируются на модификации развития структур, ранее уже существовавших в данном участке организма у предков. Так, челюсти возникают из глоточных дуг бесчелюстных животных, а наковальня и стремечко среднего уха формируются на основе костей, первоначально находившихся в суставах между верхней и нижней челюстями. Как справедливо заметил в этой связи Вольперт, в подобных случаях та же, что и прежде, позиционная информация интерпретируется в данном участке эмбриона по-иному (Wolpert, 2000). Но какой фактор заставляет клетки иначе интерпретировать ту же самую позиционную информацию – неизвестно. Предлагаемый ответ: этим фактором является парагеном, конкретнее, его новые принтомеры. Если, допустим, ген в хромосомной протопринтомере удваивается, то кодируемая ею парагеномная принтомера будет производить вдвое больше продукта, активирующего структурные гены в клетках своей дифференцировки. Подобными изменениями на уровне парагенома можно модулировать интенсивность роста соответствующих тканей и в листе хлопчатника, и в шее жирафы. Приобретение протопринтомерами способности распознаваться морфогеном на необычном, по сравнению с предками, этапе развития ведет к гетерохрониям и гетеротопиям. Для этого не обязательно даже физически перемещать протопринтомеру в хромосоме. Достаточно приобретения протопринтомерой соответствующей сигнальной последовательности, с которой способны связываться те вспомогательные белки, которым предстоит в морфогенезе распознать сигнал индуктора.

МЕХАНИКА РАЗВИТИЯ И ПРИНТОМЕРЫ

В органогенезах и других событиях регуляторного морфогенеза, происходящих с участием перемещающихся клеток и их групп, которые создают механические напряжения, широко используются разные физические, прежде всего механические, а также другие факторы (Harris, 1987, 1994; Belousov, 1998; Wood, Jacinto, 2005; Belousov, Grabovsky, 2006). Что касается важной роли механических сил, действующих в эмбриогенезе, то модификации натяжений, сдавливаний и т.п. выполняют три основных роли. Первая –

это перемещение клеток ради достижения взаимной оптимальной ориентации клеточной группы, синтезирующей необходимый индуктор относительно той группы клеток, которая должна его рецептировать и представляет собой, собственно, само морфогенетическое поле. Вторая функция состоит в модификации механических напряжений цитоскелета и ядерного матрикса внутри самих клеток морфогенетического поля и через это, по крайней мере в некоторых случаях, в модификации паттерна экспрессии ядерных генов этих клеток (в пределах данной дифференцировки), а также еще и в модуляции уровня продуктивности уже активных генов (за счет частичного изменения компактизации хроматина). В качестве небольшой иллюстрации этой второй роли можно упомянуть, в частности, следующее. Показано, что фибробласты распознают механическую деформацию своего экстраклеточного матрикса с участием интегринов, которые через клеточную поверхность в ответ на механический стресс активируют MAPK- и NFκB-сигнальные пути. Энхансерные последовательности в ответ на статическое растяжение фибробластов меняют активность генов теназина С и коллагена XII (Chiquet et al., 2003). Третья функция механических сил – это их участие в обеспечении возможности создания принтомер (см. об этом ниже).

Способность хромосом отвечать в определенных пределах на механические воздействия на клетку, можно было бы, вероятно, распространить и на протопринтомеры, но в следующем, не совсем тривиальном аспекте. Вряд ли растяжение клетки повлияет на активность уже декомпактизованной зрелой принтомеры, работающей в своем гнезде на поверхности хромосомного гетерохроматина. Вряд ли также принудительное механическое растяжение может разорвать (не повредив целостность хромосомной ДНК) те “печати”, которыми “запечатаны” в ядре многочисленные протопринтомеры, не имеющие отношения к данной компетенции клетки. Совсем иначе может обстоять дело, однако, с “компетентными протопринтомерами”, т.е. с теми, которые уже “ждут” прихода индукторного сигнала, чтобы помочь клетке интерпретировать (узнать и запомнить) ее позицию относительно источника морфогенетического сигнала. Вполне допустимо, что принудительное изменение механического растяжения компетентных клеток эмбрионального поля при прочих равных условиях может действовать как фактор, облегчающий неслучайную декомпактизацию (т.е. преимущественное “распечатывание”) именно компетентных, подготовленных к раскрытию протопринтомер. Возможно, что в некоторых случаях механический способ раскрытия подготовленных протопринтомер иногда используется в норме как альтернатива химической индукции. Декомпактизовавшись,

протопринтомера позволяет создать принтомеру, закрепляющую индуцированное состояние дифференцировки. Способность механических воздействий влиять на активность хроматина косвенно следует из разных наблюдений за активностью структурных генов. В ходе наблюдений *in vivo* за деформацией тканей в ходе гастрюляции у *Drosophila* выявлена механочувствительность экспрессии гена, кодирующего белок Twist в стомадеальных клетках организма (Supatto et al., 2005). Имеются сообщения о том, что существует механическая связь между хромосомами через ядерную мембрану с клеточной оболочкой (Maniotis et al., 1997a, b). Выявлено механическое влияние субстрата даже на ход самой клеточной дифференцировки (Oрас, 1994), как и изменение генной экспрессии в ответ на силы, генерируемые потоком жидкости, что показано для кардиомиоцитов и клеток сосудистого эндотелия. Нарушение потока жидкости способно расстроить даже формообразование всего сердца (Garcia-Cardena et al., 2001; Nove, 2003). Более того, клетки способны даже различать механические стимулы, действующие на них вдоль одной или разных осей (Hornberger et al., 2005).

Легко видеть, что предлагаемая концепция принтомерозависимого регуляторного морфогенеза отнюдь не противопоставлена описанным в литературе идеям о позиционной информации и о морфогенетическом поле (Исаева, Преснов, 1990; Wolpert, 1996; Gilbert et al., 1996; Корочкин, 2002), которые, кстати, иногда противопоставляют друг другу (Белоусов, 2005), а абсорбирует эти понятия как обязательные составляющие.

ПРИНТОМЕРОМЕХАНИЧЕСКИЕ ЦИКЛЫ

Направляя клеточные специализации, принтомеры среди прочего влияют на состав и количество белков клеточной адгезии, на особенности цитоскелетов и тем самым на силы сокращения и растяжения в тканях, на осмотическое набухание и т.п. Контролируя дифференцировку, некоторые принтомеры могут участвовать даже в контроле за производством морфогенов, которые позже будут инициировать создание новых принтомер в клетках очередных морфогенетических полей. Принтомеры через разнообразные регуляторные пути могли бы побуждать свои клетки производить, например, более жесткий фибриллярный экстраклеточный матрикс, локально разрушать его, формировать базальную мембрану, усиливать или, напротив, тормозить пролиферацию – в общем, участвовать в действиях по объединению и сегрегации тканей. Такие действия типичны, например, для ветвящегося морфогенеза, характерного для легких, молочных желез и ангиогенеза (Ausprunk, Folkman, 1977; David, Bernfield, 1979; Simian et al., 2001; Ingber, 2006). Прин-

томеры направляют и другие варианты морфогенезов, и во всех либо в подавляющем большинстве случаев результат достигается, по-видимому, коллективным участием физических и химических процессов, находящихся под совместным контролем генома и парагенома.

Принтомеры, как отмечено, выбирают и поддерживают активным в геноме определенный набор хромосомных структурных генов, которым позволено работать при определенной дифференцировке. Принтомеры при этом могли бы, в частности, предопределять конкретную природу экстраклеточного матрикса, а он, как уже показано экспериментально, способен ориентировать движение клеток и влиять на их форму (Ingber, 2006). Показано также, что мезенхимные стволовые клетки в зависимости от формы способны делать выбор между различными линиями развития (например, кость либо жир) (Mcbeath et al., 2004). Каким образом форма стволовой клетки может влиять на выбор направления специализации? Поскольку, согласно гипотезе, он связан с характером приобретаемых принтомер, то наиболее очевидный ответ состоит в следующем. Форма клетки отражает баланс механических сил в ее окружении и в цитоскелете (и, значит, в нуклеоматриксе, с которым физически взаимодействуют хромосомы). Поляризованность формы стволовой клетки через соответствующие натяжения и в связи с случайным расположением и ориентацией хромосом в ядре могла бы предопределять различие в готовности и способности потенциально компетентных протопринтомер участвовать в альтернативных дифференцировках. Вероятно, поэтому потенциально идентичные стволовые клетки (Mcbeath et al., 2004), получая в разном механическом микроокружении отличия в своей форме, оказываются вынужденными выбирать разные пути специализации. Принтомеры от предыдущей цитодифференцировки могут остаться в клетке либо устраняются – это определяется, в частности, командами от новых принтомер. Приобретение клетками очередного набора принтомер влияет не только на биохимию, но и на баланс механических сил в тканях. Последовательное изменение баланса механических сил цитоскелетов, вызывающее растяжение, толкание, изгибание или скручивание элементов развивающегося организма, направляет клеточные миграции и является неотъемлемым атрибутом эмбриогенеза (Ingber, 2006; Belousov, Grabovsky, 2006). Такие события последовательно вызываются как раз теми свойствами клеток, которые они приобретают благодаря появлению в них все новых комбинаций принтомер. В то же время сами наборы принтомер, получаемые клетками, зависят от механических событий в развитии, поскольку клеточные миграции подставляют клетки морфогенетических полей под очередные

индукторы и тем самым создают предпосылку к синтезу очередных принтомер. Так формируются, так сказать, “принтомеромеханические” циклы (ПМ-циклы), которые, повторяясь при разных комбинациях принтомер и паттернов механических стрессов, постепенно создают новый организм из исходной гомогенной массы клеток. Эти ПМ-циклы действуют как при установлении общего плана строения эмбриона, так и позже – при ремоделировании и усложнении ранее заложенных структур и даже во взрослом организме, например в ходе регенерации и при некоторых дифференцировках.

ПМ-циклы используются для того, чтобы упорядоченно извлекать из главной информотеки клетки – ее ядерного генома – кванты геномной информации, соответствующие данному шагу развития. Каждый такой квант соответствует набору и уровню экспрессии хромосомных генов, контролируемых работающими в ПМ-цикле принтомерами.

Среди ключевых участников механической стороны цикла – кадхерины, обеспечивающие передачу механических сигналов между клетками, и интегрины, физически сопрягающие клетки с экстраклеточным матриксом. Механический сигнал передается затем через клеточную поверхность на цитоскелет и обратно, а через цитоскелет – ядру (Potard et al., 1997; Geiger et al., 2001; Ingber, 2006). В сигнализации могут участвовать мембранные рецепторы, межмолекулярное взаимодействие которых инициировано механическим воздействием на мембраны, и другие факторы. Клетка, даже энуклеированная, как известно, способна к некоторой биохимической и механической активности, но это не означает, что геном и парагеном не нужны: просто на предыдущей стадии дифференцировки они уже наделили цитоплазму и ее мембраны определенными свойствами и способностями, но следующего шага в развитии без них клетка уже сделать не может.

Принимая участие в ПМ-циклах, принтомеры заняты, так сказать, построением организма в пространстве, но они не могут следить за своевременностью осуществления основных событий развития. Эта задача возложена на другой компонент парагенома, а именно на хрономеры. Хрономеры – это своеобразные “линейки времени”, укорочение которых используется в работе так называемых пожизненных часов мозга (lifelong clock), контролирующих изменение тех свойств организма, которые описываются понятием биологического возраста (Оловников, 2003). Именно укорочение хрономер в норме отвечает за старение организма. Хрономеры работают в гипоталамусе, и там, в его неделящихся клетках, они не могут укорачиваться путем концевой недорепликации. Рассмотрение того, как именно работают

хрономеры, выходит, однако, за рамки настоящего сообщения.

ЧЕМ ГЕНЕРИРУЮТСЯ РАЗЛИЧИЯ КЛЕТОК В САМОМ РАННЕМ РАЗВИТИИ, ИЛИ СУЩЕСТВУЕТ ЛИ ПРЕПАТТЕРНИНГ У ВЫСШИХ ЖИВОТНЫХ?

Весьма важным является вопрос о том, как создается в раннем развитии первичная гетерогенность клеток, которая потом будет поддерживаться и усиливаться эстафетой межклеточных взаимодействий. Нередко она задается материнским организмом и преддетерминирована уже в неоплодотворенной яйцеклетке (например, начальный градиент факторов, как в случае с bicoid у *Drosophila*) (Driever, Nusselein-Volhard, 1988). У млекопитающих клетки выглядят гомогенными вплоть до четвертых митотических делений (Furusawa, Kaneko, 2006). Четвертый клеточный цикл (8 клеток) в раннем развитии мыши характеризуется уже бесспорно выраженной гетерогенизацией (Smith, Johnson, 1986). Первые поляризованные (анизотропные) структуры видны в 8-клеточной моруле мыши (Riethmacher et al., 1995). Формально способ генерации гетерогенности может основываться на случайности, связанной с распределением цитоплазматических факторов и т.п.

Однако возможен еще один потенциально важный механизм генерации гетерогенности. Он связан с предполагаемым существованием специальной “гетерогенизирующей принтомеры”, создаваемой еще в зиготе. В последовательных делениях эта принтомерная ДНК (если ее концы не идентичны теломерным повторам и не распознаются теломеразой) должна укорачиваться из-за концевой недорепликации, т.е. из-за эффекта маргинотомии, предсказанного ранее (Оловников, 1971, 1972; Olovnikov, 1973) и многократно с тех пор подтвержденного. В актах репликации клеток с участием гетерогенизирующей принтомеры тяжи исходной двойной спирали принтомерной ДНК, т.е. обе ее оригинальные матрицы (одна из них соответствует значащей цепи), вообще никак не должны укорачиваться, если пренебречь возможностью нуклеазного повреждения. Ввиду полуконсервативного характера репликации ДНК и ввиду эффекта концевой недорепликации последовательно укорачиваться в дочерних бластомерах смогут только реплики, т.е. копии двух матричных цепей исходной принтомерной молекулы ДНК. В следующих клеточных поколениях будут укорачиваться копии реплик, которые служат теперь матрицами для копий, и т.д.

Особенно сильно этот эффект может быть выражен в связи со следующей особенностью репликации двойной спирали линейной молекулы

ДНК (в данном случае принтомерной ДНК). При репликации 3'-конца отстающей цепи двойной спирали ДНК возникающая реплика должна быть особенно сильно укороченной на своем 5'-конце (по сравнению с 3'-концевым флангом реплики, изготавливаемой по лидирующей цепи линейной молекулы ДНК) (Olovnikov, 2004). Это так называемый “репликативная вилка”-зависимый (или короче – “вилказависимый”) эффект. В основе “вилказависимого” эффекта лежит демонтаж реплисомы над 3'-концом отстающей цепи, часть которой, как известно, свернута в петлю ради осуществления синхронизированного продвижения репликативной вилки и реплисомы вдоль обеих цепей копируемой двойной спирали. Поэтому, например, околоконцевой ген принтомеры, если он расположен у 5'-конца ее значащей цепи (созданной по матрице лидирующей цепи ДНК), еще не будет разрушен укорочением, тогда как его копия во второй дочерней молекуле ДНК, созданной с использованием в качестве матрицы отстающей цепи ДНК, уже может быть инактивирована за счет концевой недорепликации. Если в первом клеточном удвоении гетерогенизирующая принтомера сохраняется интактной (контрольный концевой ген присутствует) только в одной из двух клеток, то этого вполне достаточно для различия в судьбе даже на стадии двух бластомеров. Используют ли бластомеры указанную возможность или стартовая асимметризация эмбриона достигается у высших животных иначе, покажут эксперименты, но природа обычно использует все доступные ей средства, и потому указанный механизм вряд ли был оставлен без внимания при решении проблемы гетерогенизации в тех гистогенезах, в которых еще нельзя прибегнуть к асимметризирующей роли градиента индуктора и т.п.

Итак, указанный процесс может быстро привести к тому, что в небольшой популяции бластомеров возникает гетерогенность. Для этого достаточно расположить контрольный регуляторный ген именно вблизи конца кодирующей принтомерной матрицы. Как минимум один бластомер, которому досталась неукороченная стартовая матрица (если это значащая цепь, кодирующая контрольный околоконцевой ген), отличается от других тем, что будет содержать продукт указанного гена, а другие бластомеры нет. Это с неизбежностью ведет к гетерогенизации рассматриваемой клеточной популяции. Сколько именно в популяции (при данном уровне ее численности) будет бластомеров с сохраненным концевым контрольным геном, зависит от того, на каком расстоянии от абсолютного конца первичной значащей матрицы был поставлен контрольный ген. Если он отдален от конца, то допустимо появление нескольких бластомеров с сохраненным контрольным геном, прежде чем в популяции дробя-

щихся бластомеров начнут накапливаться клетки, лишенные упомянутого гена.

Ключевое преимущество механизма “гетерогенизирующей принтомеры” состоит в том, что механизм не зависит от каких-то более ранних регуляторов и это придает ему определенную универсальность. Он не конкурирует с гетерогенизацией, достигаемой за счет неравномерного распределения по дочерним клеткам факторов, полученных от цитоплазмы ооцита. Предлагаемый вариант гетерогенизации клеточной популяции просто имеет свою нишу, действуя там, где другие механизмы по разным причинам работать не могут. Механизм “гетерогенизирующей принтомеры” в принципе может действовать в разных клеточных клонах, в том числе и в более позднем онтогенезе (возможно, даже в прогениторных клетках костного мозга у взрослых, например), а не только на самом раннем этапе развития. В биологии развития периодически поднимается связанный с проблемой гетерогенизации вопрос о препаттернинге, т.е. о том, играют ли локализованные в яйцеклетке детерминанты ключевую роль в диссимметризации организма в ходе предимплантационного развития млекопитающих. На вопрос о том, за счет чего исходно нарушается симметрия эмбриона, ответов может быть несколько: а) за счет исходной полярности ооцита и последующего неравномерного распределения белков, РНК и т.п. между дочерними клетками, б) за счет места входа сперматозоида в яйцеклетку, в) за счет позиционных отношений и взаимодействий между эквивалентными бластомерами или же, наконец, г) за счет работы некоего асимметризирующего внутриклеточного механизма. По наблюдениям исследователей (Plusa et al., 2005), даже если плоскость первого деления дробления пройдет по короткой, а не по длинной как в норме, оси удлинённой зиготы, то все равно возникают бластомеры (стадия 2-клеточного эмбриона) с правильными развитием характеристиками. Отсюда они заключают, что решение принимается не на уровне яйцеклетки, а на уровне первого деления дробления. Однако на стадии двух бластомеров мышинные клетки еще не различаются (Motosugi et al., 2005). Так или иначе, но поступает все больше наблюдений о том, что препаттернинг, в том числе преддетерминация оси в яйцеклетке, не существует у высших животных (Hiiragi, Solter, 2005; Louvet-Vallee et al., 2005; Takaoka et al., 2006; Hiiragi et al., 2006). Это означает: то, что обычно для мухи (с ее крупной яйцеклеткой, строго фиксированным поступлением в нее факторов из питающих клеток и, как результат, ярко выраженным препаттернингом распределения детерминантов), совсем не обязательно для слона.

О САМООРГАНИЗАЦИИ

Многочелющность предполагает специализацию отдельных клеток, которая требует памяти о специализации, сохраняемой в митозах. Последнее возможно только с переходом к использованию парагенома как оперативной информотеки. Один из главных вопросов эмбриологии – как зародыш способен дифференцироваться, имея одинаковый набор генов в соматических клетках. В попытке ответить на него эмбриологи обращаются иногда к самоорганизующимся системам, способным спонтанно (и пассивно) приобретать неоднородности. Здесь предлагается принципиально другой подход: самоорганизация на основе активного приобретения неоднородностей. В гипотезе утверждается, что в действительности в геном отношении развивающийся эмбрион слагается из клеток, неидентичных в информационном отношении, несмотря на идентичность геномов во всех них. Предполагается, что индивидуальное развитие организма ведет дополнительный информационный носитель – оперативная память. Под оперативной памятью здесь понимается информация, заимствованная из основного хранилища (ядерного генома) и физически перенесенная на отдельный материальный носитель (он представлен соответствующим набором молекул перихромосомной ДНК) для выполнения определенной операции в развитии. Без оперативной памяти возможна самоорганизация Вселенной, но невозможно создание такой активно самоорганизующейся системы, как мышшь. Принципиальное отличие мышшей от Вселенных состоит в способности многократно, довольно точно и активно воспроизводить картину индивидуального развития, на что неживые системы не способны. Для индивидуального развития нужна как основная память (геном), так и оперативная (парагеном).

Без привлечения парагенома, оставаясь только с хромосомными генами и механическими силами, исследователю морфогенеза остается традиционно уповать на “самоорганизацию”, что, по сути, равносильно утверждению: “Все само собой как-нибудь да образуется”.

ПАРАГЕНОМ И ЭВОЛЮЦИЯ

В эволюции, вероятно, многое создается через адаптивные модификации, хотя не все структуры организмов адаптивны и имеется немало инадаптивных признаков, по которым строят таксономические классификации. Нэгели назвал в 1884 г. модификациями фенотипические ненаследственные различия, возникающие под влиянием преобладающих условий среды у одинаковых в наследственном отношении особей (Жимулёв, 2003). Некоторые полезные организму модификации явно не наследственны; классическим примером

считается загар. Но не могли бы некоторые модификации, оказавшись адаптивными, закрепляться в геноме? Положительный ответ на такой вопрос позволил бы многое переосмыслить в эволюционной биологии, но, казалось бы, он закрыт навсегда с тех пор, как Август Вейсман рубил хвосты своим мышам, закрывая проблему наследования приобретенных признаков (Бляхер, 1971; Жимулёв, 2003). Однако был ли опыт Вейсмана адекватным задаче? Ведь травма в ход развития не вмешивалась. Бесконечное многообразие в природе богато адаптациями, но до сих пор нет никакой уверенности, что все они были созданы объединением мутаций, собираемых воедино “творческим” естественным отбором (Чайковский, 2003; Попов, 2005; Назаров, 2005). Несмотря на длительную историю эволюционизма, как представляется, воз и ныне там: неodarвинизм так и не показал, как именно совершается макроэволюция. Хорошо известно, что, например, суслики, относящиеся к семейству белок, роют в полях норы, белки лазают по деревьям, а летяги еще и перепархивают с ветки на ветку. Анализируя подобные примеры, Шмальгаузен (1982) писал: “Различная функция конечностей в этих случаях их явно преобразует”. В своей книге “Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии” он заключил, что “непосредственное модифицирующее влияние измененной среды, а также “упражнение” и “неупражнение” органов может привести и, конечно, приводит в новой обстановке к установлению новых, исторически никогда не существовавших форм” (Шмальгаузен, 1982). Формирование и закрепление адаптивных модификаций – сложный процесс, требующий, безусловно, такого объяснения, в котором события, похожие на ламаркизм, должны быть объяснены без роковой ошибки неоламаркистских воззрений, пренебрегающих алмазной твердью центральной догмы молекулярной биологии – невозможностью потока информации от белков к ДНК. В этом сообщении рассматривается только предполагаемый процесс завершения формирования адаптивной модификации, поскольку он имеет прямое отношение к обсуждаемым проблемам парагенома и морфогенеза, тогда как начало процесса создания адаптивных модификаций будет предметом отдельного рассмотрения.

Предполагается, что адаптивная модификация фенотипа должна иметь информационную основу в виде соответствующих молекул перихромосомной ДНК, в данном случае филомер. Предполагается также, что, появившись *de novo* в гаметогенезе в ответ на экстремальные условия развития организма, некоторые филомеры в дальнейшем могли бы передаваться трансгенерационно и влиять на фенотип сомы ближайших половых потомков. Какие факторы могли бы побуждать развивающийся организм к созданию

филомер как факультативных элементов парагенома? И что могло бы происходить дальше? Сначала филомеры в клетках зародышевой линии (germ-line cells) еще не встроены в ядерный геном и располагаются только на поверхности хромосом, что вообще должно быть типично для компонентов парагенома. Филомеры в половых клетках под воздействием синаптонемного комплекса могут по чисто механической причине утрачиваться в мейозе и по той же причине филомера в отличие от хромосомных генов не может на регулярной основе участвовать в кроссинговере, легко вытесняясь из спаривающихся хромосом. Поэтому зависящие от филомер эффекты могут казаться наблюдателю ненаследуемыми, будучи в действительности наследуемыми неустойчиво. У географических рас, например, адаптивные признаки обычно наследственно закреплены. Для этого необходимо, чтобы филомеры у их предков встроились в половой геном, т.е. чтобы филомерная ДНК интегрировалась в последовательность хромосомной ДНК. Фактически это было бы эквивалентно замещению адаптивной модификации хромосомной мутацией, поскольку при интеграции филомерной ДНК в ядерном геноме меняется длинная нуклеотидная последовательность. Замещение приобретенных в индивидуальном развитии адаптивных модификаций наследуемыми мутациями как раз и есть то, что Болдуин в 1896 году назвал органическим отбором. К роли естественного отбора этот эффект Болдуина имеет весьма отдаленное отношение (Jameson, 1977). Сначала в популяции, оказавшейся в экстремальных условиях, нет генов, которые давали бы ей возможность иметь адаптивный фенотип. Затем у части особей появляются адаптивные модификации, которые из-за своей неустойчивости выглядят ненаследуемыми, но дают своим обладателям замечательную возможность выживать не менее эффективно, чем если бы они имели нужные гены. Естественный отбор, действующий по фенотипам, не способен отличить обладателей “ненаследуемых” адаптивных модификаций от носителей наследуемых адаптивных признаков. Поэтому естественный отбор не может иметь никакого влияния на это важное в эволюционном отношении явление. Постепенно в популяции становится все больше носителей полезной для выживания адаптивной модификации. Через некоторое число поколений бывшие “ненаследуемые” адаптивные модификации оказываются по некоей, до сих пор не идентифицированной, причине устойчиво наследуемыми. В этом, собственно, состоит сущность эффекта Болдуина, об этом писали и ряд других эволюционистов, включая Шмальгаузена. В связи с проблемой адаптивных модификаций уместно упомянуть особую их разновидность, так называемые длительные модификации (dauermodification, per-

manent (persistent) modification). К ним, в частности, относятся весьма демонстративные изменения формы брюшка рачка солоноватых вод *Artemia salina*, наступающие под влиянием опреснения воды. Для сохранения способности к парению в толще все менее плотных вод этот рачок за несколько последовательных поколений отрачивает дополнительные членики и щетинки на заднем конце тела, становясь в этом отношении похожим на другого беспозвоночного – *Branchipus stagnalis* (Гаевская, 1916). Эти и подобные им длительные модификации, как можно допустить, также формируются с участием филомер как одного из элементов парагенома. Хотя в некоторых случаях модификации могут быть обусловлены ролью персистирующих вирусов и эпигенетическими изменениями в виде метилирования ДНК и модификаций белков (Хесин, 1984; Голубовский, 2000), тем не менее за модификациями, наследуемыми пусть неустойчиво и всего лишь несколько поколений, в большинстве случаев должна стоять некая информационная основа в виде неких “провизорных” генов, которых на первом этапе появления еще нецелесообразно допускать в геном. Прежде они должны пройти проверку на полезность. Только успешно пройдя ее, эти гены, представленные филомерами, могли бы претендовать на интеграцию в хромосомную ДНК.

Интеграция филомеры в геном – это своеобразный аналог перехода от фено- к генокопии. Как известно, фенокопия – это модификация, напоминающая проявление какого-либо уже известного гена; иначе говоря, фенокопия – это признак организма, не имеющего в геноме определенной мутации, т.е. генокопии, но имитирующего своим фенотипом ее обладание. Если фенокопия наделяет организм тем или иным полезным для выживания адаптивным признаком, то эту фенокопию, по-видимому, можно считать адаптивной модификацией. Филомеры предположительно являются информационной основой некоторых фенокопий и, соответственно, интеграция филомеры в геном является актом закрепления адаптивной модификации, далее уже стабильно наследуемой ядерным геномом.

Роль филомер в индивидуальном развитии необычна – они нужны только в нестандартных для вида условиях существования. В этом отношении филомеры отчасти напоминают хорошо известные В-хромосомы, которые могут появляться в популяциях вида, осваивающих среду, отличающуюся от привычной, например болото вместо степи. В этой связи уместно упомянуть типичные особенности В-хромосом как сверхчисленных, факультативных хромосом. В-хромосомы, по крайней мере частично, состоят из повторяющихся последовательностей, которые в большом числе представлены в аутозомах основного набора

хромосом (Green, 2004). Митотическая нестабильность некоторых В-хромосом, как и нечетное их число в мейозе, служит иногда препятствием устойчивому функционированию клеток (Sachso et al., 2004.). Экспериментальные и недавно возникшие гибриды и полиплоиды, в которых может возникать генетический конфликт между собранными воедино новыми компонентами генома, могут проявлять нестабильность, и В-хромосомы в них могут оказываться даже вредными в отношении плодовитости и самой физиологии клеток и организма (Jones, Pasakinskiene, 2005).

В отличие от В-хромосом филомеры разделяют в ходе делений клеток судьбу тех хромосом основного набора, на которых они фиксированы. Возможный вред от филомер, вероятно, существенно меньше, чем в случае В-хромосом, хотя и филомеры, и В-хромосомы возникают, как предполагается, с одной целью – в попытке гомеостатических систем адаптировать организм к условиям обитания, нетипичным для его предков. В случае В-хромосом конфликт двух наборов, В-набора и стандартного А-набора, иногда затягивается надолго, но может разрешаться вполне успешно (Rocha-Sanchez, Pompolo, 2004). В случае же создания филомер конфликты, вероятно, минимальны, в частности, потому, что филомеры вообще не мешают процессу мейоза и гораздо легче могут быть утрачены. Филомеры выдерживают, вероятно, не более нескольких половых поколений, утрачиваясь организмами, если не успеют встроиться в хромосомную ДНК полового генома. Потеря филомеры из-за укорочения вследствие концевой недорепликации филомеры, не наращиваемой теломеразой, как и потеря филомеры в результате отсоединения от докин-сайта на поверхности хромосомы ведет к восстановлению прежних свойств организма и к потере адаптации, что неблагоприятно, если условия среды по-прежнему экстремальны. Пройдя небольшой “испытательный срок” в одном или нескольких поколениях на свою полезность, филомерная ДНК имеет шанс встроиться в последовательность хромосомы основного набора. Интеграция филомеры в хромосому может произойти, конечно, и при бесполезности или даже вредности филомеры. Если носители определенной филомеры получают преимущество в отношении своего выживания по сравнению с членами популяции, у которых филомера не появилась (и если филомера, находясь на хромосоме, может быть передана потомку), то частота ее встречаемости быстро возрастет в ближайших поколениях. Это в свою очередь повысит шанс на встраивание филомерных генов в половой геном.

Возвращаясь к В-хромосомам как продукту клеточной гомеостатической системы, можно допустить, что в некоторых случаях сами В-хромосомы могли бы выполнять роль посадочных пло-

щадок для филомер. Этому способствуют некоторые особенности В-хромосом. Например, в большинстве случаев у грызунов В-хромосомы гетерохроматичны, не спариваются с аутосомами и половыми хромосомами, в мейозе некоторые В-хромосомы ведут себя как униваленты, а другие как биваленты (Silva, Yonenaga-Yassuda, 2004). В-хромосомы найдены примерно у одного процента видов млекопитающих (Vujosevic, Blagojevic, 2004). Интересно, что большинство видов, у которых они найдены, широко распространены и характеризуются циклированием популяционной численности и социальной организацией, благоприятствующей смешиванию популяций и распространению в них В-хромосом. Широкая распространенность вида предполагает его столкновение с разными условиями существования, адаптации к которым В-хромосомы могли бы способствовать не только собственными генами, но и тем, что организуют дополнительную площадку для посадки филомер, нуждающихся в предварительной проверке на адаптивную ценность до того, как их ДНК сможет интегрироваться в хромосому. Местом интеграции могли бы становиться хромосомы любого набора – как А-, так и В-хромосомы. Напротив, в центральной части видовой ареала, там где виду увеличивать свою приспособленность не требуется, необходимость в В-хромосомах как докин-сайтах для филомер отпадает, они становятся менее нужными, а стабилизация их отбором менее важной. Это должно вести в центре ареала к росту полиморфизма В-хромосом, если только вид не имеет гигантского распространения, требующего постоянной адаптации к разнообразным условиям. Действительно, полиморфизм В-хромосом растет, например, в центре ареала аргентинского кузнечика, не претендующего на глобальное распространение (Colombo, Confalonieri, 2004).

Среди обычных хромосом в качестве носителей филомер особенно подходят хромосомы с инверсиями. Географическое распространение хромосом с разными инверсиями явно носит черты неслучайного распространения, что верно и для кузнечика (Colombo, Confalonieri, 2004), и для дрозофилы (Anderson et al., 1991; Feder et al., 2005). Причин этого может быть, по крайней мере, две. Первая – использование механизма регуляции экспрессии некоторых генов за счет создания синтеза антисмысловых РНК в результате внутрихромосомных инверсий. Вторая – использование инверсии как средства ухода сегмента хромосомы от спаривания и кроссинговера, что, в частности, может создавать возможные дополнительные докин-сайты для филомер.

Для того чтобы уцелеть при трансгенерационной передаче (до интеграции в состав хромосомной ДНК), филомеры должны фиксироваться на хромосомах за счет своих флангов на комплемен-

тарные им повторы в половой хромосоме, не участвующей в спаривании, либо на комплементарные повторы в инвертированных сегментах аутосом. В обоих случаях филомера получает возможность пройти через мейоз, не встречая препятствия. Из-за концевой недорепликации филомера, подобно принтомере, должна укорачиваться, но если она имеет большой запас ДНК на флангах, то его может хватить на несколько половых поколений, как это видно из данных по укорочению теломер у бесполомеразных мышей (Espejel et al., 2002). Находясь на хромосомной инверсии аутосомы, на непарной В-хромосоме или на неспаривающейся половой хромосоме, филомера не только сохраняется в половом геноме, но и, что самое главное, может быть передана соматическим клеткам и в них выступить в роли компонента парагенома, который поставляет свои филомерные транскрипты для сомы, и поэтому влияет на фенотип. Имея *ori* и промотор транскрипции, филомера способна за одно – два поколения пройти проверку на адаптивную полезность и получить шанс на интеграцию своих генов в половой геном.

В состав филомер могут входить копии как хромосомных структурных генов, так и регуляторных последовательностей. Известно, что разные хромосомные гены (среди них гены, участвующие в регуляции транскрипции, стадий развития, функционирования мембран и внеклеточных структур) приобретают в эволюции новые комбинации *цис*-регуляторных элементов, хотя последовательности самих этих элементов довольно консервативны. Последнее обстоятельство чрезвычайно распространено и затрагивает тысячи генов (Sanges et al., 2006). Дистанция между субтеломерной областью хромосомы и местом посадки филомеры на эту хромосому (как и место последующей встройки филомеры в геном) может отражаться на количественных признаках организма. Причина этого состоит в том, что концентрация регуляторных РНК, произведенных на органеллах облигатного парагенома (обычно расположенных в субтеломерной области и влияющих прямо или косвенно на конфигурацию хроматина в хромосоме и на уровень экспрессии ее структурных генов), тем выше, чем ближе филомерные гены окажутся расположенными к источнику этих РНК. (Подробнее о роли субтеломерных областей как потенциальных носителей перихромосомной ДНК см.: Оловников, 2003.)

КОНКАТЕНАЦИЯ КОПИЙ ГЕНОВ В ФИЛОМЕРЕ КАК ПРИЧИНА КЛАСТЕРИЗАЦИИ КОЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ НЕГОМОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ

Конкатенация – это объединение конец в конец копий с нескольких сегментов ДНК. Филоме-

ра могла бы представлять собой конкатенат, в котором объединены в единую последовательность копии с целых генов или же только с их интронов, только экзонов либо с каких-либо регуляторных сайтов. Филомера может содержать копии одного гена и регуляторной последовательности другого гена, копию нескольких хромосомных повторов и т.п. Последовательное соединение между собой воедино нескольких копий разных генов или их сегментов, одновременно скопированных в половой клетке, собственно, и порождает филомеру. Формирование филомеры позволяет в принципе объединять в конкатенат (как вагончики в состав) копии любых, в том числе негомологичных генов, которые оказались одновременно активированными в половых клетках, причем в гаметоцитах создались при этом условия для формирования конкатенатов. Вполне допустимо, что совместная активация в ответ на общий сигнал нескольких генов половой клетки могла бы коррелировать со способностью тех же генов коэкспрессироваться также в некоторых соматических тканях. Если это верно, то указанным путем можно объяснить интересный феномен кластерирования в хромосоме коэкспрессирующихся генов. Известно, что неслучайно кластеризованные коэкспрессирующиеся гены транскрипционно корегулируются (см. обзор: Hurst et al., 2004). У низших эукариот коэкспрессирующиеся гены часто находятся в парах; у высших ситуация отличается. Из 1661 генов, специфичных для семенников, треть генов кластеризована по три и более генов, что значительно выше, чем можно было бы объяснить случайностью (Boutanaev et al., 2002). Свыше 20% всех генов *Drosophila* (как конститутивных, так и тканеспецифических) объединены в кластеры в хромосомах в соответствии с паттернами экспрессии этих генов в клетке (Spellman, Rubin, 2002). Показано, что кластер может не только располагаться на одной хромосоме, но, например, в одном геномном регионе размером всего в 15 т. п. о., как оказалось, у *Drosophila* расположены пять негомологичных генов, из которых четыре регулируются совместно (Kalmykova et al., 2005).

По определению, негомологичные гены не могут возникать за счет дубликации друг друга, ибо тогда они оставались бы гомологичными, пока не разойдутся слишком далеко. Какой же механизм собирает негомологичные гены в кластер? Это пока неизвестно. Здесь предполагается, что слияние концов филомер могло бы быть искомым механизмом. Этот способ может принципиально дополнить тот вариант, к которому привлеч внимание Оно (Ohno, 1970), – эволюция путем дубликации генов. Помимо такого варианта, как здесь постулируется, в клетках зародышевой линии может идти филомерная эволюция, осуществляемая через слияние концов новорожден-

ных копий генов. Поскольку большинство кластеров коэкспрессирующихся генов состоит именно из негомологичных генов (Boutanaev et al., 2002; Spellman, Rubin, 2002; Lercher et al., 2002; Roy et al., 2002), вполне возможно, что именно конкатенация филомерных генов была магистральным путем создания координированно работающих генных кластеров.

Что касается механизма конкатенации, т.е. составления филомерного “поезда” из генных копий-вагончиков, то это могло бы осуществляться, в частности, на той стадии, когда филомеры создаются обратной транскриптазой из транскриптов и представлены комплексами РНК–ДНК. При этом первичная когезия одновременно возникающих в половой клетке копий в единую филомеру могла бы осуществляться через концы транскриптов. Принципиально допустима и не менее вероятна следующая альтернатива – использование механизма трансплайсинга транскриптов. В этом случае сначала идет трансплайсинг и только потом выполняется обратная транскрипция полученного конкатената. В целом филомерная конкатенация, т.е. объединение в перихромосомной органелле (в филомере) копий нескольких генов, позволяет создавать в эволюции ассоциации таких генов, которые у предка разобщены, но в смысле адаптации к новым условиям могут оказаться тематически близкими.

СТРЕСС И СОЗДАНИЕ ФИЛОМЕРЫ

Для объединения копий нескольких генов в единую филомеру в гаметогенезе должны обязательно быть соблюдены определенные условия. Трансплайсинг любых транскриптов друг с другом привел бы к хаосу и гибели гаметоцитов. Чтобы этого избежать, в условиях стресса – а филомеры создаются только в экстремальных для вида условиях существования – в гаметоцитах помимо РНК-полимеразы II, которая в норме синтезирует, как считается, все мРНК, должна начинаться экспрессию необычная форма РНК-полимеразы. Именно ее продукты могли бы участвовать в трансплайсинге транскриптов в стрессовых для гаметогенеза условиях. В качестве кандидата на такую роль вполне пригоден вариант РНК-полимеразы, которая кодируется в ядре, но используется для транскрипции митохондриальных генов. В этом контексте уместно указать на недавно идентифицированную ядерную РНК-полимеразу (spRNAP-IV) (Kravchenko et al., 2005). Эта форма полимеразы кодируется тем же ядерным геном, что и митохондриальная РНК-полимераза, но образуется на основе альтернативного транскрипта; промоторы для spRNAP-IV также сильно отличаются от промоторов РНК-полимеразы II (Kravchenko et al., 2005). Вполне возможно, что в экстремальных условиях физиологически пере-

носимого стресса гаметоциты временно супрессируют синтез некоторых обычных транскриптов для того, чтобы вместо них накопить транскрипты, используемые затем для изготовления филомер. Вполне возможно также, что для этой потенциально полезной для создания адаптации и спасительной для вида цели используются особые, так сказать, “стрессорные” формы РНК-полимеров, и в частности spRNAP-IV. Изготовленные такими РНК-полимерами транскрипты могут затем участвовать в трансплайсинге, подвергаться обратной транскрипции и принимать участие в создании филомер.

ПАРАГЕНОМ, “ГЕНОПТОЗ” И СТАРЕНИЕ

Укорочение притомеры уменьшает продуктивность ее регуляторных генов. Это обусловлено следующим. Притомера представляет собой петлю, свободные концы которой закреплены в плотно компактизованном хромосомном гетерохроматине на двух докинг-сайтах. Эти сайты отстоят друг от друга на некотором постоянном расстоянии. Чем короче (из-за концевой недорепликации притомерной ДНК) становится в делящихся клетках такая притомерная петля, тем более механически напряженной оказывается двойная спираль притомерной ДНК, поскольку расстояние между хромосомными сайтами закорачивания концов никак не меняется. В свою очередь, чем более напряженной оказывается притомерная ДНК, тем труднее становится ее расплетание при движении по ней РНК-полимеразы. Поэтому активность притомерных генов в делящихся дифференцированных клетках постепенно снижается. Функциональная потеря притомерных генов (даже не физическая потеря, хотя и такая возможна, например при выпадении органеллы из ее хромосомного гнезда) вследствие укорочения петли притомерной ДНК может быть обозначена как “геноптоз”. Этот термин образован от слов “gene” и “ptosis” (падение, опадение). Итак, геноптоз – это последовательное и без искусственного вмешательства неотвратимое падение в делящихся дифференцированных клетках активности притомерных генов. Геноптоз ведет к уменьшению в клетке содержания притомерных регуляторных РНК. Вследствие этого снижается активность хромосомных структурных генов, зависящих от уровня этих РНК. В итоге делящиеся клетки, дифференцировка которых контролируется притомерами, начинают стареть. Именно этот механизм – “притомерный геноптоз” – лежит в основе лимита Хейфлика, тогда как укорочение теломер в делящихся клетках (происходящее из-за концевой недорепликации теломерной ДНК) оказывается всего лишь невинным свидетелем процесса клеточного старения. Таким образом, притомеры как часть пара-

генома сначала участвуют в создании организма, а затем они же, укорачиваясь, оказываются вовлеченными в его старение.

ПЕРИХРОМОСОМНАЯ ДНК: ФАКТЫ ЕСТЬ, НО ИХ МАЛО

Прокофьева-Бельговская (1986) высказала гипотезу о том, что гетерохроматин в соматических клетках способен по неустановленным причинам гиперреплицироваться путем амплификации. Не раз также в литературе обсуждалось предположение о “метаболической” экстрахромосомной ДНК, которая ведет себя как эписома, регулирует клетку и, стохастически изнашиваясь в ходе метаболизма, обуславливает ее старение (Stroun et al., 1967; Pelc, 1970–1972; Scheuermann, 1978).

Следует заметить, что по сравнению с экстрахромосомной именно перихромосомная ДНК могла бы иметь несравненно большие потенциальные преимущества в регуляции работы эукариотических клеток, поскольку только так, закрепленная на хромосоме, нехромосомная ДНК может равномерно распределяться между дочерними клетками. Что касается регуляторного морфогенеза, то его вообще нельзя доверять неравномерно распределяющейся экстрахромосомной ДНК, “болтающейся” в цитоплазме или кариоплазме. Но некоторые простейшие действительно используют экстрахромосомную ДНК, причем довольно экстравагантно. Так, энтамеба в таком виде содержит рибосомные гены, вместо того чтобы поместить их в хромосомы, как это приличествует эукариотическому организму (Cazares, 1994; Bhattacharya, 1998).

Во многих раковых клетках человека амплифицированные гены часто представлены в виде экстрахромосомных “double minutes”, или двойных мини-хромосом (DM) (Shimizu et al., 2001; Albertson, 2006). Интересно, что не имеющие центромеры DM сегрегируются по дочерним клеткам благодаря прикреплению к митотическим хромосомам, а некоторые факторы, например гидроксимочевина, индуцируют их открепление (Tanaka, Shimizu, 2000). В интерфазном ядре точкообразные DM локализуются на периферии хромосомных территорий, часто в их инвагинациях, т.е. как бы в гнездах на поверхности хромосом (Solovei et al., 2000). Вообще существует широкий спектр разных ацентрических, ателомерных и автономно реплицирующихся молекул ДНК, некоторые из которых также используют митотические хромосомы в качестве транспортного средства для своего распределения по делящимся клеткам (Tanaka, Shimizu, 2000). Папилломавирусы используют белок E2 для связывания вирусного генома с хромосомами, разновидности этих вирусов выбрали разные хромосомные мишени для надежного распределения по дочерним клеткам

вместе с митотическими хромосомами (McBride et al., 2006). DM находили даже в крови некоторых нормально развивающихся детей (Wang et al., 1994). У куколки мясной мухи *Sarcophaga bullata* в клетках подушечки лапки (pupal foot pad) имеются политенные хромосомы и к их определенным бэндам присоединены гранулы гетерохроматической, богатой повторами ДНК (Samols, Swift, 1979; Bultmann, Mezzanotte, 1987). Эти гранулы – фактически пример нормальной перихромосомной ДНК у эукариоты. Экстрахромосомная ДНК обнаружена в клетках нормально развивающихся дрозофилы (Cohen et al., 2005) и млекопитающих (Gaubatz, 1990). В этой связи уместно подчеркнуть, что формирование парагенома должно осуществляться с помощью обратной транскрипции через стадию экстрахромосомной ДНК, хотя эта ДНК должна формироваться и связываться в непосредственной близости к своим хромосомным оригиналам, т.е. к соответствующим протопринтомерам и протохрономерам.

Парагеном синтезируется с участием обратной транскриптазы, причем целесообразно иметь этот фермент рядом с местом создания перихромосомной ДНК. В этой связи представляют определенный интерес следующие наблюдения. В политеменных хромосомах слонных желез *Chironomus* с помощью антител к обратной транскриптазе выявлено ее присутствие (как соответствующего антигена) около некоторых теломер, в центромерном регионе, в нескольких интерстициальных бэндах и в кольце Бальбиани (Lopez et al., 1999). Обратнотранскриптный сигнал в хромосомах *Rhynchosciara americana* совместно локализуется с теломероподобными сателлитными последовательностями, заметно удаленными от теломер (Madalena, Gorab, 2005). Присутствие этого ключевого для формирования парагенома фермента выявлено у разных видов мух *Rhynchosciara*, причем помимо теломер сигнал обратной транскриптазы найден в серии интерстициальных локусов и, что особо примечательно, там же обнаружен потенциальный продукт этого фермента – гибриды РНК–ДНК (Gorab, 2003).

Цитогенетический анализ метафазных пластинок из быстро делящихся клеток, обработанных горячим фосфатным буфером, выявил многочисленные гетерохроматиновые “точки”, причем длительная инкубация пластинок приводила к сливанию точек с хромосом, и этот процесс не был вызван разрывами хромосом (Edelman, Lin, 2000a, b). Обнаружено также, что при синдроме Вернера, характеризующемся ускоренным старением, гетерохроматин легко терялся с поверхности хромосом и что включение бромдезоксигуанидина вело к нестабильности гетерохроматина, наблюдаемого в хромосомах цитогенетически (Edelman, Lin, 2001). В связи с указанными данными о сливании гетерохроматина с хромосом

при инкубации в горячем буфере следует обратить внимание, по сути, на аналогичное наблюдение других авторов, отметивших крошечные полости или отверстия в теле хромосом, воспроизводимо появляющиеся в их субтеломерных регионах после термальной обработки (Т-бэндинг) метафазных пластинок (Drets, Mendizabal, 1998). В рамках представления о парагеноме можно предположить, что документированное образование крошечных субтеломерных дыр есть результат выпадения плотного материала праймера из их хромосомных гнезд. Примечательно, что нарушения в субтеломерных регионах хромосом вообще, как известно, ассоциируются с врожденными пороками морфологического развития и с недоразвитием интеллекта (Drets, 2004). И то и другое укладывается в представление о регуляторной роли расположенного там парагенома как модулятора активности хромосомных генов. Таким образом, отмеченные наблюдения (Drets, 1998, 2004; Edelman, Lin, 2000a, b; 2001), как представляется, касаются одного и того же явления, т.е. в них исследователи имели дело, по-видимому, именно с парагеномом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высказано утверждение, что ни механика, ни работа генома, ни даже их совместное действие не способны осуществить то подлинное чудо, каким является регуляторный морфогенез, создающий из бесформенной массы клеток биологическое совершенство. Задача решается только тогда, когда на помощь этим известным факторам приходит парагеном, помогающий на каждом этапе развития создавать новые формы и передавать следующим соматическим клеточным поколениям память о достигнутой специфичности. Только парагеном может заполнить пропасть между механикой развития и молекулярной биологией развития, между физикой эмбриогенеза и геномом. Эту пропасть все яснее видит эмбриология, цель которой сегодня – связать анатомию с генами (Beloussov, Gordon, 2006; Beloussov, 2006; Gordon, Beloussov, 2006). Приобретение определенного парагенома эквивалентно материальному запечатлеванию дальнейшей клеточной судьбы, и эта предопределенность сохраняется до того момента, пока один парагеном не будет заменен клетками на следующий. Новый парагеном позволяет обрести клеткам в развитии новый фенотип с его новой механикой натяжений и релаксаций и т.д. Этот триумvirат – геном–парагеном–механика – правит индивидуальным развитием всех многоклеточных существ. Но дело этим не ограничивается: предполагается, что возможности геномов прирастают в эволюции через стадию парагенома (конкретнее, через филомеры). Макроэволюция, по-видимому, вообще невозможна без преобразо-

ваний на уровне парагенома, лежащих в основе подавляющего большинства ароморфозов и других морфофизиологических трансформаций у животных и растений.

Парагеном – транзиторный носитель оперативной информации соматической клетки. Он представлен в виде наборов прикрепленных к хромосомам молекул перихромосомной ДНК, способных к самостоятельному самоподдержанию в ряду соматических клеточных поколений. В отличие от экстрахромосомной ДНК перихромосомные органеллы распределяются по клеткам строго равномерно благодаря хромосомам как транспортному средству. Конечно, парагеном всего лишь копия своего хромосомного предшественника – протопарагенома. Протопарагеном – это подлинный оригинал, представленный многочисленными сегментами регуляторной хромосомной ДНК, рассеянными по геному. Однако эти протопарагеномные сегменты-оригиналы почти постоянно молчат и, главное, они зависимы в своей активности от ненадолго декомпактизирующих их факторов. Более того, для контроля за этими оригиналами, если бы они были даже постоянно активны в дифференцированных клетках, требовалось бы присутствие более раннего регулятора, поддерживающего их гетерохроматин в активном состоянии в ряду поколений, а за указанным регулятором вынужден был бы следить еще более ранний фактор, за тем фактором – еще один и так без конца. Это – так называемая и до сих пор неразрешенная задача “регуляции регуляторов” и сопряженная с ней проблема клеточной памяти о достигнутом состоянии клеточной специализации. Случаи поддержания активности гена его собственным продуктом – исключения, а не правило. Отсылки к всеильности эпигенетических факторов (метилование ДНК, ацетилирование гистонов и т.п.) являются отговоркой, поскольку достаточность именно эпигенетики для точного и устойчивого поддержания клеточной памяти у эукариот в ряду соматических поколений никогда не была доказана. Напротив, вынесение за пределы хромосомной ДНК копий ее сегментов, т.е. формирование парагенома, одним ударом разрешает названные трудности. Парагеном – высший регулятор среди всех прочих регуляторов дифференцировки и, будучи представлен молекулами ДНК, способными к самоподдержанию, не нуждается в сохранении в клетках более ранних регуляторов. Он – ключевой регулятор генома, хотя по своему происхождению является лишь копией части генома.

Следует отметить, что парагеном не относится к эпигенетическим факторам. Причин, по крайней мере, две. Первая – эпигенетическая наследственность есть передача информации от клетки к ее потомкам без кодирования информации в виде нуклеотидной последовательности. Вторая –

эпигенетическая наследственность не связана с изменением любой нуклеотидной последовательности. В отличие от этого парагеномная информация закодирована именно в нуклеотидных последовательностях, соматически наследуемых. Более того, парагеномная нуклеотидная последовательность транзиторна, т.е. изменяется в клетках с течением времени из-за укорочения линейной перихромосомной ДНК. Изучение конкретного состава и особенностей работы парагенома – это потенциально новая область исследований – парагеномика. Предмет парагеномики не совпадает с эпигенетическими эффектами, а ее цель – изучение структуры и функционирования перихромосомных органелл (прежде всего принтомер и хрономер) и их регуляторных генов, которые в соответствии с принадлежностью к парагеному целесообразно обозначить как парагены. Хотя парагены, как и все части парагенома, являются копиями молчащих компонентов гетерохроматина, они, тем не менее, возникнув в дифференцировке, далее ведут себя независимо и фактически управляют работой всего генома в ходе индивидуального развития.

Геном как любая система не может руководить сам собой. Для этого нужна вторая самостоятельная система. Именно эту роль и берет на себя парагеном.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белинцев Б.Н.* Физические основы биологического формообразования. М.: Наука, 1991. 252 с.
- Белоусов Л.В.* Биологический морфогенез. М.: Изд-во МГУ, 1987. 238 с.
- Белоусов Л.В.* Основы общей эмбриологии. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2005. 368 с.
- Бляхер Л.Я.* Проблема наследования приобретенных признаков. М.: Наука, 1971. 274 с.
- Васильев Ю.М., Гельфанд И.М.* Поисковые миграции клеток в нормальном развитии и в канцерогенезе // Биохимия. 2006. № 71. С. 1013–1020.
- Гаевская Н. С.* Изменчивость у *Artemia salina* // Тр. Зоол. лаб. и Севастоп. биостанции АН СССР. 1916. № 3.
- Гилберт С.Ф., Опиз Д.М., Рэф Р.А.* Новый синтез эволюционной биологии и биологии развития // Онтогенез. 1997. Т. 28. № 5. С. 325–343.
- Голубовский М.Д.* Век генетики: эволюция идей и понятий. СПб.: Борей Арт, 2000. 262 с.
- Жимулёв И.Ф.* Общая и молекулярная генетика. Новосибирск: Сибир. унив. изд-во, 2003. 479 с.
- Зотин А.И., Зотина Р.С.* Феноменологическая теория развития, роста и старения организма. М.: Наука, 1993. 257 с.
- Исаева В.В., Преснов Е.В.* Топологическое строение морфогенетических полей. М.: Наука, 1990. 256 с.
- Корочкин Л.И.* Биология индивидуального развития (генетический аспект). М.: Изд-во МГУ, 2002. 264 с.
- Мина М.В., Клевезаль Г.А.* Рост животных. М.: Наука, 1976. 291 с.
- Назаров В.И.* Эволюция не по Дарвину: смена эволюционной модели. М.: КомКнига, 2005. 519 с.
- Оловников А.М.* Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов // ДАН СССР. 1971. Т. 201. № 6. С. 1496–1499.
- Оловников А.М.* Иммунный ответ и процесс маргинотомии в лимфоидных клетках // Вестн. АМН СССР. 1972. № 12. С. 85–87.
- Оловников А.М.* Заметки о “принтомерном” механизме клеточной памяти и ионной регуляции конфигураций хроматина // Биохимия. 1999. Т. 64. № 12. С. 1689–1698.
- Оловников А.М.* Внутрядерные ионные фонтаны как регуляторы работы генома: фонтанная гипотеза доминантности и некоторых эпигенетических эффектов // Молекуляр. биология. 2001. Т. 35. № 1. С. 163–176.
- Оловников А.М.* Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии // Биохимия. 2003. Т. 68. № 1. С. 7–41.
- Оловников А.М.* Редумера как недостающее звено в понимании старения человека // Клини. геронтология. 2005. № 11. С. 50–69.
- Петухов С.В.* Биомеханика, бионика и симметрия. М.: Наука, 1981. 240 с.
- Попов И.Ю.* Ортогенез против дарвинизма. Историко-научный анализ концепций направленной эволюции. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2005. 207 с.
- Прокофьева-Бельговская А.А.* Гетерохроматические районы хромосом. М.: Наука, 1986. 431 с.
- Хесин Р.Б.* Непостоянство генома. М.: Наука, 1984. 472 с.
- Чайковский Ю.В.* Эволюция. М.: Центр систем. исследований, 2003. 472 с.
- Шмальгаузен И.И.* Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.: Наука, 1982. 383 с.
- Albertson D.G.* Gene amplification in cancer // Trends Genet. 2006. V. 22. P. 447–455.
- Anderson W.W., Arnold J., Baldwin D.G. et al.* Four decades of inversion polymorphism in *Drosophila pseudoobscura* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. P. 10 367–10 371.
- Ariizumi T., Asashima M.* In vitro induction systems for analyses of amphibian organogenesis and body patterning // Int. J. Devel. Biol. 2001. V. 45. P. 273–279.
- Arthur W.* D’Arcy Thompson and the theory of transformations // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7. P. 401–406.
- Ausprunk D. H., Folkman J.* Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis // Microvasc. Res. 1977. V. 14. P. 53–65.
- Belousov L.V.* The dynamic architecture of developing organism. Dordrecht et al.: Kluwer Acad. Publ., 1998. 238 p.
- Belousov L.* An interview with Albert Harris. Direct physical formation of anatomical structures by cell traction forces // Int. J. Devel. Biol. 2006. V. 50. P. 93–101.

- Belousov L.V., Gordon R.* Preface. Developmental morphodynamics – bridging the gap between the genome and embryo physics // *Ibid.* 2006. V. 50. P. 79–80.
- Belousov L.V., Grabovsky V.I.* Morphomechanics: goals, basic experiments and models // *Ibid.* 2006. V. 50. P. 81–92.
- Bhattacharya S., Som I., Bhattacharya A.* The ribosomal DNA plasmids of entamoeba // *Parasitol. Today.* 1998. V. 14. P. 181–185.
- Bookstein F.L.* The Measurement of biological shape and shape change. Berlin: Springer-Verlag, 1978.
- Bookstein F.L., Chernoff B., Elder R.L. et al.* Morphometrics in evolutionary biology, the geometry of size and shape change, with examples from fishes. Philadelphia: Acad. Nat. Sci., 1985.
- Boutanaev A.M., Kalmykova A.I., Shevelyov Y.Y. et al.* Large clusters of co-expressed genes in the *Drosophila* genome // *Nature.* 2002. V. 420. P. 666–669.
- Boveri T.* Über die Polarität des Seeigeleiers // *Eisverh. Phys. Med. Ges. Würzburg.* 1901. Bd. 34. S. 145–175.
- Bultmann H., Mezzanotte R.* Characterization and origin of extrachromosomal DNA granules in *Sarcophaga bullata* // *J. Cell Sci.* 1987. V. 88. P. 327–334.
- Camacho J.P., Perfectti F., Teruel M. et al.* The odd-even effect in mitotically unstable B chromosomes in grasshoppers // *Cytogenet. Genome Res.* 2004. V. 106. P. 325–331.
- Cazares F., Manning-Cela R., Meza I.* Heterogeneity of the ribosomal DNA episome in strains and species of *Entamoeba* // *Mol. Microbiol.* 1994. V. 12. P. 607–612.
- Chikuda H., Kugimiya F., Hoshi K. et al.* Cyclic GMP-dependent protein kinase II is a molecular switch from proliferation to hypertrophic differentiation of chondrocytes // *Genes Devel.* 2004. V. 18. P. 2418–2429.
- Child C.M.* Patterns and problems of development. Chicago: Univer. Chicago Press, 1941.
- Chiquet M., Renedo A.S., Huber F. et al.* How do fibroblasts translate mechanical signals into changes in extracellular matrix production? // *Matrix Biol.* 2003. V. 22. P. 73–80.
- Cohen S., Agmon N., Yacobi K. et al.* Evidence for rolling circle replication of tandem genes in *Drosophila* // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. P. 4519–4526.
- Colombo P., Confalonieri V.* Cytogeography and the evolutionary significance of B chromosomes in relation to inverted rearrangements in a grasshopper species // *Cytogenet. Genome Res.* 2004. V. 106. P. 351–358.
- Datta P.K., Lianos E.A.* Retinoic acids inhibit inducible nitric oxide synthase expression in mesangial cells // *Kidney Int.* 1999. V. 56. P. 486–493.
- David G., Bernfield M.R.* Collagen reduces glycosaminoglycan degradation by cultured mammary epithelial cells: possible mechanism for basal lamina formation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979. V. 76. P. 786–790.
- Day S.J., Lawrence P.A.* Measuring dimensions: the regulation of size and shape // *Development.* 2000. V. 127. P. 2977–2987.
- Drets M.E.* Cytological indications of the complex subtelomeric structure // *Cytogenet. Genome Res.* 2004. V. 104. P. 137–141.
- Drets M.E., Mendizabal M.* The underlying structure of the subtelomeric region detected by microphotometrical scanning and chromosome graphic image analysis // *Mutat. Res.* 1998. V. 404. P. 13–16.
- Driever W., Nusslein-Volhard C.* A gradient of bicoid protein in *Drosophila* embryos // *Cell.* 1988. V. 4. P. 83–93.
- Dubrulle J., Pourquié O.* fgf8 mRNA decay establishes a gradient that couples axial elongation to patterning in the vertebrate embryo // *Nature.* 2004. V. 427. P. 419–422.
- Edelman J.R., Lin Y.J.* “Glowing” chromosomes in cells undergoing rapid division // *Cytobios.* 2000a. V. 102. P. 149–156.
- Edelman J.R., Lin Y.J.* “Sloughing-off” of heterochromatin in Werner’s syndrome cells during high-temperature phosphate incubation // *Ibid.* 2000b. V. 101. P. 173–185.
- Edelman J.R., Lin Y.J.* Translocation of unstable heterochromatin as the mechanism of sister chromatid exchange formation: a proposed hypothesis // *Ibid.* 2001. V. 106. P. 171–191.
- Enikolopov G., Banerji J., Kuzin B.* Nitric oxide and *Drosophila* development // *Cell Death Differ.* 1999. V. 10. P. 956–963.
- Espejel S., Franco S., Sgura A. et al.* Functional interaction between DNA-PKcs and telomerase in telomere length maintenance // *EMBO J.* 2002. V. 21. P. 6275–6287.
- Feder J.L., Xie X., Rull J. et al.* Mayr, Dobzhansky, and Bush and the complexities of sympatric speciation in *Rhagoletis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 6573–6580.
- Furusawa C., Kaneko K.* Morphogenesis, plasticity and irreversibility // *Int. J. Devel. Biol.* 2006. V. 50. P. 223–232.
- Garcia-Cardena G., Comander J., Esron K.R. et al.* Biomechanical activation of vascular endothelium as a determinant of its functional phenotype // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. P. 4478–4485.
- Gaubatz J.W.* Extrachromosomal circular DNAs and genomic sequence plasticity in eukaryotic cells // *Mutat. Res.* 1990. V. 237. P. 271–292.
- Geiger B., Bershady A., Pankov R. et al.* Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix-cytoskeleton crosstalk // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2001. V. 2. P. 793–805.
- Gilbert S.F., Opitz J.M., Raff R.A.* Resynthesizing evolutionary and developmental biology // *Devel. Biol.* 1996. V. 173. P. 357–372.
- Gorab E.* Reverse transcriptase-related proteins in telomeres and in certain chromosomal loci of *Rhynchosciara* (Diptera: Sciaridae) // *Chromosoma.* 2003. V. 111. P. 445–454.
- Gordon R.* Mechanics in embryogenesis and embryonics: prime mover or epiphenomenon? // *Int. J. Devel. Biol.* 2006. V. 50. P. 245–253.
- Gordon R., Belousov L.* From observations to paradigms; the importance of theories and models. An interview with Hans Meinhardt // *Ibid.* 2006. V. 50. P. 103–111.
- Gordon R., Jacobson A.G.* The shaping of tissues in embryos // *Sci. Am.* 1978. V. 238. P. 106–113.
- Green D.M.* Structure and evolution of B chromosomes in amphibians // *Cytogenet. Genome Res.* 2004. V. 106. P. 235–242.

- Gurdon J.B., Bourillot P.Y.* Morphogen gradient interpretation // *Nature*. 2001. V. 413. P. 797–803.
- Gurdon J.B., Lemaire P., Kato K.* Community effects and related phenomena in development // *Cell*. 1993a. V. 75. P. 831–834.
- Gurdon J.B., Tiller E., Roberts J. et al.* A community effect in muscle development // *Curr. Biol*. 1993b. V. 3. P. 1–11.
- Harfe B.D., Scherz P.J., Nissim S. et al.* Evidence for an expansion-based temporal Shh gradient in specifying vertebrate digit identities // *Cell*. 2004. V. 118. P. 517–528.
- Harris A.K.* Cell motility and the problem of anatomical homeostasis // *J. Cell. Sci. Suppl*. 1987. V. 8. P. 121–140.
- Harris A.K.* Multicellular mechanics in the creation of anatomical structures // *Biomechanics of active movements and division of cells* / Ed. Akkas N. Berlin: Springer Verlag, 1994. P. 87–129.
- Hay J.O., Moulija B., Lane B. et al.* Biomechanical analysis of the Rolled (RLD) leaf phenotype of maize // *Am. J. Bot.* 2000. V. 87. P. 625–633.
- Hemish J., Nakaya N., Mittal V. et al.* Nitric oxide activates diverse signaling pathways to regulate gene expression // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 42321–42329.
- Hiragi T., Solter D.* Mechanism of first cleavage specification in the mouse egg: is our body plan set at day 0? // *Cell Cycle*. 2005. V. 4. P. 661–664.
- Hiragi T., Louvet-Vallee S., Solter D. et al.* Embryology: does pre patterning occur in the mouse egg? // *Nature*. 2006. V. 442. P. E3–E4.
- Hornberger T.A., Armstrong D.D., Koh T.J. et al.* Intracellular signalling specificity in response to uniaxial vs. multiaxial stretch: implications for mechanotransduction // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2005. V. 288. P. 185–194.
- Hörstadius S.* The mechanics of the sea urchin development studied by operative methods // *Biol. Rev.* 1939. V. 14. P. 132–179.
- Hove J.R., Koster R.W., Frouhar A.S. et al.* Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis // *Nature*. 2003. V. 421. P. 172–177.
- Hunter T.* Signaling-2000 and beyond // *Cell*. 2000. V. 100. P. 113–117.
- Hurst L.D., Pal C., Lercher M.J.* The evolutionary dynamics of eukaryotic gene order // *Nat. Rev. Genet.* 2004. V. 5. P. 299–310.
- Ingber D.E.* Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development // *Int. J. Devel. Biol.* 2006. V. 50. P. 255–266.
- Jacobson A.G., Gordon R.* Changes in the shape of the developing vertebrate nervous system analyzed experimentally, mathematically and by computer simulation // *J. Exp. Zool.* 1976. V. 197. P. 191–246.
- Jaeger J., Reinitz J.* On the dynamic nature of positional information // *BioEssays*. 2006. V. 28. P. 1102–1111.
- James S.Y., Williams M.A., Newland A.C. et al.* Leukemia cell differentiation: cellular and molecular interactions of retinoids and vitamin D // *Gen. Pharmacol.* 1999. V. 32. P. 143–154.
- Jameson D.L.* Genetics of speciation. Stroudsburg: Dowden, Hutchinson and Ross, 1977. 337 p.
- Jones N., Pasakinskiene I.* Genome conflict in the gramineae // *New Phytol.* 2005. V. 165. P. 391–409.
- Kalmykova A.I., Nurminsky D.I., Ryzhov D.V. et al.* Regulated chromatin domain comprising cluster of co-expressed genes in *Drosophila melanogaster* // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. P. 1435–1444.
- Kessel M.* Respecification of vertebral identities by retinoic acid // *Development*. 1992. V. 115. P. 487–501.
- Kirschner M., Gerhart J., Mitchison T.* Molecular vitalism // *Cell*. 2000. V. 100. P. 79–88.
- Kravchenko J.E., Rogozin I.B., Koonin E.V. et al.* Transcription of mammalian messenger RNAs by a nuclear RNA polymerase of mitochondrial origin // *Nature*. 2005. V. 436. P. 735–739.
- Lercher M.J., Urrutia A.O., Hurst L.D.* Clustering of house-keeping genes provides a unified model of gene order in the human genome // *Nat. Genet.* 2002. V. 31. P. 180–183.
- Lopez C.C., Rodriguez E., Diez J.L. et al.* Histochemical localization of reverse transcriptase in polytene chromosomes of chironomids // *Chromosoma*. 1999. V. 108. P. 302–307.
- Louvet-Vallee S., Vinot S., Maro B.* Mitotic spindles and cleavage planes are oriented randomly in the two-cell mouse embryo // *Curr. Biol*. 2005. V. 15. P. 464–469.
- Madalena C.R., Gorab E.* A chromosome end satellite of *Rhynchosciara americana* (Diptera: Sciaridae) resembling nematoceran telomeric repeats // *Insect Mol. Biol.* 2005. V. 14. P. 255–262.
- Maniotis A.J., Bojanowski K., Ingber D.E.* Mechanical continuity and reversible chromosome disassembly within intact genomes removed from living cells // *J. Cell Biochem.* 1997a. V. 65. P. 114–130.
- Maniotis A.J., Chen C.S., Ingber D.E.* Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments and nucleo-plasm that stabilize nuclear structure // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997b. V. 94. P. 849–854.
- Mcbeath R., Pirone D.M., Nelson C.M. et al.* Cell shape, cytoskeletal tension and RhoA regulate stem cell lineage commitment // *Devel. Cell*. 2004. V. 6. P. 483–495.
- McBride A.A., Oliveira J.G., McPhillips M.G.* Partitioning viral genomes in mitosis: same idea, different targets // *Cell Cycle*. 2006. V. 5. P. 1499–1502.
- Motosugi N., Bauer T., Polanski Z. et al.* Polarity of the mouse embryo is established at blastocyst and is not prepatterned // *Genes Devel.* 2005. V. 19. P. 1081–1092.
- Niederreither K., Ward S.J., Dolle P. et al.* Morphological and molecular characterization of retinoic acid-induced limb duplications in mice // *Devel. Biol.* 1996. V. 176. P. 185–198.
- Ohno S.* Evolution by gene duplication. N. Y.: Springer-Verlag, 1970. 160 p.
- Olovnikov A.M.* A theory of marginotomy: The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon // *J. Theor. Biol.* 1973. V. 41. P. 181–190.
- Olovnikov A.* Role of hypothetical nuclear organelles – redosomes – in morphogenesis, aging and cancer // *Frontiers in*

- neurodegenerative disorders and aging: fundamental aspects, clinical perspectives and new insights (NATO Sci. Series. Ser. I: Life and Behavioural Sciences) / Eds Ozben T., Chevion M. Amsterdam et al.: IOS Press, 2004. P. 89–98.
- Olovnikov A.M.* When creating an embryo, cells are synthesizing transitory “perichromosomal” DNA-containing organelles necessary for interpreting positional information // Chemical and biological kinetics: new horizons. Biological kinetics. In commemoration of Professor N.M. Emanuel’s 90th Anniversary / Eds Burlakova E.B. et al. Leiden, The Netherlands: Koninklijke Brill N.V., 2005. P. 465–480.
- Olovnikov A.* Chronobiology and chromeres // Trends in chronobiology research / Ed. Columbus F. N.Y.: Nova Sci. Publ., Inc., 2006. P. 49–61.
- Opas M.* Substratum mechanics and cell differentiation // Int. Rev. Cytol. 1994. V. 150. P. 119–137.
- Pelc S.R.* Metabolic DNA and the problem of ageing // Exp. Gerontol. 1970. V. 5. P. 217–226.
- Pelc S.R.* Influence of metabolic DNA on determinations of the cell cycle // Cell Tis. Kinet. 1971. V. 4. P. 577–583.
- Pelc S.R.* Metabolic DNA in ciliated protozoa, salivary gland chromosomes, and mammalian cells // Int. Rev. Cytol. 1972. V. 32. P. 327–355.
- Pfeifer A., Aszodi A., Seidler U. et al.* Intestinal secretory defects and dwarfism in mice lacking cGMP-dependent protein kinase II // Science. 1996. V. 274. P. 2082–2086.
- Plusa B., Hadjantonakis A.K., Gray D. et al.* The first cleavage of the mouse zygote predicts the blastocyst axis // Nature. 2005. V. 434. P. 391–395.
- Potard U.S., Butler J.P., Wang M.* Cytoskeletal mechanics in confluent epithelial cells probed through integrins and E-cadherins // Am. J. Physiol. 1997. V. 272. P. 1654–1663.
- Rands G.F.* Size regulation in the mouse embryo. II. The development of half embryos // J. Embryol. Exp. Morphol. 1986. V. 98. P. 209–217.
- Regulski M., Stasiv Y., Tully T. et al.* Essential function of nitric oxide synthase in *Drosophila* // Curr. Biol. 2004. V. 14. P. R881–R882.
- Richards O.W., Kavanagh A.J.* The analysis of the relative growth gradients and changing form of growing organisms: illustrated by the tobacco leaf // Am. Naturalist. 1943. V. 77. P. 385–399.
- Richards O.W., Kavanagh A.J.* The analysis of growing form // Le Gros Clark E.E., Medawar P.B. Essays on growth and form presented to D’Arcy Wentworth Thompson. Oxford: Clarendon Press, 1945. P. 188–230.
- Riethmacher D., Brinkmann V., Birchmeier C.* A targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 855–859.
- Rocha-Sanchez S.M., Pompolo S.G.* Imitate to integrate: reviewing the pathway for B chromosome integration in *Trypoxylon (Trypargilum) albitarse* (Hymenoptera, Sphecidae) // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 106. P. 398–401.
- Roy P.J., Stuart J.M., Lund J. et al.* Chromosomal clustering of muscle-expressed genes in *Caenorhabditis elegans* // Nature. 2002. V. 418. P. 975–979.
- Samols D., Swift H.* Characterization of extrachromosomal DNA in the flesh fly *Sarcophaga bullata* // Chromosoma. 1979. V. 75. P. 145–159.
- Sanges R., Kalmar E., Claudiani P. et al.* Shuffling of cis-regulatory elements is a pervasive feature of the vertebrate lineage // Genome Biol. 2006. V. 7. doi: 10.1186/gb-2006-7-7-r56
- Sausedo R.A., Smith J.L., Schoenwolf G.C.* Role of nonrandomly oriented cell division in shaping and bending of the neural plate // J. Comp. Neurol. 1997. V. 381. P. 473–488.
- Scheuermann W.* Cytological phenomena studied in *Vicia faba*, in relation to Pelc’s hypothesis of a “metabolic” DNA // Cytobiologie. 1978. V. 17. P. 232–245.
- Shimizu N., Ochi T., Itonaga K.* Replication timing of amplified genetic regions relates to intranuclear localization but not to genetic activity or G/R band // Exp. Cell Res. 2001. V. 268. P. 201–210.
- Silva M.J., Yonenaga-Yassuda Y.* B chromosomes in Brazilian rodents // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 106. P. 257–263.
- Simian M., Hirai Y., Navre M. et al.* The interplay of matrix metalloproteinases, morphogens and growth factors is necessary for branching of mammary epithelial cells // Development. 2001. V. 128. P. 3117–3131.
- Smith R.K., Johnson M.H.* Analysis of the third and fourth cell cycles of mouse early development // J. Reprod. Fertil. 1986. V. 76. P. 393–399.
- Smith L.G., Hake S., Sylvester A.W.* The tangled-1 mutation alters cell division orientations throughout maize leaf development without altering leaf shape // Development. 1996. V. 122. P. 481–489.
- Solovei I., Kienle D., Little G. et al.* Topology of double minutes (dmins) and homogeneously staining regions (HSRs) in nuclei of human neuroblastoma cell lines // Genes. Chromosom. Cancer. 2000. V. 29. P. 297–308.
- Spellman P.T., Rubin G.M.* Evidence for large domains of similarly expressed genes in the *Drosophila* genome // J. Biol. 2002. V. 1. doi: 10.1186/1475-4924-1-5
- Stroun M., Charles P., Anker P. et al.* Metabolic DNA in heart and skeletal muscle and in the intestine of mice // Nature. 1967. V. 216. P. 716–717.
- Supatto W., Debarre D., Moulia B. et al.* In vivo modulation of morphogenetic movements in *Drosophila* embryos with femtosecond laser pulses // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 1047–1052.
- Takaoka K., Yamamoto M., Shiratori H. et al.* The mouse embryo autonomously acquires anterior-posterior polarity at implantation // Devel. Cell. 2006. V. 1. P. 451–459.
- Tanaka T., Shimizu N.* Induced detachment of acentric chromatin from mitotic chromosomes leads to their cytoplasmic localization at G(1) and the micronucleation by lamin reorganization at Sphase // J. Cell Sci. 2000. V. 113. P. 697–707.
- Thompson D’A.W.* On growth and form. Cambridge: Univer. Press, 1917. (Цит. по: Arthur W. D’Arcy Thompson and the theory of transformations // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7. P. 401–406.)
- Tsikolia N.* The role and limits of a gradient based explanation of morphogenesis: a theoretical consideration // Int. J. Devel. Biol. 2006. V. 50. P. 333–340.

- Uochi T., Asashima M.* Sequential gene expression during pronephric tubule formation in vitro in *Xenopus* ectoderm // *Devel. Growth Diff.* 1996. V. 38. P. 625–634.
- Vujosevic M., Blagojevic J.* B chromosomes in populations of mammals // *Cytogenet. Genome Res.* 2004. V. 106. P. 247–256.
- Wang H., Bellinger J.L., Brierley K. et al.* Minute chromatin structures in cells of amniotic fluid—an interpretative dilemma // *Prenat. Diagn.* 1994. V. 14. P. 868–872.
- Weiss J., Delgado-Benarroch L., Egea-Cortines M.* Genetic control of floral size and proportions // *Int. J. Devel. Biol.* 2005. V. 49. P. 513–525.
- Wolpert L.* One hundred years of positional information // *Trends Genet.* 1996. V. 12. P. 359–364.
- Wolpert L.* What is evolutionary developmental biology? // *Novartis Found. Symp.* 2000. V. 228. P. 1–14.
- Wolpert L.* The progress zone model for specifying positional information // *Int. J. Devel. Biol.* 2002. V. 46. P. 869–870.
- Wood W., Jacinto A.* Imaging cell movement during dorsal closure in *Drosophila* embryos // *Methods Mol. Biol.* 2005. V. 294. P. 203–210.
- Zhang J., Rivest S.* Distribution, regulation and colocalization of the genes encoding the EP2- and EP4-PGE2 receptors in the rat brain and neuronal responses to systemic inflammation // *Eur. J. Neurosci.* 1999. V. 11. P. 2651–2668.

Role of Paragenome in Development

A. M. Olovnikov

Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Chernyakhovskogo, 5-94, Moscow 125319 Russia

E-mail: olovnikov@dol.ru

Abstract—The concept of paragenome is proposed, which is considered as a transient array of short DNA molecules appearing on the chromosome surface during development for the control of genome. The paragenome consists of printomeres, chromomeres, and phylomeres. Chromomeres and printomeres are obligatory for cells of certain differentiation lineages, but the cells of different lineages differ in the sets of these organelles. Phylomeres are facultative, since they appear only when development is modified. The paragenome is a system governing the chromatin configuration and level of structural genes expression, ensuring the interpretation of positional information by the cells and their differentiation in regulatory morphogenesis, and controlling the development in time. Deciphering of the paragenome will allow realization in future of direct reprogramming of somatic cell nuclei without using stem cells and eggs.

Key words: morphogenesis, paragenome, printomeres, chromomeres, evolution.