

УДК 591

## Нох-КЛАСТЕР И ЭВОЛЮЦИЯ МОРФОГЕНЕЗОВ<sup>1</sup>

© 2010 г. Н. М. Корчагина, Н. И. Бакаленко, М. А. Кулакова

Санкт-Петербургский государственный университет  
199034 Старый Петергоф, Ораниенбаумское шоссе, д. 2

E-mail: iribus@rambler.ru

Поступила в редакцию 08.02.10 г.  
Окончательный вариант получен 19.02.10 г.

Сравнительные исследования геномов низших Metazoa показали, что многие классы транскрипционных факторов, важные для развития билатеральных животных, возникли до дивергенции современных ветвей животного царства. Гены *Нох*-кластера появились поздно, у последнего общего предка Cnidaria и Bilateria. Структурная экспансия и усовершенствование механизмов, интегрирующих *Нох*-кластер в единое целое, сделали его универсальным инструментом осевого паттернирования. Следы структурной и регуляторной эволюции *Нох*-кластера прослеживаются в морфогенезах современных билатеральных животных, и сейчас очевидно, что разные стратегии использования этого регуляторного инструмента привели Bilateria к абсолютному доминированию по числу и разнообразию видов среди всех многоклеточных животных.

**Ключевые слова:** морфогенез, эволюция программ развития, *Нох*-кластер, *Нох*-парадокс, Urbilateria, Lophotrochozoa, Annelidae.

### МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ КАК РЕЗУЛЬТАТ ИЗМЕНЕНИЙ В ПРОГРАММАХ РАЗВИТИЯ

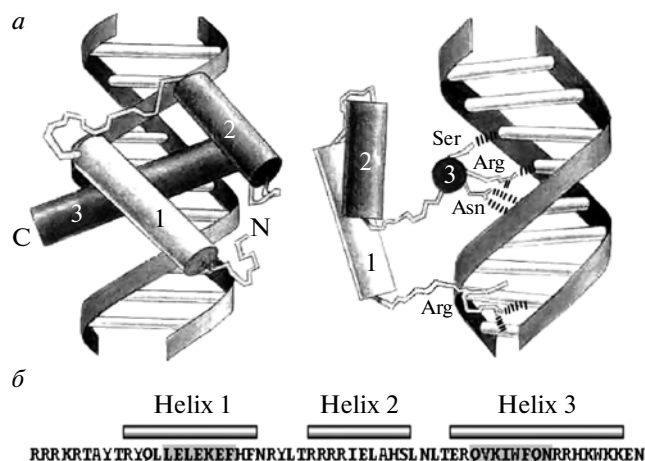
Морфологическое разнообразие современных билатеральных животных, несомненно, результат эволюции, которая шла на уровне программ развития. Ключевые участники морфогенезов известны: это транскрипционные факторы и элементы систем межклеточного сигналинга, принадлежащие к ограниченному числу структурно и функционально консервативных семейств. Удивляющая степень этой консервативности проявилась, когда были секвенированы геномы животных, принадлежащих к сестринским для Bilateria группам: геномы губки *Amphimedon queenlandica*, трихоплакса *Trichoplax adhaerens* и книдарии *Nematostella vectensis*. Оказалось, что все сигнальные пути и все основные семейства транскрипционных факторов, характерные для первично- и вторичноротых животных, существуют у губок и кишечнополостных (Srivastava et al., 2008; Erwin, 2009). Более того, многие из них участвуют в процессах если не гомологичных, то, по крайней мере, аналогичных. Так, гены семейства *Wnt* дифференциально экспрессируются вдоль орально-аборальной оси *Nematostella*, а один из таких генов губки полярно экспрессируется у планулы (Kusserow et al., 2005; Adamska et al., 2007). Оказалось, что у кишечнополостных есть многие “мезодермальные” гены Bilateria (*twist*, *snail*, *forkhead*), а у

губок найдены транскрипционные факторы, характерные для нейтральных дифференцировок (*Sox*, *Pax*) (Martindale et al., 2004; Larroux et al., 2006). Вместе с тем у хоанофлагелляты *Monosiga brevicollis* репертуар транскрипционных регуляторов и систем сигналинга выглядит скромнее: у нее нет элементов сигналинга *wnt* и TGF- $\beta$  и отсутствуют гены классов *POU* и *Antp* (King et al., 2008). Видимо, анцестральный геном многоклеточных уже включал в себя *bHLH*, *Mef2*, *Fox*, *Sox*, *T-box*, *ANTP*, *Prd-like*, *Pax*, *POU*, *Six*, *TAL* и другие консервативные генные семейства, но некоторые из вышеперечисленных не встречаются у жгутиконосцев, грибов и растений. Их появление совпадает с возникновением первых многоклеточных, а дупликация и дивергенция отдельных генных семейств сопровождалась появлением крупных таксонов Metazoa. Показательный пример такой ситуации – появление и стремительная экспансия гомеодоменных транскрипционных факторов двух классов – *ANTP* (от *Antennapedia* – *Нох*-содержащего локуса *Drosophila*) и *PRD* (*Paired-like*). Гены этих классов обнаружены только у Metazoa (Holland, Takahashi, 2005). И совершенно особый интерес представляют *Нох*-гены, которые есть исключительно у Eumetazoa (Larroux et al., 2007)

### СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ *Нох*-ГЕНОВ

*Структура гомеодомена. Нох*-гены кодируют белковые регуляторные факторы, осуществляющие контроль над экспрессией генов-мишеней, за счет

<sup>1</sup> Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 09-04-01322-а, 06-04-49654-а).



**Рис. 1.** Схема гомеодомена в двух проекциях (а) (третья распознающая  $\alpha$ -спираль взаимодействует с большой бороздкой ДНК при помощи стереотипных аминокислотных остатков Ile47, Gln50, Asn51 и Met54 (по: Alberts et al., 2008)) и пример белковой последовательности гомеодомена (б). (■) — консервативные участки.

связывания с *cis*-регуляторными сайтами последних. Общая структурная черта всех представителей суперсемейства гомеобоксных генов и *Hox*-генов в частности — наличие гомеобокса, который представляет собой 180-нуклеотидную последовательность, кодирующую белковый ДНК-связывающий домен — гомеодомен. Гомеодомен состоит из 60 аминокислотных остатков, уложенных в три  $\alpha$ -спирали, две из которых антипараллельны, а третья (на С-конце) им перпендикулярна (рис. 1). Мотив, образуемый второй и третьей спиралью, получил название “helix-turn-helix” (спираль-поворот-спираль). Распознающая спираль — третья. Она сайтспецифическим образом входит в большую бороздку спирали ДНК. Минимальный сайт для посадки гомеодоменного белка представляет собой короткую последовательность ТААТ[t/g][a/g]. Ее распознают аминокислотные остатки Ile47, Gln50, Asn51 и Met54 третьей  $\alpha$ -спирали, а также Arg5 на N-конце белка (рис. 1). Тонкая специфика в распознании регуляторной зоны реализуется за счет соседних областей гомеодоменного белка, в частности, за счет домена YPWM, который взаимодействует с кофакторами. Примеры таких взаимодействий описаны для *Hox*-белков дрозофилы и мыши. Известно, что Extradenticle (Exd) — гомеодоменный фактор класса TALE образует димер с *Hox*-белком Ultrabitorax (Ubx) на энхансере подконтрольного гена *decapentaplegic* (*dpp*). Показано, что взаимодействие с Exd обеспечивает верную спецификационную функцию Ubx в первом абдоминальном (A1) сегменте мухи. В отсутствие Exd сегмент специфицируется по типу A3 (Rauskolb, Wieschaus, 1994). Транскрипционные факторы Disco и Teashirt — кофакторы другого *Hox*-белка *Drosophila*,

*Sex combs reduced* (Scr). Их дифференциальная активность в континууме экспрессии *Scr* приводит к появлению различий между лабиальными и первым торакальными сегментами (Röder et al., 1992; Robertson, 2004). У позвоночных Pbx1 — гомолог Exd является кофактором *Hox*-белков из одной-десяти паралогических групп. *Hox*-белки-паралоги из 11–14 групп образуют димеры с другим TALE-фактором — Meis1 (у *Drosophila* — Homothorax (Hth)) (Phelan et al., 1995; Shen et al., 1997). Взаимодействия такого рода способны в ряде случаев очень тонко координировать работу *Hox*-фактора.

**Кластерность.** *Hox*-гены были первыми, открытыми в суперсемействе гомеобоксодержащих генов. Аномалии, связанные с нарушением их функций, давно привлекали к себе внимание и были описаны еще в позапрошлом веке. Нарушения в работе *Hox*-генов приводят к гомеозисным трансформациям, суть которых в замещении нормальной структуры другой, серийно-гомологичной и лежащей выше или ниже по основной (переднезадней) оси тела.

По данным филогенетического, структурного и функционального анализа, гены *Hox*-кластера *Bilateria* относятся к четырем подсемействам (рис. 2): 1) передние гены (паралогические группы (PG) 1–2 у хордовых или *lab*, *pb* — у насекомых); 2) *Hox3*-подобные гены (PG3; *Hox3/zen*); 3) центральные гены (PG4–8; *Dfd*, *Scr*, *Antp*, *Ubx*, *abdA*); 4) задние или постериорные гены (PG9–14; *AbdB*).

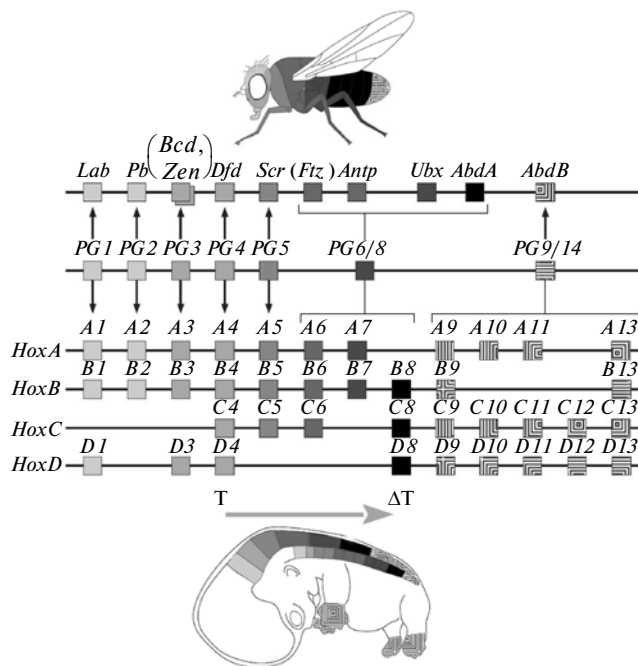
Кластерная организация *Hox*-генов — структурное свидетельство их происхождения. Согласно гипотезе Бриттена и Коэна (Britten, Kohn, 1968; цит. по: Гилберт, 1995), тандемные семейства идентичных последовательностей ДНК возникают в результате “скачкообразной репликации” неповторяющейся “архетипической” последовательности. Затем эти дублированные копии могут подвергаться “независимым мутациям” и отбору. Именно путем тандемных дубликаций на заре становления Eumetazoa формировался кластер *Hox*-генов. Эти гены удобно классифицировать по паралогическим группам. Ортологи *Hox*-генов — это гомологичные гены, принадлежащие к одной и той же паралогической группе, но обнаруженные у разных видов. Ген в пределах своей паралогической группы эволюционно “законсервирован” и куда больше похож на ортолог, принадлежащий другому организму, чем на соседнюю гомологичную последовательность из другой паралогической группы.

У подавляющего числа животных *Hox*-кластер один. Однако в эволюционной ветви позвоночных периодически происходили дубликации всего генома и *Hox*-кластеров в частности. Сценарий этих дубликаций, вероятно, был таким: первая дубликация *Hox*-кластера (похожего на кластер современного ланцетника) произошла у общего предка челюстноротых и бесчелюстных рыб около 500 млн

лет тому назад, и при этом предки современных миксин и челюстноротых сохранили большую часть ортологов исходного кластера, а миноги потеряли часть генов (Papageorgiou, 2007). Затем челюстноротые еще раз дуплицировали геном, и четыре кластера *Hox*-генов были унаследованы Tetrapoda. В линиях бесчелюстных рыб дважды произошли независимые дупликации. Дупликации *Hox*-кластеров продолжились и в линии челюстноротых, так, например, у костистых рыб обнаруживается от 8 до 14 кластеров (Amores et al., 2004; Dehal, Boore, 2005). Многие гены и даже целые кластеры терялись в эволюционных ветвях челюстноротых. К примеру, рыба фугу (*Takifugu rubripes*) потеряла ортологи кластеров *C* и *D* (Kuracu, Meyer, 2009), а млекопитающие в общей сложности не больше семи генов на пути от общего с другими челюстноротыми предка. Эти утраты и приобретения не только отражают филогенетические отношения в пределах современных челюстноротых но, по сути, иллюстрируют их эволюцию.

**Коллинеарность.** Высокая консервативность Нох-белков и строгая структурная упорядоченность *Hox*-генов в пределах кластеров говорят о консервативности их функции. Ранняя экспрессия *Hox*-генов у большинства билатеральных животных подразделяет (регионализует) переднезаднюю ось тела на широкие домены. Эти области влияния *Hox*-регуляторов коллинеарны позиции гена на хромосоме. Иными словами, позиция гена в кластере определяет место его экспрессии вдоль переднезадней оси эмбриона. Интересно, что почти во всех исследованных случаях самую ростральную границу экспрессии выказывают *Hox*-гены из второй паралогиической группы (*PG2*), а не гены из группы *PG1*. К сожалению, мало кто из исследователей обращает внимание на это повсеместно встречающееся исключение.

Природа коллинеарной экспрессии *Hox*-генов активно исследуется, и уже сейчас понятно, что в основе ее действует не единственный механизм. Первично- и вторичноротые животные избрали разные стратегии для управления *Hox*-генами. Огромные кластеры насекомых и нематод часто включают в себя сторонние, не гомеобоксные гены (*amalgam*, *tRNA*, кутикулярные гены). Протяженные регуляторные области *Hox*-генов у насекомых организованы в виде модулей, способных активировать один и тот же ген в самых разных пространственно-временных контекстах. К примеру, *Ubx* у чешуекрылых не только определяет позицию и морфологию третьего грудного сегмента, но и много позже включается для модификации рисунка цветных чешуй на второй паре крыльев (Weatherbee et al., 1999). Пространственная упорядоченность экспрессии осуществляется здесь благодаря работе регуляторных модулей, каждый из которых состоит из нескольких разнородных сайтов связывания репрессоров и активаторов транскрип-



**Рис. 2.** Пространственная и временная коллинеарность экспрессии *Hox*-генов у эмбрионов членистоногих и наземных позвоночных (по: Wolpert, 1998, с изменениями), выраженная в линейном соответствии позиции каждого гена на хромосоме и местом/временем его экспрессии вдоль переднезадней оси животного. Гены одной паралогиической группы выделены одним цветом. Видно, что *Hox*-кластер последнего общего предка первично- и вторичноротых животных состоял по меньшей мере из семи генов, среди которых центральный (*PG6/8*) и постериорный (*PG9/14*) паралоги дуплицировались и дивергировали независимо в разных эволюционных ветвях.

ции. Включение или выключение *Hox*-гена зависит в данном случае от интерпретации активным модулем совокупности сигналов, эффекторами которых являются транскрипционные факторы, стоящие “up-stream” по отношению к данному *Hox*-гену.

*Hox*-кластер дрозофилы разорван между центральными генами *Antp* и *Ubx* и образует два комплекса — *Antp-C* и *BX-C*, расстояние между которыми составляет около 0.1 т.п.н.. Интересно, что механизмы, поддерживающие целостность кластера, ослабли у дрозофилид настолько, что разные виды рода демонстрируют самые разные варианты структурных перестроек этого комплекса. Так у *D. virilis* разрыв в кластере проходит между генами *Ubx* и *AbdA* (Papageorgiou, 2007). У *D. buzzatii* происходит реаранжировка генов в пределах фрагментов кластера так, что первый комплекс состоит из генов *labial*, *abd-A* и *Abd-B*, а второй — из *Ubx*, *Antp*, *Scr*, *Dfd*, *pb* (Negre, Ruiz, 2007). Вместе с тем генов всего по-прежнему восемь, и сами мухи внешне мало отличаются друг от друга. Дрозофила — неудачный объект для исследования анцестральных механизмов регуляции *Hox*-генов. Это насекомое с длинной за-

родышевой полоской, и многие ранние морфогенетические события (сегментация, осевая регионализация) происходят у нее в очень короткий промежуток времени. У насекомых с короткой или промежуточной зародышевой полоской (прямокрылые, жуки) сегменты формируются последовательно, из зоны роста, аналогично сомитам позвоночных. У жука *Tribolium* кластер *Hox*-генов целостный и полноразмерный (Shippey et al., 2008). При формировании абдоминальных сегментов 5'-ассоциированные *Hox*-гены жука активируются последовательно.

Интересно, что животные с естественными разрывами в кластере генов (*Drosophila*, *Ciona*, *Capitella*) и даже те, у которых кластер полностью дезинтегрирован (*Oikopleura*), демонстрируют упорядоченную транскрипцию *Hox*-генов вдоль переднезадней оси (Wada et al., 2003; Ikuta et al., 2004; Seo et al., 2004; Edwardsen et al., 2005; Fröblius et al., 2008). Пространственная коллинеарность экспрессии *Hox*-генов не зависит в данном случае от их упорядоченного расположения в кластере. Однако существует коллинеарность хронологическая, или временная, когда передний ген (3'-ассоциированный) активируется раньше 5'-ассоциированного соседа. Эта форма коллинеарности отсутствует у большинства исследованных животных с фрагментированным или разорванным кластером (Ikuta et al., 2004; Seo et al., 2004).

Кластеры позвоночных очень компактны (~100 т.п.н.), не “замусорены” посторонними последовательностями и не содержат транспозонов (Duboule, 2007). Такая строго поддерживаемая отбором структура кластеров напрямую связана с их осевой регионализующей функцией. Пространственная коллинеарность экспрессии *Hox*-генов вдоль переднезадней оси определяется у позвоночных через коллинеарность темпоральную. Последовательная миграция и ингрессия клеток эпибласта в первичную полосу у куриного эмбриона происходит благодаря упорядоченной во времени транскрипции *Hox*-генов. В эксперименте нарушения в пределах ДНК-связывающего домена *Hoxb9* приводят к тому, что экспрессирующие его клетки мигрируют раньше, чем в норме (Iimura, Pourquie, 2007). Механизмы, которые управляют последовательным “включением” *Hox*-генов в кластерах позвоночных не ясны до конца. Известно, что упорядоченная экспрессия отдельных *Hox*-генов в почке конечности и в первичной полоске у мыши может быть экспериментально нарушена, если их позицию относительно 3'- и 5'-концов кластера изменить (Tarchini, Duboule, 2006; Tschopp et al., 2009). Существуют энхансеры, которые координируют работу *Hox*-кластера позвоночных как единого комплекса (Spitz et al., 2003; Tarchini, Duboule, 2006). В то же время в период ранней осевой активации *Hox*-кластера в первичной полоске важную роль играют градиенты морфогенов и пути Fgf- и Wnt-сигналинга. Вероятно, контроль над экспрессией *Hox*-генов в эмбриогенезе позвоночных

не ограничивается каким-либо одним механизмом, а включает в себя как реорганизацию хроматина, так и работу удаленных и геноспецифичных промоторов. Эта регуляторная пластичность могла быть унаследована от общего предка билатеральных животных – Urbilateria.

### *Hox*-ПАРАДОКС И ЕГО РАЗРЕШЕНИЕ

Открытие *Hox*-генов и многих других эволюционно-консервативных генных семейств, имеющих стереотипный паттерн экспрессии, породило целый ряд новых вопросов. Одна из таких загадок получила название “*Hox*-парадокс”. Суть парадокса в том, что несравнимая по уровню морфологического разнообразия совокупность билатеральных животных использует один и тот же набор регуляторов для построения принципиально разных тел. Для того чтобы разрешить этот парадокс, необходимо понять тонкую механику работы *Hox*-генов на разных этапах морфогенеза и расширить круг модельных объектов.

*Структурная эволюция Hox-генов.* Первичная последовательность гомеобокса очень консервативна и в наибольшей степени проявляется на тех участках, которые ответственны в белке за связывание и распознавание регуляторного сайта гена-мишени. Очевидно, что даже минимальные вариации в структуре гомеодомена кардинальным образом меняют весь спектр мишеней транскрипционного фактора. Тем не менее примеры таких изменений встречаются. Например, ген *Bicoid* (*bcd*) у *Drosophila* возник из предкового *Hox*-гена (Stauber et al., 1999). Хотя этот ген координатный, он вовлечен в морфогенетическую программу первичного становления переднезадней полярности, а не в процессы паттернирования и спецификации переднезадней оси (основная функция *Hox*-генов). Единственная замена глутамина на лизин в 50-й позиции гомеодомена приводит к полной сепарации мишеней между *bcd* и любым из *Hox*-генов (Hanes, Brent, 1991). За пределами гомеобокса вариации встречаются достаточно часто и могут иметь важный эволюционный смысл. Так, тандемная дупликация аланина, случившаяся у предка насекомых во внегемобоксной части гена *Ubx*, привела к появлению у этого гена новой функции: белок *Ubx* начал репрессировать транскрипцию гена *distal-less* (*dll*), универсального индуктора проксимодистальных осей у Bilateria (Grenier, Carroll, 2000).

*Эволюция на уровне генов-мишеней.* Гарсиа-Беллидо (García-Bellido, 1975) выдвинул идею о том, что *Hox*-гены – селекторы (переключатели), которые делают выбор между альтернативными состояниями детерминации на уровне метамера. Универсальность и консервативность *Hox*-генов становится вполне объяснимой, если предположить, что эти регуляторные гены работают, как устойчивые бинарные переключатели. Они могут быть только

“включены” или только “выключены” в каждом конкретном метамере, потому что любые другие варианты приводят к гомеозисным трансформациям, которые у высокодифференцированных членистоногих несовместимы с жизнью. Эволюция по этому сценарию касалась только *Hox*-подчиненных генов, т.е. генов-интерпретаторов *Hox*-кода. Великолепные экспериментальные работы Кэрролла второй половины 1990-х наглядно показали селекторную функцию *Hox*-генов и их эволюционную роль в диверсификации планов тела членистоногих, в частности, каким образом шла эволюция крылатых насекомых (Carroll et al., 1995; Grenier, Carroll, 2000). По-видимому, программа развития крыла возникла единожды и реализовалась сразу во всех туловищных сегментах предка крылатых насекомых. В раннем карбоне (325 млн. д.н.э.) уже существовали насекомые (Paleodictyoptera), нимфы которых несли крыловидные выросты на грудных и абдоминальных сегментах. Постепенно в ходе эволюции различные гены-участники программы развития крыла переходили под репрессивный контроль *Hox*-генов. Можно экспериментально получить дрозофилу, мутантную по *Hox*-генам *Scr* и *Abd-A*. У такой мухи зачатки крыльев сформированы в большинстве туловищных сегментов (Carroll et al., 1995). Некоторые *Hox*-гены почти никогда не “вмешивались” в программу развития крыла (например, *Antp* во втором грудном сегменте), другие “отменили” эту программу насовсем (*Scr* – в первом грудном сегменте, *Abd-A* – в брюшных сегментах), третьи ее модифицировали (*Ubx*). Эволюция регуляторной программы развития крыла происходила в разных отрядах насекомых независимо от *Hox*-генов образом, но морфологическая разница между крыльями одного и того же насекомого – результат влияния *Hox*-гена *Ubx*, который у всех насекомых активизируется в третьем грудном сегменте и берет под свой репрессивный контроль разные гены-мишени. В различных отрядах насекомых мишени могут быть разными. У *Tribolium castaneum* (Coleoptera) РНК-интерференция гена *Ubx* приводит к трансформации крыльев на третьем грудном сегменте в жесткие элитры (Tomoyasu et al., 2009). Очевидно, что в данном случае репрессивная функция *Ubx* направлена на отмену экзоскелетизации второй пары крыльев, благодаря чему Coleoptera приобрели защитные надкрылья и сохранили способность к полету – так одна и та же программа модифицируется в пределах одного и того же организма и дает богатую почву для адаптивной радиации. Очень похожая регуляторная игра затрагивает эволюцию серийно гомологичных структур у членистоногих в целом (Averof, Patel, 1997; Pavlopoulos et al., 2009).

*Эволюция на уровне генов-регуляторов.* После того как спектр модельных объектов молекулярной биологии развития был расширен, стало ясно, что границы экспрессии ортологичных *Hox*-генов могут сильно варьировать у животных из разных классов

одного типа, а в некоторых случаях различия есть и в пределах одного класса (Crustacea, Malacostraca). При этом морфологические границы отделов тела совпадают у билатеральных животных с границами экспрессии отдельных *Hox*-генов. Существует эволюционно пластичная “*Hox*-формула”, переменные в которой (время активации, длительность и пространственная протяженность зоны экспрессии для каждого *Hox*-гена) определяются регуляторами “up-stream” (гены *Gap*, сегментной полярности, *cad/Cdx* и т.д.) при сохранении общего принципа осевой коллинеарности. Сегменты со сходной морфологией и функцией объединены у членистоногих в тагмы и экспрессируют сходный набор *Hox*-генов. У ракообразных эволюционные изменения в позиции тагм хорошо прослеживаются на уровне отдельных классов и отрядов. Существует корреляция между числом максиллоподий (ногочелюстей) и передней границей экспрессии *Ubx* в грудных сегментах у ракообразных. У примитивных жаброногих (Branchiopoda, Artemia) нет максиллоподий и все грудные сегменты сходным образом экспрессируют *Ubx* (Averof, Patel, 1997), однако в пределах классов Maxillopoda и Malacostraca ногочелюсти появляются на первых грудных сегментах. Число таких сегментов варьирует в пределах разных отрядов класса Malacostraca и четко соотносится со смещением экспрессионной границы *Ubx*. На грудных сегментах, в которых нет экспрессии *Ubx*, развиваются ногочелюсти. Интересно, что у *Porcellio* в раннем эмбриогенезе пара конечностей на переднем грудном сегменте (T1) мало отличается от локомоторных ног, постепенно морфология их меняется, и у взрослого животного они становятся ногочелюстями. Ортолог гена *Ubx* у *Porcellio* не экспрессируется в T1 ни на одной из стадий эмбриогенеза (Averof, Patel, 1997), там работает другой *Hox*-ген – *Scr*. На ранних этапах развития в T1 присутствует только транскрипт *Scr*, что говорит о существовании трансляционного блока в отношении этой матрицы. Белковый фактор выявляется позже, и его появление совпадает с началом морфологической трансформации ног в ногочелюсти (Abzhanov, Kaufman, 1999). Возможно, *Scr* – ключевой ген, определяющий морфологию максиллоподий, а смещение границы экспрессии *Ubx* делает эту его функцию возможной. Экспериментально было показано, что эктопическая экспрессия *Ubx* у амфиподы *Parhyale hawaiiensis* трансформирует ногочелюсти в ходильные ноги, а вторую пару максилл превращает в ногочелюсти. РНК-интерференция *Ubx* приводит к обратному эффекту: увеличивается число максиллоподий за счет ходильных ног (Pavlopoulos et al., 2009; Liubicich et al., 2009). Важно, что степень трансформации одной структуры в другую градуальна и зависит от уровня эктопической экспрессии. Это значит, что изменение границы экспрессии *Hox*-генов может происходить в ходе эволюции не скачкообразно, а постепенно.

Переднезадняя ось позвоночных подразделяется на морфологически четко дифференцируемые регионы (шейный, грудной, поясничный, тазовый и крестцовый). Разное число сегментов, образующих эти отделы, — основа для варибельности между различными таксонами позвоночных и так же, как и в случае с членистоногими, определяется “*Нох*-формулой”. Границы отделов соотносятся с передними границами экспрессии *Нох*-генов. При замене генов *Hoxa3* на *Hoxd3* и *Hoxa1* на *Hoxb1* у мыши не происходит видимых фенотипических нарушений. Это говорит об идентичности функций этих паралоогов и преобладанию количественного влияния над качественным (Greer et al., 2000; Tvrdik, Sacreschi, 2006). Возможно, тонкие морфологические различия между позвонками одного отдела — следствие количественной модификации активности генов-мишеней, а не различия между самими мишенями. Осевая экспрессия *Нох*-кластеров позвоночных нужна не для спецификации каждого сегмента, а для создания широких вертебральных доменов (Burke et al., 1995), границы между которыми определяются через “качественную” функцию *Нох*-генов.

*Эволюция на уровне регуляторных модулей.* Строгая метамерная селекторность *Нох*-генов не подтвердилась. Эти гены способны к значительно более пластичной регуляции и являются бинарными переключателями, скорее, на уровне отдельных клеточных клонов, а не метамеров в целом. Важно, что при удивительном консерватизме кодирующей части основным инструментом морфологической эволюции является тонкая игра на уровне сложно организованных, модульных регуляторных зон самих *Нох*-генов и их мишеней во всех плоскостях регуляторной иерархии. Это наглядно подтверждено в исследованиях Стерна (Stern, 2003), который изучал тонкие аспекты экспрессионной активности одного из *Нох*-генов у нескольких видов рода *Drosophila* и показал, что некоторые морфологические различия между этими видами напрямую связаны с незначительными вариациями в активности данного гена, а это в свою очередь обусловлено дивергенцией его регуляторных сайтов. В то же время *цис*-регуляторные модули, ответственные за раннюю регионализующую активность *Нох*-генов, могут быть эволюционно консервативны, что поддерживает общий план организации (Ho et al., 2009). Интересно, что у трансгенной мыши с геном-репортером под ранним энхансером *Hoxc8* курицы активация трансгена происходила раньше (и роstralней), чем активация собственного *Hoxc8*. Ген *Hoxc8* курицы *in vivo* активируется раньше и ближе к передней границе *Hoxc6*, чем его ортолог у мыши. Детальный анализ выявил всего несколько нуклеотидных замен между энхансерами этих генов — и это хороший пример того, как пластична “*Нох*-формула”, способная меняться за счет очень ограниченных *цис*-модификаций (Belting et al., 1998).

## *Нох*-ГЕНЫ И ФИЛОГЕНИЯ Bilateria

Структурная и функциональная консервативность *Нох*-белков неправдоподобно велика. У трансгенных мух, содержащих в геноме копии *Нох*-генов мыши под промоторами белков теплового шока, экспрессия конструкций провоцировала те же самые аномалии, которые можно видеть при сверхэкспрессии собственных ортологов дрозофилы (Malicki et al., 1990; Zhao et al., 1993). Это означает, что, несмотря на разницу в 600 млн. лет, разделяющую первично- и вторичноротых животных, *Нох*-белки сохранили сродство к определенным мишеням, которые в свою очередь сохранили в неизменности *цис*-регуляторные сайты для специфичного узнавания *Нох*-белков. Создается впечатление, что морфогенезы, участниками которых являются *Нох*-гены, имеют регуляторные контуры с очень низкой эволюционной варибельностью (возможно, это наиболее древняя, а потому общая часть программы развития Bilateria) и области, где естественный отбор допускает бесчисленные вариации. Важное обобщение, проистекающее из консерватизма структуры и функции *Нох*-генов, сделал Слэк (Slack, 1993). Он ввел понятие “зоотипа”, или “филотипической” стадии, которую проходят в своем развитии все билатеральные животные и которая характеризуется пространственно-координатной экспрессией *Нох*-генов. Это принципиальное сходство легко объяснить общностью происхождения современных билатеральных животных от единого предка, который тоже использовал *Нох*-гены для регионализации тела вдоль переднезадней оси.

Анализ аминокислотной последовательности гомеодоменов и фланкирующих гомеодоменов участков у животных разных эволюционных ветвей сильно изменил устоявшуюся филогению билатеральных животных (de Rosa et al., 1999). Оказалось, что эволюционное древо Bilateria делится у основания на два больших ствола: вторичноротые = Deuterostomia (хордовые, полухордовые, иглокожие) и первичноротые = Protostomia, которые в свою очередь подразделяются на Lophotrochozoa (брахиоподы, немуртины, аннелиды, моллюски, плоские черви и др.) и Ecdysozoa (артроподы, онихофоры, нематоды, приапулиды и др.). Сами термины “Ecdysozoa” и “Lophotrochozoa” не нашли пока синонимов в русском языке. Термин “Ecdysozoa” происходит от греческого слова “ecdysis” — линька, поскольку все представители ветви Ecdysozoa — животные линяющие, покрытые жесткой кутикулой.

Термин “Lophotrochozoa” произошел от двух других зоологических терминов — “Lophophorata” и “Trochophora”. Lophophorata — группа животных, которая вошла в состав Protostomia, а раньше рассматривалась как самостоятельная, у которой был недавний общий предок со вторичноротыми животными. Trochophora — ресничная сферическая личинка, характерная для большинства Lophotro-

chozoa. Сравнительный анализ последовательностей *Hox*-генов выявил, что общий предок билатеральных животных, находящийся в основании этих трех эволюционных ветвей, уже обладал по меньшей мере семью *Hox*-генами (de Rosa et al., 1999). Как выглядел этот общий предок, какие процессы вели к его возникновению и чем вызвана беспрецедентная радиация его потомков – интереснейшие эволюционные вопросы. На них невозможно ответить, если наши знания о структуре и функции древних регуляторных генов будут неполными.

Важно, что скорость, с которой происходили изменения в первичных последовательностях *Hox*-генов, не была одинаковой для всех генов кластера. Так, гены *PG1–PG5* возникли до разделения билатеральных животных на первично- и вторичноротых и однозначным образом распознаются у представителей разных эволюционных ветвей. Напротив, гены центральной и постериорной групп (*PG6–8* и *PG9+*) являются специфичными для каждой эволюционной ветви. Для вторичноротых характерны центральные гены *Hox6–Hox8* и множество постериорных генов *Hox9–Hox14*, предковый ген которых претерпел тандемные дубликации уже после отделения от общего с первичноротыми предка. Для первичноротых характеристическими (сигнатурными) являются потомки двух центральных генов, которые появились у общего предка Ecdysozoa и Lophotrochozoa, а затем дублицировались независимо и дивергировали. В результате для ветви Ecdysozoa характерны такие центральные гены, как *ftz*, *Antp* и *Ubx*, а для Lophotrochozoa – *Lox5*, *Hox7* и *Lox2*, *Lox4* соответственно. Похожая ситуация произошла с постериорными генами первичноротых. Характерные для Ecdysozoa *AbdB/php-3* (артроподы, нематоды, приапулиды, онихофоры) и *nob-1/HB4* (приапулиды, нематоды) появились независимо от *Post1* и *Post2* Lophotrochozoa.

Морфологическое разнообразие билатеральных животных напрямую связано с теми стратегиями, которые они используют при реализации регуляторного потенциала *Hox*-кластера. Структурный консерватизм одних генов и пластичность других, вероятно, должны находить функциональное выражение. К сожалению, на сегодняшний день наши знания о функциях *Hox*-генов и даже просто о паттерне их экспрессии не равноценны для разных ветвей Bilateria. Если в пределах Deuterostomia и Ecdysozoa функции *Hox*-генов подробно исследованы хотя бы на примере позвоночных и артропод, то для ветви Lophotrochozoa эти исследования находятся на начальном этапе, хотя Lophotrochozoa – группа, не превзойденная по числу разнообразных планов организации тела. Сюда входят преимущественно морские животные, большинство из которых характеризуется непрямой типом развития. Первичные, несегментированные личинки Lophotrochozoa морфологически часто сходны при значительной разнице взрослых форм.

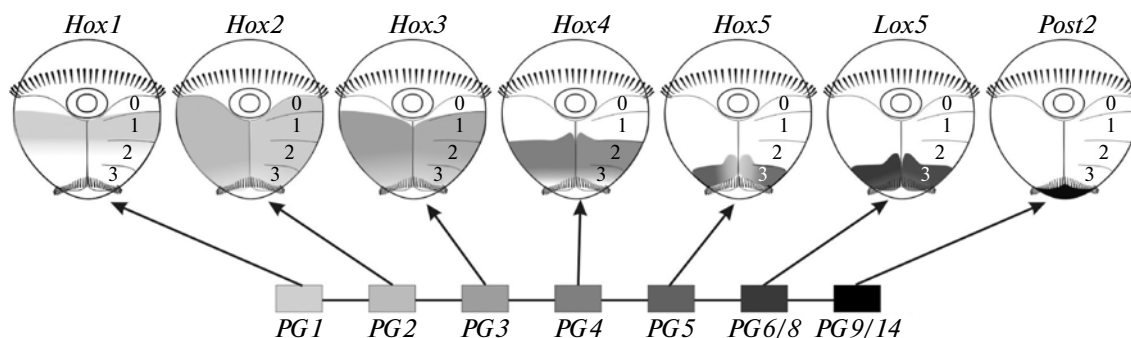
### *Hox*-ГЕНЫ И МНОГОСТУПЕНЧАТЫЙ ОНТОГЕНЕЗ Lophotrochozoa

Экспрессия генов *Hox*-кластера исследована среди Lophotrochozoa только у двух видов моллюсков, четырех аннелид и двух планарий рода *Dugesia*. У двух моллюсков – архегастроподы *Haliotis asinina* и кальмара *Euprymna scolopes* – *Hox*-гены коллинеарно транскрибируются в нервных ганглиях и одновременно принимают участие в морфогенезе раковинной железы, венчика рук, воронки – тех структур, которые характерны только для моллюсков (Hinman, 2003; Lee et al., 2003), причем здесь уже никакой аксиальной упорядоченности в их экспрессии обнаружить не удалось.

В геноме двух планарий из рода *Dugesia* (Turbellaria; Platyhelminthes) присутствуют все основные паралоогические группы *Hox*-генов (Bayascas et al., 1997; Nogi, Watanabe, 2001). С помощью метода ОТ-ПЦР выяснили, что *Hox*-гены *Dugesia tigrina* можно условно подразделить на две группы. В первой окажутся те гены, которые экспрессируются по всему телу равномерно, во второй – гены с гнездовым, аксиально-упорядоченным паттерном. У *Dugesia tigrina* описаны два таких гена – *DtHoxD* (*PG5*; *Scr*) и *DtHoxC* (*PG6–8*; *Lox5*) (Bayascas et al., 1997). У планарии *Dugesia japonica* найдено три гена с гнездовым паттерном экспрессии, но порядок их экспрессии инвертирован по отношению к ожидаемому (Orii et al., 1999; Nogi, Watanabe, 2001). Принципиально то, что в данном случае экспрессия этих *Hox*-генов не соотносится с какими-либо морфологическими структурами и не имеет четких передних границ. К сожалению, роль генов *Hox*-кластера в морфогенезе планктонной мюллеровской личинки, характерной для турбеллярий, не рассмотрена.

*Hox*-гены аннелид исследованы наиболее масштабно среди всех Lophotrochozoa. Существует несколько работ, анализирующих их экспрессию у пиявок и полихет (Irvin, Martindale, 2000; Kourakis, Martindale, 2001; Kulakova et al., 2002, 2007). Установлено, что *Hox*-гены пиявки *Helobdella* имеют отчетливые стационарные передние границы экспрессии в ганглиях нервной системы, при этом пространственный порядок экспрессии подчиняется правилу коллинеарности: *Lox7* (*PG1*) начинает экспрессироваться антериорней *Lox6* (*PG4*), а тот в свою очередь антериорней *Lox20* (*PG5*) и т.д. (Nardelli-Haeffliger, Shankland, 1992; Kourakis et al., 1997). Сегменты тела пиявок формируются последовательно путем интенсивной пролиферации клеток в постериорной зоне роста (Weisblat, Huang, 2001). Спецификация сегментов зависит от времени их последовательного формирования, но, как ни странно, не зависит от экспрессии *Hox*-генов, которые начинают поздно экспрессироваться в брюшных ганглиях формирующейся ЦНС.

Полихеты – базальные Annelida. Большинство из них имеют в онтогенезе одну-две личиночные



**Рис. 3.** Колинеарная экспрессия *Hox*-генов у метатрохофоры *Nereis virens*. Ранняя регионализирующая экспрессия в теле личинки осуществляется семьёй *Hox*-генами, среди которых наиболее консервативные передние гены (*Hox1–5*), один срединный ген (*Lox5*; *PG6/8*) и один постериорный ген (*Post2*; *PG9/14*). Предковый кластер первично- и вторичноротых животных состоял из семи генов, принадлежащих к тем же группам.

Сегменты личинки: 0 – цефалический, 1–3 – хетоносные.

стадии и обладают выдающимися способностями к регенерации постларвального тела. В геноме *Nereis virens* (*Neantes* – согласно современной систематике) и *Platynereis dumerilii* содержится весь характерный для Lophotrochozoa набор *Hox*-генов: *Hox1* (*PG1*), *Hox2* (*PG2*), *Hox3* (*PG3*), *Hox4* (*PG4*), *Hox5* (*PG5*), *Lox5* (*PG6–8*), *Hox7* (*PG6–8*), *Lox4* (*PG6–8*), *Lox2* (*PG6–8*), *Post2* (*PG9+*) и *Post1* (*PG9+*) (de Rosa et al., 1999; Kulakova et al., 2002, 2007).

По нашим данным, при ларвальном развитии *N. virens* и *P. dumerilii* большая часть генов *Hox*-кластера экспрессируются в процессе метаморфоза сферической трохофоры в нектохету, тело которой состоит из несегментированной претрохальной головы, четырех сегментов (один из которых цефалический, а остальные – туловищные) и несегментированной терминали – пигидия. Экспрессия колинеарна переднезадней оси тела личинки и затрагивает сегментную эктодерму, нейромеры брюшного нервного ствола и пигидий, т.е. все производные первичного соматобласта 2d. В целом, ориентируясь на общую картину ларвальной экспрессии *Nvi/Pdu-Hox*-генов, мы можем классифицировать их на четыре функциональные группы. К первой относятся *Hox1*, *Hox4*, *Hox5*, *Lox5* и *Post2* – те гены, ранняя, не затухающая по ходу развития экспрессия которых выглядит колинеарной. Есть основания предполагать, что они задействованы в регионализации тела личинки. Передние границы экспрессии *Hox1*, *Hox4*, *Hox5* и *Lox5* последовательно приурочены к границам трех хетоносных сегментов и их нейромерам (рис. 3). Экспрессия *Post2* маркирует пигидий и пигидиальные цирры.

Ко второй группе можно отнести *Hox2* и *Hox3*, которые значительно раньше остальных *Hox*-генов активируются в потомках 2d. Их интенсивная экспрессия сопровождается топологическими преобразованиями клеточного пласта вегетативной пластинки, важные для установления дефинитивных осей в теле личинки. Позднее эти *Hox*-гены приобретают

паттерн экспрессии, сходный с упорядоченным осевым рисунком таковой генов первой группы. При этом передняя граница экспрессии *Hox2* лежит на уровне цефалического сегмента, т.е. anteriорнее, чем у *Hox1*, подтверждая общую для *PG2* особенность. Передняя граница экспрессии *Hox3* проходит на уровне первого хетоносного сегмента и совпадает с границей *Hox1*. Экспрессия *Hox2* и *Hox3* постепенно затухает и к концу метаморфоза ограничивается небольшой субтерминальной зоной, расположенной между последним ларвальным сегментом и пигидием. Эту зону традиционно рассматривают как источник клеточного материала для постларвального роста.

Гены третьей группы (*Hox7*, *Lox4* и *Lox2*) начинают экспрессироваться поздно, на стадии, когда нектохета готовится к постларвальному росту. Транскрипты всех трех генов также детектируются в субтерминальной зоне.

В последнюю группу вошел единственный ген *Post1*, который утратил *Hox*-функцию и специфицирует клетки хетоносных мешков. Это событие в эволюционной линии полихет произошло давно, поскольку у неродственной нереиды *Capitella* sp. ген *Post1* занят в сходных морфогенезах (Fröbius et al., 2008).

Онтогенетическая разница в характере экспрессии *Hox*-генов нереидных полихет слишком очевидна, чтобы не задаться вопросом: а нет ли здесь функциональных следов, которые связывают эволюцию *Hox*-кластера с эволюцией самих программ развития?

Согласно данным молекулярной филогении, у последнего общего предка Bilateria было как минимум семь *Hox*-генов: пять передних (*PG1–5*), один центральный (*PG6/8*) и один постериорный (*PG9+*) (de Rosa et al., 1999). Формирование сегментированной вторичной личинки у *N. virens* и *P. dumerilii* сопровождается экспрессией *Hox*-генов именно этих паралогических групп (рис. 3). Интересно, что по-



следние исследования *Hox*-генов у кишечнополостных (Hydrozoa, Cnidaria) указывают на то, что гены *PG2* и *PG3* возникли раньше, чем *PG1* (Quiquand et al., 2009). Если это действительно так, ранняя экспрессия нереидных генов *Hox2* и *Hox3* может быть отголоском их действительной древней функции.

Серединные гены активируются у *N. virens* позже остальных, в узкой субтерминальной зоне. К началу постларвального роста они вовлекаются в процесс паттернирования новых сегментов. Все *Hox*-гены транскрибируются у молодых червей в виде геноспецифичных разнонаправленных градиентов, но серединные гены *Hox7*, *Lox4* и *Lox2* (но не *Lox5*) не имеют постоянных границ экспрессии. По мере роста червя передние и задние границы их экспрессии постоянно смещаются, в то время как гены первой группы сохраняют либо передние, либо задние стационарные границы активности в ларвальных сегментах и пигидии.

Многие *Hox*-гены *N. virens* стремительно реорганизуют паттерн экспрессии при регенерации червя. Границы экспрессии этих генов быстро смещаются в новых пространственных координатах регенерата так, чтобы восстановились присущие норме пропорциональные отношения доменов их активности. Выяснилось, что позиционный сбой сглаживается менее чем за восемь часов и ближайший к месту отреза сегмент получает “*Hox*-код” самого постериорного сегмента, после чего из клеток регенерационной бластемы начинает формироваться новая терминальная структура (пигидий) и новая зона роста (неопубл. данные).

Интересно, что первичные (трохофорные) личинки изученных полихет не используют *Hox*-кластер для паттернирования тела. Похожая ситуация описана для *Hox*-кластера морского ежа, который активирует осевую транскрипцию только в момент метаморфоза личинки. По мнению Дэвидсона (Davidson, 2001), регуляторные программы развития первичных личинок Bilateria могли возникнуть еще в тот период, когда *Hox*-кластер состоял из небольшого числа генов и эти гены не занимались регионализацией, а участвовали в тканеспецифичных дифференцировках. Появление крупных, сложно организованных билатеральных животных стало возможно после структурной экспансии генов *Hox*-кластера и эволюции механизма их упорядоченной активации.

На примере нереидных полихет видно, что одно и то же животное в ходе своего развития может использовать разные программы: эмбриональную — для формирования первичной личинки, ларвальную — для построения вторичной сегментированной личинки и, наконец, постларвальную — для формирования дефинитивного полимерного тела. Огромное морфологическое разнообразие Lophotrochozoa — прямое следствие этого “трехступ-

пенчатого” онтогенеза, эволюционно пластичного на любой из ступеней. Следы структурной и функциональной эволюции генов *Hox*-кластера хорошо прослеживаются в морфогенетических программах многоклеточных животных и, чем шире спектр изучаемых объектов, тем вернее наше представление о путях эволюции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гилберт С.Ф. Биология развития. Т. 3. М.: Мир, 1995. 352 с
- Abzhanov A., Kaufman T. Novel regulation of the homeotic gene *Scr* associated with a crustacean leg-to-maxilliped appendage transformation // *Development*. 1999. V. 126. P. 1121–1128.
- Adamska M., Degnan S.M., Green K.M. et al. *Wnt* and *TGF-beta* expression in the sponge *Amphimedon queenslandica* and the origin of metazoan embryonic patterning // *PLoS ONE*. 2007. V. 2. P. 1031.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular biology of the cell. N.Y.: Garland Sci., 2008. 1392 p.
- Amores A., Suzuki T., Yan Y.L. et al. Developmental roles of pufferfish *Hox* clusters and genome evolution in ray-fish // *Genome Res*. 2004. V. 14. P. 1–10.
- Averof M., Patel N. Crustacean appendage evolution associated with changes in *Hox* gene expression // *Nature*. 1997. V. 388. P. 382–386.
- Bayascas J.R., Castillo E., Muñoz-Ma'rmol A.M., Saló E. Planarian *Hox* genes: novel patterns of expression during regeneration // *Development*. 1997. V. 124. P. 141–148.
- Belting H.G., Shashikant C.S., Ruddle F.H. Modification of expression and cis-regulation of *Hoxc8* in the evolution of diverged axial morphology // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 2355–2360.
- Burke A.C., Nelson C.E., Morgan B.A., Tabin C. *Hox* genes and the evolution of vertebrate axial morphology // *Development*. 1995. V. 121. P. 333–346.
- Carroll S.B., Weatherbee S.D., Langeland J.A. Homeotic genes and the regulation and evolution of insect wing number // *Nature*. 1995. V. 375. P. 58–61.
- Davidson E. H. Genomic regulatory systems // *Development and evolution*. N.Y.: Academic Press, 2001. 261 p.
- De Rosa R., Grenier J.K., Andreeva T. et al. *Hox* genes in brachiopods priapulids protostome evolution // *Nature*. 1999. V. 399. P. 772–776.
- Dehal P., Boore J. Two rounds of whole genome duplication in the ancestral vertebrate // *PLoS Biol*. 2005. V. 3. P. 1700–1708.
- Duboule D. The rise and fall of *Hox* gene clusters // *Development*. 2007. V. 134. P. 2549–2560.
- Edvardsen R.B., Seo H.S., Jensen M.F. et al. Remodelling of the homeobox gene complement in the tunicate *Oikopleura dioica* // *Curr. Biol*. 2000. V. 15. P. R12–13.
- Erwin D.H. Early origin of the bilaterian developmental toolkit // *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2009. V. 364. P. 2253–2261.
- Fröblius A.C., Matus D.Q., Seaver E.C. Genomic organization and expression demonstrate spatial and temporal

- Hox* gene colinearity in the Lophotrochozoan *Capitella* sp. I. // PLoS ONE. 2008. V. 3. P. 1–17.
- García-Bellido A. Genetic control of wing disc development in *Drosophila* // Cell Patt. Ciba Foundat. Symp. 1975. V. 29. P. 161–182
- Greer J., Puetz J., Thomas K.R., Capecchi M.R. Maintenance of functional equivalence during paralogous *Hox* gene evolution // Nature. 2000. V. 403. P. 661–665.
- Grenier J., Carroll S. Functional evolution of the Ultrabithorax protein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 704–709.
- Hanes S.D., Brent R. A genetic model for interaction of the homeodomain recognition helix with DNA // Science. 1991. V. 251. P. 426–30.
- Hinman V.F., O'Brien E.K., Richards G.S., Degnan B.M. Expression of anterior *Hox* genes during larval development of the gastropod *Haliotis asinine* // Evol. Devel. 2003, V. 5. P. 508–521.
- Ho M.C., Johnsen H., Goetz S.E. et al. Functional evolution of cis-regulatory modules at a homeotic gene in *Drosophila* // PloS Genet. 2009. V. 5. P. 1–16.
- Holland P.W.H., Takahashi T. The evolution of homeobox genes: Implications for the study of brain development // Brain Res. Bull. 2005. V. 66. P. 484–490.
- Imura T., Pourquie O. *Hox* genes in time and space during vertebrate body formation // Devel. Growth. Differ. 2007. V. 49. P. 265–275.
- Ikuta T., Yoshida N., Satoh N., Saiga H. *Ciona intestinalis* *Hox* gene cluster: Its dispersed structure residual colinear expression in development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 15118–15123.
- Irvine S.Q., Martindale M.Q. Expression patterns of anterior *Hox* genes in the polychaete *Chaetopterus*: correlation with morphological boundaries // Devel. Biol. 2000. V. 217. P. 333–351.
- King N., Westbrook M.J., Young S.L. et al. The genome of the choanoflagellate *Monosiga brevicollis* and the origin of metazoans // Nature. 2008. V. 451. P. 783–788.
- Kourakis M.J., Martindale M.Q. *Hox* gene duplication and deployment in the annelid leech *Helobdella* // Evol. Devel. 2001. V. 3. P. 145–53.
- Kourakis M.J., Master V.A., Lokhorst D.K. et al. Conserved anterior boundaries of *Hox* gene expression in the central nervous system of the leech *Helobdella* // Devel. Biol. 1997. V. 190. P. 284–300.
- Kulakova M.A., Kostyuchenko R.P., Andreeva T.F., Dondua A.K. The Abdominal-B-like gene expression during larval development of *Nereis virens* (Polychaeta) // Mech. Devel. 2002. V. 115. P. 177–179.
- Kulakova M., Bakalenko N., Novikova E. et al. *Hox* gene expression in larval development of the polychaetes *Nereis virens* and *Platynereis dumerilii* (Annelida, Lophotrochozoa) // Devel. Genes Evol. 2007. V. 217. P. 39–54.
- Kuracu S., Meyer A. The evolution and maintenance of *Hox* gene clusters in vertebrates and the teleost-specific genome duplication. // Int. J. Devel. Biol. 2009. V. 53. P. 765–773.
- Kusserow A., Pang K., Sturm C. et al. Unexpected complexity of the *Wnt* gene family in a sea anemone // Nature. 2005. V. 433. P. 156–160.
- Larroux C., Fahey B., Liubicich D. et al. Developmental expression of transcription factor genes in a demosponge: insights into the origins of metazoan multicellularity // Evol. Devel. 2006. V. 8. P. 150–173.
- Larroux C., Fahey B., Degnan S.M. The NK homeobox gene cluster predates the origin of *Hox* genes // Curr. Biol. 2007. V. 17. P. 706–710.
- Lee P.N., Callaerts P., De Couet H.G., Martindale M.Q. Cephalopod *Hox* genes and the origin of morphological novelties // Nature. 2003. V. 424. P. 1061–1065.
- Liubicich D.M., Serano J.M., Pavlopoulos A. et al. Knockdown of parhyale Ultrabithorax recapitulates evolutionary changes in crustacean appendage morphology // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 13892–13896.
- Malicki J., Schughart K., McGinnis W. Mouse *Hox-2.2* specifies thoracic segmental identity in *Drosophila* embryos and larvae // Cell. 1990. V. 63. P. 961–967.
- Martindale M.Q., Pang K., Finnerty J.R. Investigating the origins of triploblasty: “mesodermal” gene expression in a diploblastic animal, the sea anemone *Nematostella vectensis* (phylum, Cnidaria, class, Anthozoa) // Development. 2004. V. 131. P. 2463–2474.
- Nardelli-Haeffliger D., Shankland M. *Lox2*, a putative leech segment identity gene, is expressed in the same segmental domain in different stem cell lineages // Ibid. 1992. V. 116. P. 697–710.
- Negre B., Ruiz A. HOM-C evolution in *Drosophila*: Is there a need for *Hox* gene clustering // Trends Genet. 2007. V. 23. P. 55–59.
- Nogi T., Watanabe K. Position-specific and non-colinear expression of the planarian posterior (Abdominal-B-like) gene // Devel. Growth. Differ. 2001. V. 43. P. 117–184.
- Orii H., Kato K., Umesono Y. et al. The planarian *Hom/Hox* homeobox genes (*Plox*) expressed along the anteroposterior axis // Devel. Biol. 1999. V. 210. P. 456–468.
- Papageorgiou S. *Hox* gene expression. N.Y.: Springer, 2007. 149 p.
- Pavlopoulos A., Kontarakis Z., Liubicich D.M. et al. Probing the evolution of appendage specialization by *Hox* gene misexpression in an emerging model crustacean // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 13897–13902.
- Phelan M.L., Rambaldi I., Featherstone M.S. Cooperative Interactions between HOX and PBX proteins mediated by a conserved peptide motif // Mol. Cell. Biol. 1995. V. 15. P. 3989–3997.
- Quiquand M., Yanze N., Schmich J. et al. More constraint on *ParaHox* than *Hox* gene families in early metazoan evolution // Devel. Biol. 2009. V. 328. P. 173–187.
- Rauskolb C., Wieschaus E. Coordinate regulation of downstream genes by extradenticle and the homeotic selector proteins // EMBO J. 1994. V. 13. P. 3561–3569.
- Robertson L.K., Bowling D.B., Mahaffey J.P. et al. An interactive network of zinc-finger proteins contributes to regionalization of the *Drosophila* embryo and establishes the domains of HOM-C protein function // Development. 2004. V. 131. P. 2781–2789.
- Röder L., Vola C., Kerridge S. The role of the teashirt gene in trunk segmental identity in *Drosophila* // Ibid. 1992. V. 115. P. 1017–1033.

- Seo H.C., Edvardsen R.B., Maeland A.D. Hox cluster disintegration with persistent anteroposterior order of expression in *Oikopleura dioica* // Nature. 2004. V. 431. P. 67–71.
- Shen W., Rozenfeld S., Lawrence H.J., Largman C. The Abd-B-like Hox homeodomain proteins can be subdivided by the ability to form complexes with Pbx1a on a novel DNA target // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 8198–8206.
- Shippy T.D., Ronshaugen M., Cande J. Analysis of the *Tricholium* homeotic complex: Insights into mechanisms constraining insect Hox clusters // Devel. Genes Evol. 2008. V. 218. P. 127–139.
- Slack J. The zootype the phylotypic stage // Nature. 1993. V. 361. P. 490–492.
- Spitz F., Gonzalez F., Duboule D. A Global control region defines a chromosomal regulatory landscape containing the *HoxD* cluster // Cell. 2003. V. 113. P. 405–417.
- Srivastava M., Begovic E., Chapman J. et al. The *Trichoplax* genome and the nature of placozoans // Nature. 2008. V. 454. P. 955–960.
- Staubert M., Jäckle H., Schmidt-Ott U. The anterior determinant bicoid of *Drosophila* is a derived *Hox class 3* gene // Devel. Biol. 1999. V. 96. P. 3786–3789.
- Stern D. The gene *Ultrabithorax* modulates the shape and size of the third leg of *Drosophila* by influencing diverse mechanisms // Ibid. 2003. V. 256. P. 355–366.
- Tarchini B., Duboule D. Control of *Hoxd* genes' collinearity during early limb development // Devel. Cell. 2006. V. 10. P. 93–103.
- Tomoyasu Y., Arakane Y., Kramer K.J., Denell R.E. Repeated co-options of exoskeleton formation during wing-to-elytron evolution in beetles // Curr. Biol. 2009. V. 19. P. 2057–2065.
- Tschopp P., Tarchini B., Spitz F. et al. Uncoupling time and space in the collinear regulation of Hox genes // PLoS Genet. 2009. V. 5. P. 1–12.
- Tvrđik P., Capecchi M. Reversal of *Hox1* gene subfunctionalization in the mouse // Devel. Cell. 2006. V. 11. P. 239–250.
- Wada S., Tokuoka M., Shoguchi E. et al. A genomewide survey of developmentally relevant genes in *Ciona intestinalis*. II. Genes for homeobox transcription factors // Devel. Genes Evol. 2003. V. 213. P. 222–234.
- Weatherbee S.D., Nijhout H.F., Grunert L.W. Ultrabithorax function in butterfly wings and the evolution of insect wing patterns // Curr. Biol. 1999. V. 9. P. 109–115.
- Weisblat D., Huang F. An overview of glossiphoniid leech development // Can. J. Zool. 2000. V. 79. P. 218–232.
- Wolpert L., Beddington R., Brockes J. et al. Developmental biology comes of age: Principles of development. Oxford: Univ. Press, 1998. 542 p.
- Zhao J.J., Lazzarini R.A., Pick L. The mouse *Hox-1.3* gene is functionally equivalent to the *Drosophila* sex combs reduced gene // Genes Devel. 1993. V. 7. P. 343–354.

## Hox-Cluster and Evolution of Morphogeneses

N. M. Korchagina, N. I. Bakalenko, and M. A. Kulakova

St. Petersburg State University, Oranienbaumskoye sh. 2, Stariy Petergof, 199034 Russia

**Abstract**—Comparative studies of genomes of lower Metazoa showed that many classes of transcription factors important for the development of bilateral animals appeared before the divergence of modern branches of the animal kingdom. The genes of the *Hox*-cluster appeared late, in the last common ancestor of Cnidaria and Bilateria. Structural expansion and perfection of mechanisms which integrate the *Hox*-cluster can be traced in the morphogenesis of modern bilateral animals. It is now evident that different strategies of using this regulator instrument led Bilateria to absolute domination in number and diversity of species among all Metazoa animals.

**Key words:** morphogenesis, evolution of developmental programs, *Hox*-cluster, *Hox*-paradox, Urbilateria, Lophotrochozoa, Annelidae