

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
РУССКОЕ ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО**



**Чтения  
п а м я т и  
Николая Александровича  
Х о л о д к о в с к о г о**

**Вып. 56 (2)**



**А.И. Шаталкин**

**Регуляторные гены в развитии  
и проблема морфотипа  
в систематике насекомых**

**Санкт-Петербург  
2003**

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
РУССКОЕ ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО**

**Чтения  
п а м я т и  
Николая Александровича  
Х о л о д к о в с к о г о**

**Вып. 56 (2)**

**А. И. Шаталкин**

**Регуляторные гены в развитии  
и проблема морфотипа  
в систематике насекомых**

**Санкт-Петербург  
2003**

**Шаталкин А.И.** Регуляторные гены в развитии и проблема морфотипа в систематике насекомых. **Чтения памяти Н.А. Холодковского. Вып. 56 (2).** СПб., 2003. 109 с.

**Shatalkin A.I.** Regulatory genes in development and a morphotype problem in systematics of Insecta. **Meetings in memory of N.A. Cholodkovsky. Iss. 56 (2).** St-Petersburg, 2003. 109 p.

Редактор *С.Ю. Синёв*

Ответственный за издание *В.А. Кривохатский*

По постановлению Президиума Российской академии наук ежегодно в марте–апреле проводятся Чтения памяти выдающегося русского зоолога, почетного члена Русского энтомологического общества, профессора Николая Александровича Холодковского (1858–1921).

Настоящий выпуск содержит расширенное изложение доклада А.И. Шаталкина, состоявшегося 4 апреля 2003 г. на 56–х Чтениях. Работа является первой в отечественной литературе попыткой обобщения и оценки успехов, достигнутых за последние десятилетия в области биологии развития и геносистематики насекомых с точки зрения специалиста-морфолога. Она предназначена в первую очередь для широкого круга систематиков, испытывающих острую потребность в использовании новых признаков и в применении новых подходов при изучении проблем таксономии и филогении. Как сам доклад, так и представленная рукопись уже вызвали оживленную дискуссию, некоторые моменты которой отражены в предисловии. Небесспорным кажется, в частности, тезис автора о глубоком концептуальном кризисе традиционной систематики. Возможно, следует говорить не о ее кризисе, а о поступательном развитии, которое получает новый импульс благодаря последним крупным достижениям в области генетики.

ISSN 1606-8858

© Русское энтомологическое общество, 2003

© А.И. Шаталкин, 2003

## Предисловие

Анатолий Иванович Шаталкин – известный систематик-диптеролог, воспитанник Московского университета, ученик профессора Е.С. Смирнова. Многочисленные публикации А.И. Шаталкина в области практической систематики посвящены разным семействам двукрылых насекомых, в основном Acalyptata. Его кандидатская диссертация была посвящена семейству Syrphidae, при построении системы которого автор использовал математические методы. В 2002 г. вышла его книга «Определитель палеарктических мух семейства Lauxaniidae».

А.И. Шаталкин проявляет большой интерес к теоретическим проблемам систематики. В докторской диссертации «Таксоны и проблемы классификации в системе двукрылых насекомых», ставшей конкретным приложением его филогенетических взглядов к систематике, обоснован типологический подход к таксону.

Целый ряд публикаций А.И. Шаталкина, в том числе в «Журнале общей биологии», иллюстрируют разносторонность его научных интересов в области эволюционной биологии. В них разрабатываются проблемы вида, типологии, сходства, гомологии, теории систем, иерархии в биологических системах. Главный теоретический труд А.И. Шаталкина - книга «Биологическая систематика», вышедшая в 1988 г. в издательстве МГУ.

Предлагаемая новая работа А.И. Шаталкина находится в русле относительно нового направления эволюционной биологии, получившего аббревиатурное название «Evo-Devo» (Evolution-Development). По сути своей это новая отрасль науки, возникшая на стыке сразу нескольких дисциплин – генетики, биологии развития, эволюционного учения, морфологии и систематики (филогенетики). Основной предпосылкой к возникновению «Evo-Devo» стали впечатляющие успехи, которых добилась в последние годы генетика развития (феногенетика) вплотную подошедшая к пониманию того, как изменения в функциях и экспрессии генов воплощаются в морфологической форме и структурной организации («паттерне»). Систематик и морфолог А.И. Шатал-

кин основное внимание в своей работе сконцентрировал на оценке возможностей нового подхода для морфологии. Новизна работы заключается в том, что генетические аспекты в ней рассматриваются нетрадиционно, с точки зрения морфологии. Это, в частности, нашло выражение в классификации регуляторных генов, отличающейся от тех, которые мы привыкли видеть в генетических работах.

А.И. Шаталкин считает необходимой ревизию и самого понятия морфотипа, которое должно быть скорректировано с учетом молекулярных данных. В работе сделана попытка рассмотреть морфотип с генетической точки зрения, проследить молекулярные события, лежащие в основе морфогенеза. Генетический подход оказался необычайно продуктивным; он дает, как удалось показать автору, более глубокое понимание морфотипа. Такой подход, во-первых, позволяет выявить в морфотипе его динамическую составляющую. Во-вторых, он позволяет более отчетливо оценить пространственную организацию частей тела. В-третьих, между морфотипами выявились связи, о которых ранее мы и не подозревали. В-четвертых, единство морфотипа, как оказалось, может определяться на разных структурных уровнях (морфологическом, тканевом, клеточном и молекулярном). В-пятых, реконструкция филогенетических связей между регуляторными генами позволяет воссоздать картину становления морфотипа, начиная с групп, в которых элементы морфотипа еще не образуют единого целого. В-шестых, оказалось, что некоторые морфотипы являются композиционными, показывая сходство по какой-то одной своей генетической составляющей (например, крылья насекомых и птиц генетически сходны по их эктодермальной составляющей). В-седьмых, на генетическом уровне были выявлены связи между морфоструктурами внутри одного организма, например, между сложным глазом и крылом насекомого. Эти и многие другие, во многом непривычные, результаты еще предстоит осмыслить. Но уже сейчас очевидно, что необходима большая работа по коррекции таких ключевых понятий морфологии как гомология, гомономия, морфологический тип.

Появление молекулярных реконструкций придало новый импульс исследованиям в области систематики и филогенетики. Стала очевидной недостаточность только морфологических подходов в процедуре расшифровки филогенетических связей таксонов. В работе А.И. Шаталкина приведены лишь два примера радикального расхождения молекулярных и морфологических классификаций, однако таких примеров гораздо больше. Многие современные авторы уверены в том, что традиционные системы, построенные исключительно на данных сравнитель-

ной морфологии, часто ошибочны и должны быть ревизованы с привлечением молекулярных методов анализа. Такую позицию занимает и морфолог А.И. Шаталкин. Однако сами генетики не единодушны в оценке подобного подхода к морфологической систематике. Читатель может убедиться в этом, познакомившись с рецензиями на статью А.И. Шаталкина двух ведущих специалистов в области генетики развития В.Г. Митрофанова (ИБР РАН, Москва) и О.Л. Серова (ИЦИГ СО РАН, Новосибирск).

В заключение следует сказать, что в работе А.И. Шаталкина читатель найдет обзор литературы по обсуждаемым проблемам. Этот обзор не претендует на исчерпывающую полноту, поскольку число публикаций по данной тематике постоянно растет. Однако он позволяет составить представление о современном состоянии дел в области изучения роли регуляторных генов в развитии и об успехах и перспективах синтеза систематики и генетики для понимания процессов макроэволюции насекомых. Важно отметить, что на русском языке столь детально эти проблемы обсуждаются впервые.

*В.Г. Кузнецова*

Действительно, за последние 25-30 лет произошли существенные сдвиги в эволюционной биологии, связанные с возможностью оценки генетической изменчивости непосредственно на уровне ДНК. Современные методы молекулярной биологии позволяют достаточно быстро установить нуклеотидную последовательность любого кодирующего или некодирующего участка генома. Использование современных компьютерных программ позволяет на основании молекулярно-генетических данных установить филогенетические связи между организмами (построение филогенетических древ оказалось достаточно увлекательным занятием!).

Особенно впечатляют данные по изменчивости митохондриальной ДНК, структура которой в настоящее время широко используется для изучения филогении различных групп животных. Кроме того, изменчивость мтДНК считается нейтральной и лучше всего подходит для отсчета времени по молекулярным часам.

К сожалению, весь этот огромный материал по молекулярно-генетической изменчивости (мтДНК, микросателлитов и отдельных ядерных генов) пока еще не дал ответа на основной вопрос: какого рода и какой величины должна быть изменчивость, чтобы привести к видообразованию. Можем ли мы на основе измерения величины и

оценки характера изменчивости в популяциях сказать, что это приведет к видообразованию? Пока состояние наших знаний о структуре и функции генома не дает оснований для создания эволюционной теории, обладающей предсказующей силой, а без этого теория автоматически превращается в гипотезу.

Что касается «молекулярных реконструкций», то они ничего не поставили под сомнение, как утверждает А.И. Шаталкин. Просто каждый подход имеет свои допуски и ограничения, и сравнительная морфология также их имеет. Молекулярная генетика просто расширила наши возможности в познании механизмов онтогенеза и эволюции. Это совсем другой уровень познания.

А.И. Шаталкин обошелся минимальным списком литературы. К сожалению, при анализе генетических основ сегментации он совершенно не использует данные К. Нуслейн-Фольгарт и других авторов, которые получили Нобелевскую премию за успехи в этой области.

Генетику развития лучше всего привязывать к основным процессам развития: размножение клеток (клеточная пролиферация), детерминация и дифференцировка. Тогда легче воспринимается тот колоссальный по объему материал по фенотипической (регуляции активности гена), который сейчас накоплен молекулярными генетиками. А.И. Шаталкин обсуждает только небольшую его часть.

В обзоре содержится много интересных мыслей общего плана и приводится много оригинальных данных вперемежку с материалом, который, однако, самим автором, систематиком насекомых, но не генетиком, осмыслен недостаточно.

*В.Г. Митрофанов*

Настоящая работа представляет собой основательное концептуальное исследование в области систематики и эволюционной биологии. В ней рассмотрены последние достижения в молекулярной биологии и биологии развития с целью дать разумное объяснение наблюдаемому эволюционному морфотипическому разнообразию на примере насекомых. Во «Введении» автор убедительно показал как систематика, построенная исключительно на морфотипическом подходе, пришла в противоречие с данными молекулярной эволюции, что обострило давно назревший кризис в этой важнейшей области эволюционной биологии. Возникшая в последнее десятилетие сравнительная молекулярная гено-систематика предлагает провести радикальную ревизию традиционной систематики, что хорошо видно из недавно опубликованных филогенетических построений. Автор справедливо

определяет этот процесс как революционный, поскольку речь идет о создании новой систематики, со своим новым понятийным аппаратом и критериями.

В немалой степени формированию этого нового мировоззрения способствовали недавние успехи в области биологии развития. Хорошо известно, что долгое время не удавалось постичь интимные процессы генного контроля морфогенеза, что порождало парадоксальную ситуацию, когда исследования с использованием генетических и морфологических подходов развивались независимо, а не комплементарно, как требовала логика научного познания. К счастью, можно констатировать, что это пройденный этап. Именно идентификация «генов развития» и выяснение молекулярных механизмов их взаимодействия, позволили расшифровать наиболее важные события морфогенеза в развитии животных, такие как становление эмбриональных осей, процессов сегментации (метамерии), формирование придатков и т.д. В связи с этим предложение А.И. Шаталкина рассматривать формирование морфотипа с учетом генов и генных взаимодействий, контролирующих этот процесс, является высоко конструктивным. Логичным представляется утверждение автора что “на генетическом уровне мы можем проследить связи, которые на морфологическом уровне не очевидны”. Особо хочется отметить, что изложение довольно сложного материала о действии генов развития у разных животных сделано на высокопрофессиональном уровне, корректно освещены последние достижения в этой бурно развивающейся области биологии.

В целом не будет большим преувеличением сказать, что данное исследование есть концептуальная попытка сформировать новую парадигму современной и будущей систематики.

*О.Л. Серов*



*А.И. Шаталкин*

**Регуляторные гены в развитии и проблема  
морфотипа в систематике насекомых**

СОДЕРЖАНИЕ

Введение. Кардинальные сдвиги в эволюционной биологии .....	10
1. Гены и морфология .....	15
2. Регуляторные гены .....	17
2.1. Структура гена .....	17
2.2. Регуляторные факторы .....	22
3. Гены развития и проблема морфотипа .....	34
4. Генетическое определение плана строения насекомых .....	36
4.1. Осевые отношения .....	37
4.2. Сегментация .....	43
5. Структура сегментации у насекомых .....	61
5.1. Протоцефалон и туловищные сегменты .....	61
5.2. Структура головных сегментов .....	63
6. Развитие ног и крыльев у насекомых .....	67
6.1. Развитие ног у насекомых .....	67
6.2. Развитие крыльев у насекомых .....	75
6.3. Проблема гомологии с учетом молекулярного уровня ....	79
7. Морфотип: новые составляющие .....	83
Заключение .....	92
Summary .....	93
Литература .....	98

*A.I. Shatalkin*

**Regulatory genes in development and a morphotype  
problem in systematics of Insecta**

CONTENTS

Introduction. Cardinal shifts in evolutionary biology .....	10
1. Genes and morphology .....	15
2. Regulatory genes .....	17
2.1. Gene structure .....	17
2.2. Regulatory factors .....	22
3. Genes in development and a morphotype problem .....	34
4. Genetic definition of insect body plan .....	36
4.1. Axial patterning .....	37
4.2. Segmentation .....	43
5. Segment organization in Insecta .....	61
5.1. Protocephalon and trunk segments .....	61
5.2. Head segments .....	63
6. Leg and wing development in Insecta .....	67
6.1. Leg development in Insecta .....	67
6.2. Wing development in Insecta .....	75
6.3. Homology problem and molecular level of analysis .....	79
7. Morphotype: New dimensions .....	83
Conclusion. ....	92
Summary .....	93
References .....	98

## ВВЕДЕНИЕ

### Кардинальные сдвиги в эволюционной биологии

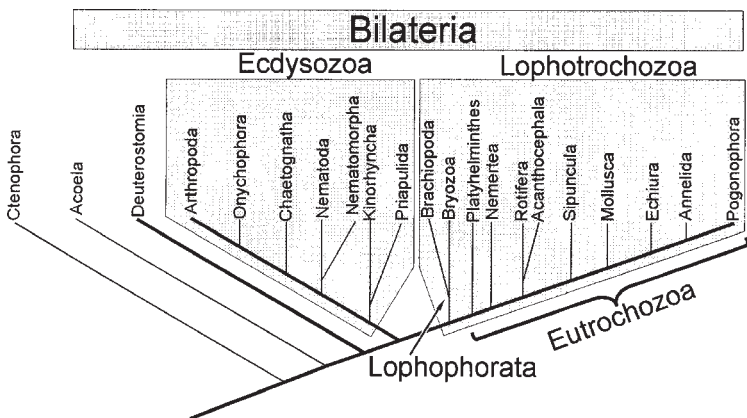
Последние десять лет минувшего столетия ознаменовались радикальными, можно сказать революционными изменениями в эволюционной биологии, затронувшими и непосредственно систематику. В основе этих сдвигов оказались масштабные успехи в двух областях: биологии развития и молекулярной систематике (геносистематике). Успехи первой связаны с раскрытием генетической составляющей морфопротекста, позволившей, по выражению Рэффа (Raff, 1996), увязать в единой модели гены, онтогению и эволюцию. Молекулярные филогении радикально изменили наше представление об основных этапах эволюции организмов. Приведу лишь два примера.

В системе беспозвоночных животных (Беклемишев, 1964) членистоногие и кольчатые черви по признаку сегментированного строения тела традиционно объединялись в группу членистых (Articulata). Нильсен (Nielsen, 1995) расширил объем Articulata, включив в эту группу моллюсков, предковые формы которых также были метамерными и предположительно имели по меньшей мере восемь сегментов. Согласно молекулярным данным (Zrzavá et al., 1998, 2001; Adoutte, 1999; Giribet & Wheeler, 1999), членистоногие объединяются с круглыми червями (Nematoda) и волосатиками (Nematomorpha). Эта группа, в которую входят также приапулиды (Priapulida), киноринхи (Kinorhyncha) и, возможно, Loricifera, была названа Ecdysozoa (рис. 1). Из названия явствует, что Ecdysozoa объединяет формы, рост и развитие которых связаны с линькой.

Жизнь многих морских беспозвоночных зависит от работы эктодермальных мукоресничных локомоторных систем. Эти системы слагаются из двух компонентов: желез, выделяющих слизистые вещества, и ресничного аппарата. Мукоресничные системы используются для перемещения частиц вдоль эпителия при ползании, приеме пищи или очищении покровов. При перемещении в илистых осадках определенной плотности или в самом грунте мукоресничные системы малоэффективны. В этих условиях выработались другие механизмы движения, связанные с использованием кутикулярных якорных аппаратов в виде системы шипиков, гребней, чешуек,

кольцевых утолщений и разного рода морщинок и складок на теле. Первые беспозвоночные с кутикулярными покровами могли быть лишь мелкими формами. Увеличение размеров тела потребовало выработки периодической линьки в качестве механизма, обеспечивающего соответствие кутикулярного покрова размерам организма в процессе его роста. Отметим также, что поскольку линяющие животные периодически меняют свои покровы, они ограничены в использовании мукоресничных систем и должны были их потерять на самых ранних этапах становления Ecdysozoa. Линька, возможно, сделала ненужным и образование туловищных целомических мешков (Valentine & Collins, 2000).

Что касается метамерного строения, положенного в основу определения Articulata, то оно у аннелид и членистоногих существенно различается. У аннелид сегменты имеют мезодермальное происхождение и возникают в сериальной последовательности, сопровождаемой митотическими циклами (Minelli & Bortoletto, 1988). Напротив, у членистоногих сегменты являются эктодермальными единицами, возникающими через систему генетически определяемых маркеров независимо от митотических циклов. Видимо, эти соображения позволили во втором издании известного зарубежного руководства по беспозвоночным (Barnes et al., 1993) постулировать естественность группы Ecdysozoa.



**Рис. 1.** Кладистические связи основных групп Bilateria по данным молекулярных реконструкций (по Ruiz-Trillo et al., 1999 и Valentine & Collins, 2000).

**Fig. 1.** Cladistic relationships of major taxa of Bilateria based on molecular reconstructions (adapted from Ruiz-Trillo et al., 1999 and Valentine & Collins, 2000).

Плоские черви, немуртины, аннелиды, моллюски и лофофораты образуют монофилетическую группу, названную Lophotrochozoa (рис. 1). Это новое объединение не менее интересно, чем Ecdysozoa, и прежде всего по положению плоских червей и лофофорат. Первые, возможно, не являются монофилетической группой. Есть указания (Ruiz-Trillo et al., 1999) на то, что бескишечные турбеллярии представляют самую раннюю девиацию билатеральных животных (рис. 1).

Если считать молекулярную классификацию, очерченную выше, приоритетной, то встает вопрос: в чем же ошибки морфологического подхода? Одно заключение очевидно. Выделяя в рамках типологического анализа морфологический ряд, зоологи не всегда задумывались над вопросом, представляет ли он действительную филогению или является комбинацией (суммой) нескольких филетических линий, сведенных ошибочно в одну. Именно молекулярные реконструкции высветили эту проблему.

Чтобы понять, о чем идет речь, сравним традиционную и новую классификации, соединив их в одной схеме (рис. 2). Если верны молекулярные реконструкции, то в старых сравнительно-морфологических схемах имело место объединение двух филетических линий в одну (линия ниже дерева). Соответственно, группы Aschelminthes (в качестве промежуточного звена между плоскими червями и целомическими животными) и Articulata представляют собой искусственные объединения.

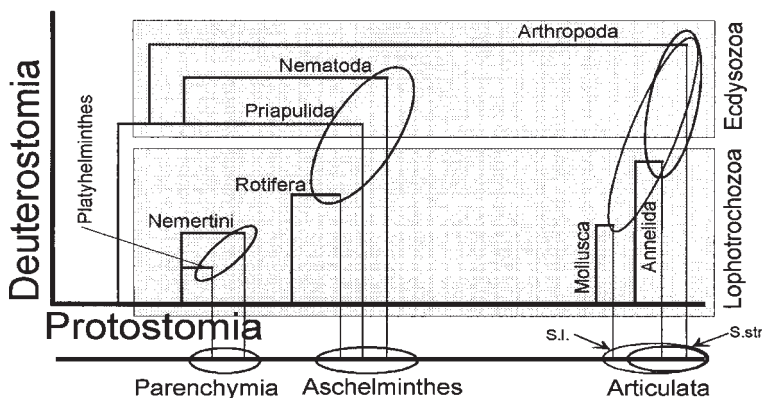


Рис. 2. Соотношение между традиционной (внизу) и молекулярной (справа) классификациями первичноротых.

Fig. 2. The relationship between traditional (below) and molecular (right) classifications of Protostomia.

Даже в такой, казалось бы, хорошо обоснованной классификации, какой являлась система членистоногих, молекулярные данные дали много нового. Удалось показать нежизненность ряда ранее обсуждавшихся схем, в частности деления членистоногих на Schizoramia (хелицеровые и ракообразные) и Uniramia (многоножки, насекомые и в ряде случаев онихофоры). Наибольшее смущение у зоологов вызвала «молекулярная» группа, объединяющая насекомых и ракообразных и названная Pancrustacea (Zrzavý & Stys, 1997). Ранее морфологи даже не обсуждали такой вариант связей, поскольку были твердо убеждены в близости насекомых к многоножкам, объединяя обе группы в таксон Atelocerata. Этот последний рассматривался в качестве сестринского к ракообразным в рамках Mandibulata. Конечно, пока нельзя безоговорочно принять Pancrustacea в качестве окончательного таксономического решения (Edgecombe et al., 2000), но в его пользу накапливается все больше новых свидетельств (Boore et al., 1998; Giribet & Rivera, 2000; Shultz & Regier, 2000; Giribet et al., 2001; Hwang et al., 2001). Более того, в ряде молекулярных реконструкций показана парафилия ракообразных относительно насекомых. В частности, сестринской группой насекомых в этих реконструкциях являются лишь представители Malacostraca, и это при том, что тагмозис у них совершенно различен. Однако общее число сегментов у тех и у других одинаковое и составляет 20 единиц.

Из рассмотренных примеров следуют два принципиально важных вывода.

1. Молекулярные реконструкции поставили под сомнение практику типологических экстраполяций, в надежности которых до этого мало кто сомневался. Типология (в ее эволюционной интерпретации) исходила из того, что сложные морфологические структуры отражают огромное число конструктивных, онтогенетических и функциональных связей, а потому в эволюционном плане уникальны и менее всего подвержены параллельным изменениям. Следуя такому положению, в морфологических рядах, описывающих возможную последовательность преобразований сложных структур, видели своего рода эволюционный слепок, наиболее близко отвечающий филогенетическому ряду. Этой вере в единство и устойчивость выстраиваемых типологами морфологических рядов молекулярными реконструкциями был положен конец.

В целом становится все более очевидным, что типология как поиск регулярностей в структуре биологического разнообразия во многом исчерпала свои возможности на доступной ей морфологической базе. Исторически, основные свои усилия она направляла на

поиск и вычленение «главных» групп, которым она противопоставляла второстепенные, не укладывающиеся в общую канву зависимостей. Так, деление на первичноротых и вторичноротых является, конечно, типологическим упрощением. В свое время, однако, оно было важным научным достижением, и в систематике эти два типа (чистые формы: Valentine, 1997) надолго стали предметом особого внимания. Отношение же к уклоняющимся вариантам было, как к явлению второстепенному. Понятна причина этого: **в морфологическом плане аберрантные группы были неинформативны, так что их положение в рамках найденных типологических закономерностей оставалось неопределенным.**

Благодаря «молекулам» систематика оказалась способной оценить все многообразие форм, включая и типологически «темные». Иными словами, **в плане сопоставления молекул аберрантные формы также информативны, не отличаясь по этому признаку от «главных» форм (типов), выделяемых типологией.** Отсюда и поразительные успехи молекулярных реконструкций и разительное несовпадение молекулярных и традиционных классификаций. Последние, как мы видели, именно в силу отмеченной смещенности в оценке типов и аберраций не могли не давать в той или иной мере искаженные результаты.

Молекулярная систематика заявила о себе в условиях глубочайшего концептуального кризиса традиционных направлений. В мега-систематике внешним проявлением этого кризиса стал быстро нараставший поток альтернативных классификаций, предлагавшихся для описания системы животного мира. Быстрый рост наших знаний об организмах, по существу, лишь стимулировал исследователей на поиск все новых и новых вариантов «системы». Классификационная деятельность превратилась в чисто искусственное занятие. Выход молекулярной филогенетики на передовые рубежи научного поиска и восприятие ее результатов в качестве приоритетных следует расценивать как выход из кризиса самой систематики.

2. Если выделявшиеся в рамках традиционного подхода морфотипы не отражают существование реальных групп, то нам необходимо новое понимание морфотипа, которое бы учитывало данные молекулярных приближений. Основания, если не для пересмотра, то для коррекции этого понятия, теперь имеются. Вторая составляющая переживаемой нами революции в эволюционной биологии, о которой мы говорили вначале, как раз и связана с успехами генетики развития, впервые подошедшей к генетической расшифровке морфотипа. Этот аспект будет главным предметом нашего рассмотрения.

## 1. Гены и морфология

О том, что гены определяют морфологическую организацию животных, знали, но до недавнего времени не имели сколько-нибудь внятного объяснения тому, как это происходит конкретно. Генетика и морфология развивались независимо, и этот разрыв между генетическим и морфологическим подходами в изучении признаков начал преодолеваться лишь в последние годы. К настоящему времени получен огромный массив свежих и интересных данных, которые дают возможность по-новому взглянуть на проблему морфотипа. Во-первых, интересно выяснить, каким образом морфотип строится на генетическом уровне: какие гены участвуют, как они взаимодействуют и на каком этапе. Уяснив это, мы можем рассмотреть генетические комплексы (каскады) в сравнительном плане. Этот последний аспект является главной, стержневой частью нового подхода в эволюционной биологии. Прежде мы строили морфотип, исходя из морфоструктуры в ее конечном выражении у взрослых форм. В частности, выявлялись устойчиво сохраняющиеся элементы строения, и к ним привязывалась вербальная характеристика. Полученные описания и были тем исходным материалом (признаками), с которыми имел дело морфолог и систематик.

Такой чисто морфологический аспект изучения формы сохранил свое значение, но добавился новый, генетический уровень изучения, который теперь будет ведущим, и именно он будет определять содержание понятия морфотипа. Соответственно появятся новые составляющие морфотипа, описывающие связи, о которых раньше мы и не подозревали. В качестве примера можно привести параллели между такими далеко отстоящими организмами, как растение и животное. На морфологическом уровне усмотреть между ними какие-либо явные связи невозможно.

Мухи и цветковые растения используют гены *Polycomb*-класса, которые взаимодействуют в первом случае (ген *Polycomb*) с *Hox*-, во втором (ген *Curly leaf*) – с *MADs*-генами. Оба комплекса включают гомеозисные гены, которые, однако, не являются родственными. У насекомых они определяют специфику сегментов, а у растений – специфику элементов цветка. У мух *Polycomb*-гены вызывают репрессию гена *Ultrabithorax*, детерминирующего в основном сегменты преабдомена, а у растений – репрессию гена *agamous*, определяющего пестик, а совместно с другими *MADs*-генами – и тычинки. Здесь важно



обратить внимание на связку генов двух разных классов, из которых регулируемые гены участвуют в спецификации повторяющихся элементов строения. Эта функциональная связка, возникшая на очень ранних этапах эволюции эукариот, сохранилась при становлении новых типов организации (Meyerowitz, 2002).

Вот еще один, более близкий зоологу пример. В развитии животной (=метазойной) организации большое значение имел так называемый *Paired(Prd)*-класс генов. Эти гены, видимо, играли ключевую роль в становлении «головы» животного, а конкретно – в специализации тела, связанной с апикальной концентрацией нервных клеток. Известными гомологами *Paired*-подобных генов являются *orthodenticle* и *gooseoid*. Еще одна подгруппа *Prd*-класса, так называемое *Pax*-семейство генов, играет большую роль в развитии билатеральных животных, специфицируя клетки центральной нервной системы. Гомолог *Pax*-генов был найден и у губок. В итоге выстраивается следующий сценарий становления животной организации (Galliot & Miller, 2000). Первый шаг был связан с нейрогенезом, исходно контролируемым *Pax*-генами (губки). Через другие *Paired*-гены началась апикальная специализация (кишечнополостные), которая у билатеральных животных была дополнена формированием передне-задней оси в результате *Hox*-зависимой компарментализации тела. Интересно, однако, другое. *Prd*-класс является сестринским по отношению к *Antennapedia(Antp)*-классу, включающему *MetaHox/Hox/ParaHox*-гены (подробнее смотри: Шаталкин, 2002). Как показывает сравнительный анализ, гены обоих классов, возможно, производны от гена *Wariai*, определяющего апикализацию «многоклеточной» стадии развития у слизевика *Dictyostelium* (Han & Firtel, 1998; Galliot & Miller, 2000). Это означает, что на генетическом уровне мы можем проследить связи, которые на морфологическом уровне не очевидны.

Итак, наша основная задача – суммировать материалы по генетической составляющей морфотипа. Систематика, как явствует из последних публикаций, выходит на новый уровень обобщений, связанный с анализом более глубоких признаков, в сравнении с теми, с которыми она до этого имела дело. Этот новый уровень потребует нового понятийного аппарата, существенной коррекции традиционных представлений о морфотипе, гомологии и других понятиях эволюционной биологии.

Начнем с обзора некоторых чисто генетических вопросов, касающихся самого понятия гена, его структуры, типов кодируемых им белков и функциональных особенностей последних. В изложении мате-

риала этого раздела мы полагаемся на ряд последних руководств по генетике (Инге-Вечтомов, 1989; Arthur, 1997; Gerhart & Kirschner, 1997; Wolpert et al., 1998; Корочкин, 1999; Кольман и Рем, 2000; Cooper, 2000).

## 2. Регуляторные гены

### 2.1. Структура гена

Под регуляторными понимают такие гены, продукты которых определяют или каким-то образом регулируют экспрессию других генов. Среди регулируемых выделяют большую категорию генов, основная функция которых заключается в том, чтобы поддерживать в рабочем режиме «клеточное хозяйство» (housekeeping genes – гены для цитохромов, гликолитических ферментов и т.д.). Эти гены важны для исполнения повседневных метаболических функций, и поэтому их можно назвать метаболическими. Метаболические гены активны практически во всех типах клеток. Более узкая категория регулируемых генов связана с тканями и разного рода специализированными клетками. Примером может служить тканеспецифичный ген, кодирующий инсулин. Еще одну важную группу составляют гены, определяющие цитоскелет. Метаболические, тканеспецифичные и другие категории терминальных генов-мишеней (terminal target genes) находятся под контролем разных каскадов регуляторных генов. Здесь и далее мы будем рассматривать регуляторные гены, играющие роль в развитии организма.

Чтобы понять специфику регуляторных генов, нам следует начать с общего описания структуры эукариотического гена. В современной генетике под геном понимают отрезок ДНК, кодирующий определенный белок. Синтез белка осуществляется двумя последовательными процессами. На стадии транскрипции информация, зашифрованная в ДНК, переносится на мРНК. На следующем этапе, называемом трансляцией, по информации, считываемой с мРНК, строится молекула белка. Нас в первую очередь будет интересовать транскрипция, поскольку именно на этой стадии проявляются функциональные свойства генов. Транскрипция есть синтез молекулы мРНК на матрице ДНК, отвечающей гену или комплексу близких генов, образующих оперон. В качестве матрицы используется одна из цепочек ДНК, причем считывание идет в направлении от 3'- к 5'-концу. Получающаяся мРНК будет соответствовать другой цепочке ДНК, имеющей обратную упорядоченность от 5'- к 3'-концу. Катализирует полимеризацию мРНК фермент, называемый РНК-полимеразой II.

Гены эукариот включают две структурные области: кодирующую, с которой считывается информация в процессе синтеза мРНК, и регуляторную, которая запускает и контролирует работу РНК-полимеразы II, а через нее и синтез мРНК. Регуляторная область отличается у эукариот большой сложностью (Arnosti, 2002). Она включает три типа последовательностей ДНК (рис. 3): (1) промоторы, связывающие РНК-полимеразу II, (2) энхансеры, регулирующие скорость транскрипции, и (3) инсуляторы, отделяющие регуляторные элементы одного гена от промоторов других генов (смотри далее). Промотор является верховым (upstream) элементом гена и расположен выше (спереди, со стороны 5'-конца) кодирующей области. Он содержит небольшой участок инициации транскрипции (стартовую позицию), выше которой лежит особая область связывания РНК-полимеразы II с характерной для него устойчивой последовательностью из 12 оснований с чередованием нуклеотидов тимидина и аденозина (в последовательности ТАТАА...), называемой ТАТА-боксом. Кроме того, у эукариот в промоторе выявлена тетрамерная последовательность G(AT)CG, лежащая ниже области инициации и способная функционально замещать ТАТА-бокс. Заметим, что не все эукариотические промоторы содержат эти две регуляторные области. Так, у *Drosophila* в более чем половине случаев присутствует лишь одна из них, а в 31% случаев – ни одной (Arnosti, 2002, 2003).

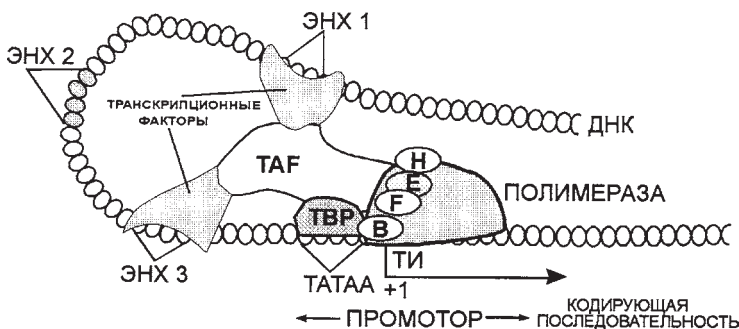
Под энхансерами сначала понимали последовательности ДНК, усиливающие экспрессию связанного с ними гена. Сейчас под энхансерами понимают любой дискретный элемент последовательности ДНК, который связывает транскрипционный фактор и действует (положительно или отрицательно) на транскрипцию (Arnosti, 2003). Энхансеры, таким образом, взаимодействуют с регуляторными белками (транскрипционными факторами), изменяя уровни транскрипции гена. Пробелвызывающие (gap) гены (*Kruppel*, *giant*, *hunchback*), контролирующие сегментацию у дрозофилы, кодируют репрессоры, которые подавляют работу энхансеров. До недавнего времени энхансеры считались принадлежностью только эукариот. Сейчас они найдены и у прокариот.

Из рис. 3 видно, что энхансеры могут располагаться на значительном удалении от промотора и кодирующей последовательности. В большинстве случаев энхансеры являются верховыми элементами, т.е. расположены перед промотором. В некоторых генах они представлены низовыми элементами и иногда располагаются в интронах кодирующей области.

Инсуляторы (West et al., 2002) представляют собой область в несколько сот оснований. Они найдены у дрожофилы и у позвоночных животных.

Как работает транскрипционный аппарат? У прокариот в транскрипции участвует единственная РНК-полимераза, состоящая из трех субъединиц  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  и так называемого  $\sigma$ -фактора. Роль последнего заключается в том, что он должен опознать промотор необходимого гена и связать его с РНК-полимеразой. РНК-полимераза связывается с промотором напрямую.

У эукариот транскрипционный аппарат намного сложнее и включает три ядерные РНК-полимеразы (I, II и III), транскрибирующие различные классы генов. Ядрышко является фабрикой сборки рибосомных РНК. Оно размещено около хромосомной области, содержащей гены для 5S, 18S и 28S рибосомных РНК. Эти РНК синтезируются с помощью РНК-полимеразы I. 5SpРНК и тРНК транскрибируются вне ядрышка с помощью РНК-полимеразы III. РНК-полимераза II, структурно наиболее близкая к бактериальной полимеразе, синтезирует мРНК. Далее мы будем говорить в основном о РНК-полимеразе II.



**Рис. 3.** Структура работающего гена (по Соопер, 2000, с изменениями).

*т.и.* – участок инициации транскрипции; *энх* – энхансер; *ТБП* – ТАТА-связывающий белок; *ТАФ* – ТБП-ассоциированные факторы; *В, Е, F, Н* – общие транскрипционные факторы группы *TFII*.

**Fig. 3.** Structure of working gene (adapted from Cooper, 2000).

*т.и.* – transcriptional initiation site; *энх* – enhancer; *ТБП* – TATA-binding protein; *ТАФ* – TBP-associated factors; *В, Е, F, Н* – general transcriptional factors of *TFII*-group.

У эукариот доступ к промотору блокируется нуклеосомами, поэтому они выработали несколько механизмов регуляции транскрипции. Один из них связан с ацетилированием, метилированием и фосфорилированием торчащих из нуклеосомы N-терминальных хвостов гистонов H3 и H4. Например, высокая степень ацетилирования лизина сопряжена с экспрессией генов, тогда как деацетилирование подавляет работу генов. Здесь существенно то, что наследуемые (но обратимые) изменения в рабочем состоянии гена (будет ли он молчащим или экспрессирующим) могут происходить без модификации последовательности ДНК (менделевских генов), но лишь в результате трансформации гистонов (Jenuwein & Allis, 2001).

Другой уровень регуляции транскрипции связан с воздействием на регуляторную область гена особых белков, влияющих на транскрипцию и называемых поэтому транскрипционными факторами. Транскрипционные факторы подразделяют на общие и специфические (рис. 3). Из первых упомянем ТАТА-связывающий белок (ТСБ, или ТВР по-английски), который помогает заякориться РНК-полимеразе II. ТСБ функционально активен лишь в качестве элемента большого белкового комплекса TFIID, который включает еще 10 белков, называемых ТСБ-ассоциированными факторами (ТАФ, или TAF). Эти факторы контактируют с РНК-полимеразой и областью инициации; кроме того, TAFII40 и TAFII60 должны опознать второй регуляторный участок G(AT)CG. Наконец, активность РНК-полимеразы поддерживается еще несколькими белками TFIИ, обозначаемыми буквами В, F, E и H. Цифра II означает, что транскрипционные факторы сопряжены с РНК-полимеразой II.

Специфические транскрипционные факторы регулируют транскрипцию через энхансеры. Поскольку энхансеры могут располагаться на большом удалении от промоторов, то соединение соответствующих транскрипционных белков, сающихся на энхансер, с РНК-полимеразой II осуществляется за счет образования петли участка ДНК между промотором и энхансером (рис. 3). Различные группы организмов различаются по специфическим транскрипционным факторам. Поэтому дальше в тексте мы будем говорить лишь о них.

Отметим одну характерную особенность общей структуры генома эукариот. В структуре гена, наряду с регуляторной и кодирующей областями, существуют большие фрагменты ДНК, которые не связаны с кодированием белков. Не транскрибируются, в частности, повторяющиеся последовательности, представленные (1) единичными

копиями, (2) умеренным числом копий (для генов гистонов и иммуноглобулинов) и (3) многочисленными повторами (сотни и тысячи на геном), как это имеет место в случае сателлитной ДНК. У человека до 30% ДНК приходится как раз на повторяющиеся последовательности (Madigan et al., 2000). Некоторые повторы сгруппированы, тогда как другие разбросаны по всему геному. К числу последних относятся, например, Alu-последовательности, которые хотя и транскрибируются, но образующиеся транскрипты не участвуют в синтезе белка и их функция малоизвестна.

У эукариот кодирующие участки гена (экзоны) перемежаются с некодирующими последовательностями ДНК (интронами). В силу этого транскрипция у эукариот дополняется еще одной операцией, сплайсингом. Назначение сплайсинга состоит в удалении интронов из полученного в процессе транскрипции так называемого предшественника мРНК (pre-mRNA), или гетерогенной ядерной РНК (hnRNA). Только после сплайсинга и ряда других изменений из этого предшественника образуется мРНК.

В заключение несколько слов об оперонной организации генома. У прокариот метаболические гены с сопряженными функциями часто собраны вместе внутри ДНК в отрезок, получивший название оперона. Они отличаются от обычных генов тем, что управляются единственным промотором и транскрибируются как единственная мРНК, называемая в этом случае полицистронной. Так, 4000 генов у *Escherichia coli* организованы примерно в 700 оперонов. Оперонная структура генома важна для метаболической адаптации организмов в новой экологической нише. Кодирующие области оперона часто называют структурными генами. Надо только помнить, что структурный ген – это усеченный ген, понимаемый в объеме кодирующего участка, без регуляторной области. Последняя же для всех структурных генов, входящих в оперон, одна. Эукариотическая мРНК, будучи транскриптом лишь одного гена, называется моноцистронной.

До недавнего времени опероны рассматривали в качестве характерной особенности прокариот. Оказалось, что и эукариотические гены могут быть организованы в опероны. Они, в частности, обнаружены у трипаносом, нематод, мух, млекопитающих и растений (Nimmo & Woollard, 2002). У нематоды *Caenorhabditis elegans* опероны могут содержать до восьми генов. Полицистронным при этом является предшественник мРНК, который после сплайсинга обычно распадается на самостоятельные мРНК.

## 2.2. Регуляторные факторы

Регуляторные гены действуют на другие гены через кодируемые ими белки. Имея в виду и другие активные молекулы с регуляторными функциями, выполняемыми на уровне генетического аппарата, говорят о регуляторных факторах. Различают несколько классов регуляторных факторов.

1. Транскрипционные факторы, выполняющие регуляторные функции на уровне гена (транскрипции). Они связываются с определенным участком регуляторной области гена и регулируют работу РНК-полимеразы II, запуская либо останавливая транскрипцию, а в ряде случаев и изменяя ее скорость.

2. РНК-связывающие факторы, выполняющие регуляторные функции на уровне трансляции. Они связываются с мРНК и запускают трансляцию, изменяя ее основные характеристики вплоть до остановки самого процесса. Например, регуляторный белок Nanos препятствует трансляции мРНК гена *hunchback*. Белок Caudal является транскрипционным активатором задних пробелывызывающих генов *knirps* и *giant*. Активность этого белка может подавляться также на уровне трансляции геном *bicoid*. Белок Staufен необходим для активации трансляции мРНК *bicoid* и *oskar*, играющих важную роль в поляризации ооцита *Drosophila* вдоль передне-задней оси.

3. Большая группа регуляторных факторов представлена сигнальными белками. Они влияют на транскрипцию через сигнальную цепь, начинающуюся с рецептора, активируемого сигнальным белком, и заканчивающуюся транскрипционным фактором, действующим на те или иные гены. Вещество, показывающее функциональное сродство с рецептором, активирующее рецептор и тем самым запускающее в сигнальную систему сигнал, называется лигандом. Сигнальная цепь может иметь много промежуточных звеньев, белков или белковых комплексов, в синтезе которых также участвуют какие-то гены. Фосфорилирование и дефосфорилирование рецепторных белков является основным механизмом передачи сигналов в клетку.

Ниже мы опишем и дадим примеры транскрипционных факторов и сигнальных белков.

**Транскрипционные факторы.** Транскрипционные белки включают две ключевые последовательности, одна из которых специфически связывается с регуляторной областью гена (энхансером), а другая взаимодействует с общими транскрипционными факторами, активируя или, наоборот, приостанавливая транскрипцию (рис. 3). По структуре ДНК-связывающих последовательностей (доменов) выделяют

несколько классов транскрипционных факторов. Но прежде чем говорить о доменах, кратко охарактеризуем основные структуры, в которые воплощается пространственная организация белка. Линейная последовательность аминокислот составляет главную (первичную) структуру белка. Главной ее считают по той причине, что от нее во многом зависит пространственная конфигурация (вторичная структура) белка. Одной из наиболее распространенных вторичных структур является  $\alpha$ -спираль, представляющая собой ленту (полипептидная цепь), как бы намотанную с определенным сдвигом последовательных витков на цилиндр и зафиксированную в таком состоянии после того, как цилиндр вынут. Устойчивость спирали в белке поддерживается за счет водородных связей между соседними витками. Другим распространенным типом вторичной структуры являются так называемые  $\beta$ -листы (полосы), в которых полипептидная лента складывается в виде змеевика.

Как  $\alpha$ -спирали, так и  $\beta$ -листы часто организованы в глобулярные (компактные) структуры, которые называют доменами. Домен является элементом третичной организации белка. Небольшие белки, например, миоглобин, содержат всего один домен. Но есть много белков, содержащих несколько доменов, которые, в свою очередь, также пространственно организованы, составляя четвертичную структуру белка. По структуре различают следующие типы доменов.

1. Цинковые пальцы (рис. 4 А). Характерная особенность связывающего домена – наличие  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -листов, связанных атомами цинка.  $\beta$ -листы при этом сильно изгибаются, образуя  $\beta$ -петли («пальцы»), несущие связывающие атомы цинка. Отрезок из 21-26 аминокислот, связанных с атомами цинка, включает ряд консервативных последовательностей, так называемые мотивы (motifs). Мотив есть наименьшая консервативная последовательность нуклеотидов или аминокислот, составляющая функционально значимую единицу. Цинковые пальцы идентифицированы в общем транскрипционном факторе ТFIИА (регулирующим работу РНК полимеразы III), а также в стероидных рецепторах, которые становятся транскрипционными факторами после соединения с гормоном тестостероном.

В развитии дрозофилы цинковые пальцы включены в ДНК-связывающие домены белковых продуктов пробелвызывающих генов *Kruppel*, *hunchback*, *knirps*, *tailless*, а также гена *snail*, играющего ключевую роль в образовании дорсо-вентральной разнокачественности.

2. Спираль–поворот–спираль. В этом домене присутствуют как минимум две  $\alpha$ -спирали, одна из которых (спираль узнавания)

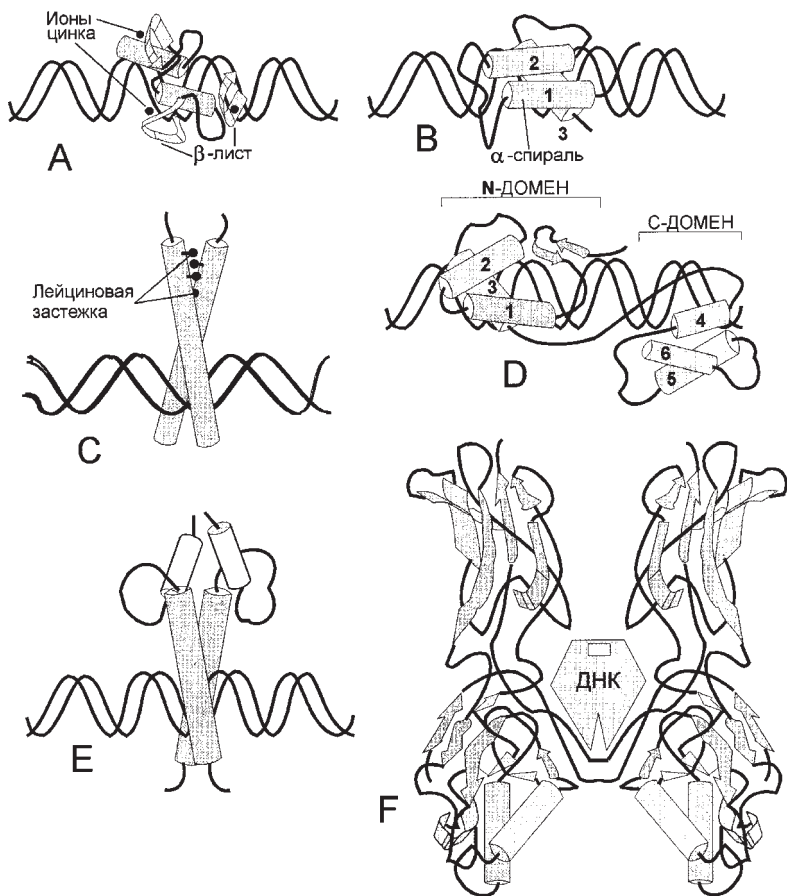


заякоривается в борозде между витками ДНК (рис. 4 В, спираль 3). Эта спираль далее образует короткий участок из трех аминокислот с глицином, обеспечивающим поворот полипептидной цепи. На другом конце этот короткий участок переходит в еще одну  $\alpha$ -спираль, располагающуюся вдоль нитей ДНК и функционирующую как стабилизатор положения спирали узнавания. К стабилизирующей спирали часто может присоединяться еще одна  $\alpha$ -спираль с той же функцией.

Рассмотренный домен называется гомеодоменом и охватывает консервативную последовательность (мотив) из 60 аминокислот. Высококонсервативная область ДНК из 180 пар оснований, кодирующая этот домен (три пары оснований в качестве кода определенной аминокислоты), называют гомеобоксом (homeobox). Гомеобокс был выявлен у так называемых гомеозисных (селекторных) генов, которые отличаются тем, что мутации по ним приводят к замене одной сериальной структуры на другую. Наиболее известные примеры у дрозофилы – превращение антенны в ногу и наоборот (мутации *Antennapedia* и *aristapedia*), а также замена заднегруди на среднегрудь (мутация *bithorax*).

В разных транскрипционных факторах, отличающихся наличием гомеодомена, последний сохраняет свою пространственную организацию. В то же время аминокислотная последовательность гомеодомена может в той или иной степени различаться, что позволяет строить разного типа кладограммы, описывающие уровни родства транскрипционных факторов. Например, если сравнить гомеодомены транскрипционных факторов *Engrailed* и *Antennapedia* у дрозофилы, то наибольшее сходство показывают  $\alpha$ -спирали 3 (75%), далее  $\alpha$ -спирали 2 (45%) и наименьшее сходство между  $\alpha$ -спиралями 1 (30%). Если сравнить с этими “мушиными” генами гомеобоксные гены млекопитающих, то уровень сходства в аминокислотной последовательности соответствующих транскрипционных факторов будет выражаться еще меньшими значениями. Так, Oct2 (Octamer-binding protein), имеющий в гомеодомене дополнительную (четвертую) стабилизирующую спираль и играющий большую роль в развитии центральной нервной системы у млекопитающих, будет показывать следующий уровень сходства с *Antennapedia* дрозофилы:  $\alpha$ -спирали 3 – 40%,  $\alpha$ -спирали 1 – 17% (Gerhart & Kirschner, 1997).

Не все гомеобоксодержащие гены являются гомеозисными. В качестве примера укажем на важное семейство *Pax*-генов. Эти гены содержат типичный гомеобокс и вдобавок еще одну консервативную область, называемую *paired*. Кодируемый *Pax*-генами транскрипционный фактор связывается с ДНК через парный (*paired*) домен (рис. 4 D).



**Рис. 4.** ДНК-связывающие домены транскрипционных факторов.

A – цинковые пальцы; B – спираль–поворот–спираль; C – лейциновая застежка; D – парный домен и гомеодомен; E – спираль–петля–спираль; F – Рел-домен.

**Fig. 4.** DNA-binding domains of transcriptional factors.

A – Zinc fingers; B – Helix–turn–helix; C – Leucine zipper; D – Paired domain and homeodomain; E – Helix–loop–helix; F – Rel-domain.

Домен включает гомеодомен и так называемую  $\beta$ -шпильку ( $\beta$ -hairpin), образованную двумя антипараллельными  $\beta$ -листами. Существенно, что способ соединения опознающей спирали 3 с ДНК отличен от такового гомеозисных белков и более напоминает прокарио-

тический тип соединения - репрессора с оператором. На некотором удалении от парного домена располагается еще один гомеодомен, функция которого до конца не выяснена.

3. Лейциновые застезки (рис. 4 С). ДНК-связывающая область в этом типе домена образована двумя полипептидными цепями. Димеризация осуществляется с помощью 4 или 5 лейциновых остатков, размещенных по одной линии вдоль  $\alpha$ -спирали в интервале семи аминокислот. Димер  $\alpha$ -спиралей садится на ДНК наподобие бельевой зацепки на веревке. Примером рассматриваемого домена может служить транскрипт пробелвызывающего гена *giant*.

4. Спираль–петля–спираль (рис. 4 E). Близкий к предыдущему тип структур, в которых к димеру, зажимающему в виде бельевой зацепки нить ДНК, добавляется еще по одной  $\alpha$ -спирали, каждая из которых связана с опознающей спиралью посредством полипептидной петли. Этот домен найден в белке *Hairy*, кодируемом геном двух-сегментной периодичности, а также в белках, кодируемых ножными генами *atonal* и *spineless*.

5. Рел-домен (рис. 4 F). Соответствующая область гена была вначале выявлена у вируса птичьего ретикулоэндотелиоза (отсюда сокращение «Rel»). ДНК-связывающий домен белка имеет вид бабочки, тело которой образовано ДНК (рассматриваемой в плоскости поперечного сечения), а крылья – компонентами транскрипционного белка. Причем верхние более узкие «крылья» образованы лишь  $\beta$ -листами, а нижние более широкие «крылья» – двумя  $\alpha$ -спиралями и несколькими  $\beta$ -листами с каждой стороны (Patikoglou & Burley, 1997). У дрозофилы выявлено три белка с рел-доменом, из которых *Dorsal* играет ключевую роль в дорсо-вентральной спецификации (Graef et al., 2001).

6. Наконец, следует упомянуть и недавно открытое семейство белков, кодируемых так называемым ARID-семейством генов (Iwahara et al., 2002). У дрозофилы к этому классу принадлежат два гена, *dead ringer (dri)* и *eyelid (eld)*. Первый ген важен для передне-задней стабилизации и в частности, влияет на выражение генов *buttonhead* и *argos*. Ген *eld* выступает как антагонист Wg-сигнальной цепи. Потеря активности *eld* в крыловом диске может вызвать преобразование нотума в крыло (Treisman et al., 1997).

**Сигнальные белки.** Сигнальные белки являются межклеточными переносчиками сигналов. По диапазону действия их можно разделить на три категории.

A. Трансмембранные лиганды. Поскольку эти лиганды представлены трансмембранными белками, то действовать они могут лишь

на рецепторы соседней непосредственно примыкающей клетки. Примером служит трансмембранный белок Delta, являющийся лигандом для рецептора Notch. Этот последний также представлен трансмембранным белком (рис. 5). Специфика взаимодействия лиганда и рецептора здесь связана с тем, что они одновременно присутствуют в мембране обеих клеток. Поэтому для онтогенетической дифференциации последних необходим особый механизм, препятствующий образованию лиганда в одной из клеток. Так, если по чисто случайным причинам одна из клеток начинает вырабатывать больше лиганда Delta, то включается Notch-сигнальный путь, и эта клетка начинает специализироваться. Специализация клетки подавляет производство в ней Delta, что в свою очередь ведет к подавлению Notch-сигнального пути в соседних клетках, которые также начинают дифференцироваться, но в другом направлении. Такой путь спецификации через генетическое взаимодействие двух исходно неразличимых клеток был назван латеральным (Greenwald, 1998), в отличие от обычного вертикального взаимодействия, когда один тип клеток индуцирует изменение других, эти вторые – третьих и т.д. Латеральная спецификация имеет место при образовании омматидиев, а также при разделении клеток на сенсорные и эпителиальные на среднеспинке дрозофилы.

В. Лиганды с небольшим радиусом действия, не превышающим нескольких рядов клеток. Речь здесь идет о сигнальных белках, представленных свободными молекулами, которые могут диффундировать от клетки к клетке. Среди этих лигандов выделяют особый тип молекул, называемых **морфогенами**, которые передают сигнал только

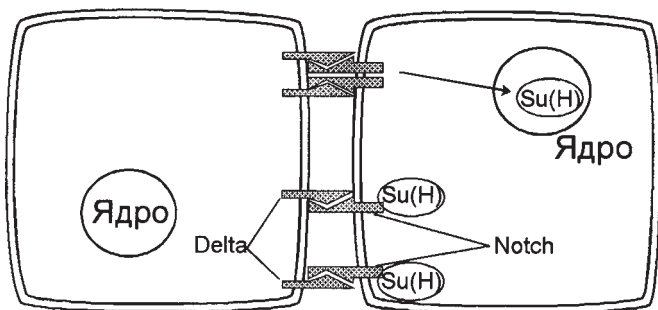


Рис. 5. Латеральная регуляция через Notch-сигнальный путь.

*Su(H)* – *Suppressor of Hairless*.

Fig. 5. Lateral regulation by Notch signaling.

*Su(H)* – *Suppressor of Hairless*.

при достижении ими определенной концентрации. Они удовлетворяют следующим трем условиям. Морфоген, во-первых, должен распространяться из одного источника (клетки или группы клеток). Во-вторых, его концентрация должна уменьшаться по мере удаления от источника. В-третьих, клетки, которых достигает морфоген (клетки-мишени), должны реагировать через свои рецепторы лишь на определенную его концентрацию. Разные рецепторы могут активироваться различными пороговыми концентрациями одного и того же морфогена.

С. Лиганды с большим радиусом действия – тип сигнальных молекул, примером которых являются гормоны, далее рассматриваться не будут.

В развитии насекомых основную роль играют восемь семейств сигнальных белков (Wolpert et al., 1998), перечисленных в таблице 1.

1. Фибробластный фактор роста (ФФР, или FGF). Семейство включает не менее 15 белков, большая часть которых выявлена у позвоночных (Szebenyi & Fallon, 1999; Lin et al., 1999). У них эти белки имеют исключительное значение, в частности, при образовании конечностей и при развитии системы кровеносных сосудов. Все они принадлежат к типу гепарансульфат-связывающих трансмембранных белков и выполняют функцию рецепторов. В отличие от других рецепторов, имеющих киназы в качестве своей интегральной внутриклеточной части, здесь тирозинкиназа является независимой и образует комплекс с внутриклеточной областью ФФР. У насекомых ФФР представлен двумя рецепторами Heartless и Breathless, участвующими в развитии кровеносной и трахейной систем, соответственно (Lin et al., 1999). В отношении лиганда первого рецептора данных нет, а лигандом для второго рецептора является белок Branchless.

2. Нейрогулины. Это семейство белков включает нейромедиаторы, активирующие рецепторы ацетилхолина при передаче нейромышечных сигналов. У насекомых к нейрогулинам относится белок Vein, рецептором которого является эпидермальный фактор роста (ЭРФ), обозначаемый в зарубежной литературе как EGF, или DER (*Drosophila*-эпидермальный рецептор) (Rebay, 2002). Vein является ключевым фактором в определении некраевых жилок крыла дрозофилы.

3. Трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (ТФР- $\alpha$ , или TFG- $\alpha$ ). Наиболее известными лигандами, относящимися к этому семейству, являются белки Gurken и Spitz (Rebay, 2002). Первый играет ключевую роль в становлении осей, и мы будем подробно говорить о нем дальше. Рецептором для этих белков служат два трансмембранных односпиральных белка, объединенных в функциональную систему, способную

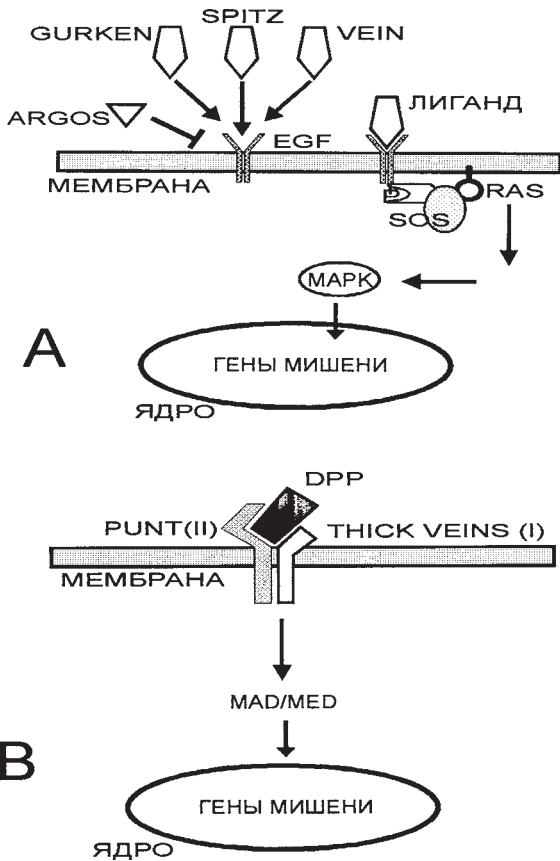
Таблица 1

## Основные семейства сигнальных белков у насекомых

Семейство сигнальных белков	Лиганд	Рецептор	Функция
Фибробластный фактор роста (ФФР, или FGF) у насекомых: Heartless и Breathless	Branchless для рецептора Breathless	Тирозин-киназа, связанная с рецепторами Heartless и Breathless	Ключевые факторы в развитии кровеносной и трахейной систем
Нейрогулины у насекомых: Vein	Vein	Эпидермальный фактор роста (ЭФР, или EGF) с тирозин-киназной активностью	В развитии крыла
Трансформирующий фактор роста $\alpha$ (ТФР- $\alpha$ , или TFG - $\alpha$ )	Gurken, Spitz	Эпидермальный фактор роста	Определение передне-задней и дорсо-вентральной осей
Трансформирующий фактор роста $\beta$ (ТФР- $\beta$ , или TFG - $\beta$ )	Dpp Screw Glass bottom boat-60A Активины	Два белка (Thickveins и Punt), действующие в паре Baboon (Babo)	Во многих процессах
Hedgehog	Hedgehog	Patched	Во многих процессах
Факторы роста семейства Wnt	Wingless (Wg)	Frizzled	Во многих процессах
Notch-сигнальный путь	Delta, Serrate	Notch	Латеральная спецификация
Эфрины (Efrins)	Dephrin (у насекомых)	Epr1-рецепторы	Ключевые факторы в развитии ЦНС

соединиться с лигандом (рис. 6 А). Внутри клетки рецептор связан с адапторным белком Drk (*Drosophila* signal-regulated kinase), а также белком Sos (из семейства гуаниннуклеотидобменивающих факторов), через который сигнал передается на мембранный белок RAS (сокращение от rat sarcoma virus). Активация RAS включает сигнальный путь, важнейшими составляющими которого являются (в порядке следования переносчиков сигнала) RAF, MEK и MAP-киназа (МАРК). МАРК в ядре блокирует ген *yan* и активирует ген *pointed* (*pnt*). Последний играет важную роль в становлении дорсо-вентральной полярности ооцита (включаясь в развитие через Gurken → RAS-сигнальный путь), а позднее, во время гаструляции, и в процессе формирования вентральной эктодермы (через Spitz (или Vein) → RAS-сигнальный путь).

4. Трансформирующий фактор роста  $\beta$  (ТФР- $\beta$ , или TFG- $\beta$ ). Представители этого семейства сигнальных белков выделены у нематод, насекомых, иглокожих и позвоночных (Massagui & Chen, 2000; Affolter et al., 2001) и играют большую роль в раннем развитии при образовании осей тела, а также в органогенезе. У беспозвоночных наиболее известен Decapentaplegic (Dpp), гомологами которого у позвоночных являются BMP2/BMP4 (Bone morphogenetic proteins). Структурно близкие белки Screw и Glass bottom boat-60A найдены в определенных тканях беспозвоночных, где они увеличивают активность Dpp. У позвоночных им соответствуют гомологи BMP5/BMP6/BMP7. Все эти лиганды ассоциированы с двумя типами трансмембранных рецепторов, показывающих серин/треонинкиназную активность (рис. 6 В). Рецептор второго типа (II), представленный белком Punt, является первым компонентом, с которым связывается лиганд. Далее активированный рецептор II должен фосфорилировать рецептор первого типа (I), представленный белками Thickveins (Tkv) или Saxophone (Sax). Рецептор II, в свою очередь, фосфорилирует цитоплазматический белок R-Smad (Mother against dpp), изменяя его конформацию. В новом конформационном состоянии этот белок способен соединиться с другим белком Co-Smad (Medea), и уже этот комплекс может функционировать как транскрипционный фактор для активации определенных генов. Белок Brinker (Brk) способен выключить сигнальную цепь. Другой белок Schnurri (Shn) необходим для репрессии *Brk* и тем самым поддерживает Dpp-сигнальную систему в рабочем состоянии. Еще одну подгруппу  $\beta$ -факторов роста составляют активины. В качестве рецептора I при этом используется трансмембранный белок Baboon (Babo), а связанная с ним сигнальная цепь отличается по структуре переносчиков сигналов.



**Рис. 6.** Сигнальные белки.

А. Трансформирующий фактор роста  $\alpha$  и EGF-сигнальный путь. EGF – эпидермальный фактор роста; MAPK – MAP киназа; p – фосфатная группа; RAS – ГТФ-связывающий белок семейства RAS; Sos – гуаниннуклеотидобменивающий фактор. В. Трансформирующий фактор роста  $\beta$ . Dpp – Decapentaplegic; Mad – Mother against dpp; MED – Medea.

**Fig. 6.** Signaling proteins.

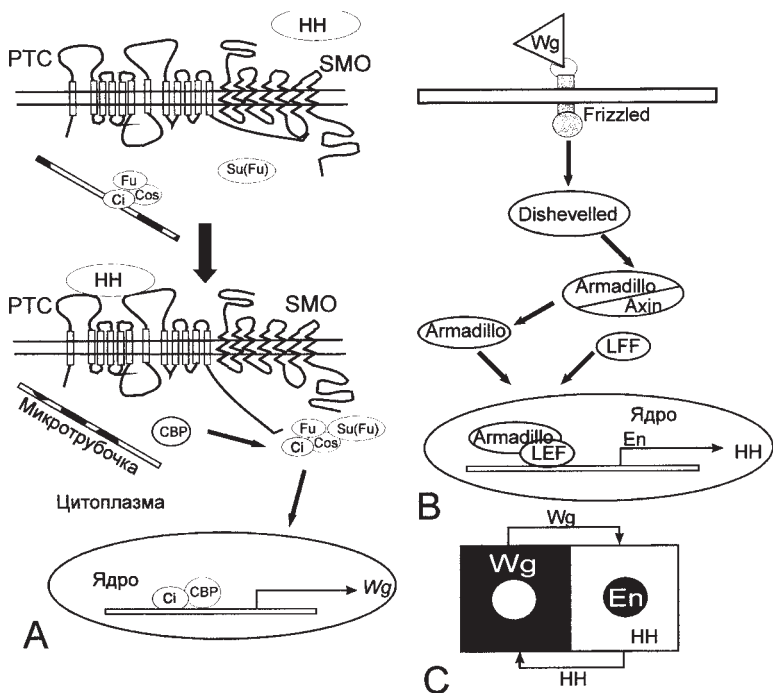
A. Transforming growth factor  $\alpha$  and EGF signaling. EGF – epidermal growth factor; MAPK – MAP kinase (for mitogen-activated protein); p – phosphate group; RAS – GTP-binding protein of RAS-family (from rat sarcoma virus); Sos – guanine nucleotide exchange factor. B. Transforming growth factor  $\beta$ . Dpp – Decapentaplegic; Mad – Mother against dpp; MED – Medea.



5. Hedgehog (рис. 7 А). Члены этого семейства сигнальных белков являются ключевыми посредниками многих процессов развития у насекомых и позвоночных (Vervoort, 2000; Ingham & McMahon, 2001; Glise et al., 2002). Их действие проявляется в трех аспектах. Они могут выступать, во-первых, как морфогены, т.е. как порогово-зависимые индукторы, проявляющие свое действие при определенной критической концентрации, во-вторых, как митогены, регулирующие клеточное размножение, и, в-третьих, как формогены, определяющие форму развивающегося органа или части тела. Ген *hh* кодирует соответствующий белок, рецептором которого является мембранный белок Patched (Ptc), имеющий две большие внеклеточные петли и 12 трансмембранных спиральных доменов (рис. 7 А). Этот рецептор репрессирует активность другого трансмембранного белка Smoothened (Smo), который имеет 7 трансмембранных спиралей и, следовательно, по структуре близок к рецепторам, сопряженным с G-белками. Рецептор Smo входит в семейство серпентиновых белков Frizzled. В качестве лиганда Hh проявляет себя только после активации холестеринном. В этом случае он связывает рецептор Ptc и тем самым снимает ингибирующее действие последнего на Smo. В результате запускается сигнальная цепь, связанная с Smo. Детали работы начальных звеньев этой цепи не совсем ясны, но конечная фаза связана с диссоциацией белкового комплекса, сидящего на цитоплазматических микротрубочках и включающего транскрипционный фактор Cubitus interruptus (Ci), протеинкиназу Fused и белок Coastal. Активация этого комплекса ведет к его распаду и высвобождению Ci, который поступает в ядро, где в зависимости от начальных условий включает гены *ptc*, *wingless* (*wg*) и *decapentaplegic* (*dpp*).

6. Гликопротеиновые факторы роста семейства Wnt (Cadigan & Nusse, 1997; Arias et al., 1999; Sharpe et al., 2001). Название Wnt является объединением сокращенных названий ортологичных генов *wingless* (*wg*) у дрозофилы и *int-1* (позже *Wnt-1*) у мыши. Wnt-сигнальный путь необходим, но недостаточен для активизации генов; обычно он действует в сочетании с другими факторами и, в частности, с транскрипционным фактором Engrailed (En) и сигнальным белком Hh. У насекомых секрция Wg осуществляется при наличии белка Porcupine (Porc). Рецептором Wg является трансмембранный белок Dfrizzled-2 (*Drosophila* frizzled-2). Запускаемая им сигнальная цепь переходов (рис. 7 В) начинается с активации белка Dishevelled (Dsh), который инактивирует киназу Zeste-white 3 (Zw3). Далее сигнал передается на цитоплазматический белок Armadillo (Arm), который, соединяясь с

белком Pangolin (Pan), образует переходящий в ядро транскрипционный комплекс. Этот последний включает ряд генов, в том числе и ген *en*. *En*-клетки секретируют Hh, который через свою сигнальную последовательность (смотри предыдущий пункт) активирует экспрессию *wg* (рис. 7 C).



**Рис. 7.** Сигнальные белки.

A. Hedgehog (по Ingham & McMahon, 2001). *Ci* – *Cubitus interruptus*; *Cos* – *Coastal*; *CREB* – связывающий белок; *Fu* – *Fused*; *Ptc* – *Patched*; *Smo* – *Smoothened*; *Su(Fu)* – *Suppressor of Fused*. B. Wingless (по Cooper, 2000). *LEF* – транскрипционный белок. C. Взаимодействие Hedgehog (Hh)- и Wingless (Wg)-сигнальных путей через транскрипционный фактор Engrailed (En) (по Cadigan & Nusse, 1997).

**Fig. 7.** Signaling proteins.

A. Hedgehog (adapted from Ingham & McMahon, 2001). *Ci* – *Cubitus interruptus*; *Cos* – *Coastal*; *CREB* – binding protein; *Fu* – *Fused*; *Ptc* – *Patched*; *Smo* – *Smoothened*; *Su(Fu)* – *Suppressor of Fused*. B. Wingless (adapted from Cooper, 2000). *LEF* – transcriptional protein (*Lymphoid enhancer-binding factor*). C. Interaction of Hedgehog (Hh)- and Wingless (Wg)-signaling pathways through transcriptional factor Engrailed (En) (adapted from Cadigan & Nusse, 1997).

7. Notch (Greenwald, 1998). В активированном состоянии Notch-рецептор образует димер (рис.5), преобразующий белок Suppressor of Hairless (Su(H)) у дрозофилы, Lag-1 у нематоды *Caenorhabditis elegans* и CBF-1 у млекопитающих в транскрипционный фактор, способный включить транскрипцию определенных генов. Лигандом для трансмембранного Notch-рецептора являются трансмембранные белки Delta и Serrate.

8. Эфрины. Ephrin/Eph-сигнальный путь контролирует развитие нервной системы. Эфрины являются лигандами для Eph-рецепторов с тирозинкиназной активностью. У позвоночных они представлены двумя типами (А и В). Лиганды В-типа являются трансмембранными белками, а лиганды А-типа заякориваются во внешнем слое мембраны посредством гликозилфосфатидилинозита (GPI). У нематод выявлены четыре эфрина, имеющие домены, связывающиеся с рецептором В-типа, но заякоривающиеся посредством GPI, как это характерно для лигандов А-типа. Трансмембранный эфрин, который был назван дефрином, недавно выявлен и у насекомых (Bossing & Brand, 2002).

### 3. Гены развития и проблема морфотипа

Развитие организмов находится под контролем достаточно сложной иерархически упорядоченной и насыщенной обратными связями системы взаимодействующих генов. Среди этих последних можно выделить регуляторные гены развития. Их отличительная черта заключается в том, что они определяют не столько конкретные морфологические структуры, но в большей степени то, как эти последние будут организованы у взрослых форм. У животных они обеспечивают пространственную структуризацию эмбриона в виде онтогенетических компартментов, чем в конечном итоге и определяется план строения.

**Компартменты** – это дискретные области развивающегося организма, включающие клетки, производные от одной клетки-основательницы или от группы клеток. В онтогенезе компартменты отделяют группы клеток с альтернативной проспективной судьбой, например, передние и задние в структуре сегментов или крыла, вентральные и дорсальные в развивающемся крыле, дистальные и проксимальные в развивающейся конечности и т.п. Хотя компартменты обычно не имеют видимых границ, составляющие их клетки разделены и не перемешиваются. Клетки одного компартмента имеют специфические

мембранные адгезивные белки, которые в состоянии опознавать свои и чужие клетки, чем и обеспечивается его устойчивость. Кроме того, клетки одного компартмента детерминированы, так что клетки крыла не могут стать торакальными. Компартменты не всегда совпадают с выделяемыми у взрослого организма структурными элементами тела. С компартментами часто связано признаковое единство разных структур у взрослых форм. Так, первый членик лапок и голень составляют у мух один компартмент. Этим, видимо, и определяется близкая конфигурация и наличие сходных образований (различных выростов, особых щетинок, одиночных или сгруппированных в характерные поля и пр.) на голнях и первом членике лапок у двукрылых. Таксономические признаки, следовательно, должны рассматриваться не сами по себе, а в контексте структурной организации развивающегося организма.

Таким образом, пространственно-временная организация развития, определяемая регуляторными генами, выражается в образовании компартментов. Можно ли компартменты увязать с морфотипом?

Морфотип есть идеальное представление о сумме существенных сходств организмов или их отдельных составляющих. В наиболее общей форме морфотип выражается в плане строения. План строения определяется в литературе по-разному. Часто его используют в качестве характеристики высших таксонов животных, подчеркивая их наиболее общие как архитектурные, так и структурные свойства. В числе параметров, по которым можно различить планы строения, при этом называют: (1) тип скелета (например, внутренний, наружный, гидростатический), (2) симметрию (радиальную, билатеральную), (3) наличие парных придатков, (4) тип полости тела, (5) тип дробления, (6) характер сегментации (Arthur, 1997). Этих шести параметров достаточно, чтобы описать и отличить высшие таксоны животных: типы и классы.

Другой подход заостряет внимание на архитектонике, т.е. пространственной организации основных компонентов тела независимо от их строения и назначения (Беклемишев, 1994). План строения таксономической группы в этом случае видится как совокупность общих особенностей компоновки основных систем органов и пространственной организации последних, которая обычно выражается в виде морфологически очерченных частей (смотри также: Старобогатов, 2000, с. 5). При таком понимании план строения будет определяться меньшим числом параметров, которых мы насчитываем четыре:

1. Структура основных осей и плоскостей тела. Большинство животных различаются вдоль передне-задней оси и в дорсо-вентральной плоскости.

2. Гомономные части, связанные с метамерией и сегментацией.
3. Дополнительная структуризация или, наоборот, объединение гомономных элементов в особые части тела (например, в тагмы у членистоногих).
4. Наличие придатков разного рода и назначения, их композиция и пространственное расположение.

Из результатов молекулярных реконструкций, вкратце отмеченных во введении, мы знаем, что сходство – не лучшая основа для определения морфотипа. Здесь мы исследуем возможность определения морфотипа на генетической основе. Принятая нами архитектурная точка зрения, как мы увидим дальше, наиболее близко отвечает описанию планов строения на уровне регуляторных генов. Иными словами, если морфотип рассматривать в качестве выражения пространственной организации частей тела, то через гены развития мы вплотную подходим к его содержательному пониманию.

Генетический подход расширяет понятие морфотипа по меньшей мере в трех направлениях. Во-первых, благодаря генам, мы в состоянии понять пространственную организацию даже в тех случаях, когда она не имеет четкого выражения в каких-то морфологических структурах, например, компоновку органов вдоль различных осей тела. Предваряя дальнейшее изложение, заметим, что планы строения, различные с морфологической точки зрения, могут быть едиными с генетической точки зрения. Так, насекомые и позвоночные имеют единый план строения, различающийся в обеих группах по своему натурному исполнению, т.е. строению органов, наполняющих план строения конкретным содержанием. Во-вторых, в описание морфотипа могут быть включены пространственные связи, видимые лишь в развитии. Показательный пример дают парасегменты. В-третьих, единство морфотипа может определяться на более глубоком структурном уровне. Мы будем говорить об этом при рассмотрении регуляторных генов, связанных с развитием глаза.

#### **4. Генетическое определение плана строения насекомых**

Характерной чертой насекомых как членистоногих животных являются сегменты, объединяемые в тагмы. От других членистоногих насекомые отличаются особым типом расчленения тела, исходно состоящего из 20 сегментов, сгруппированных в три тагмы: голову, грудь и брюшко. В реализации этого плана строения участвует каскад

регуляторных генов, начиная от материнских и кончая генами *Not1/Nox*-комплекса.

Выше мы охарактеризовали план строения по четырем основным параметрам. Рассмотрим теперь их более подробно.

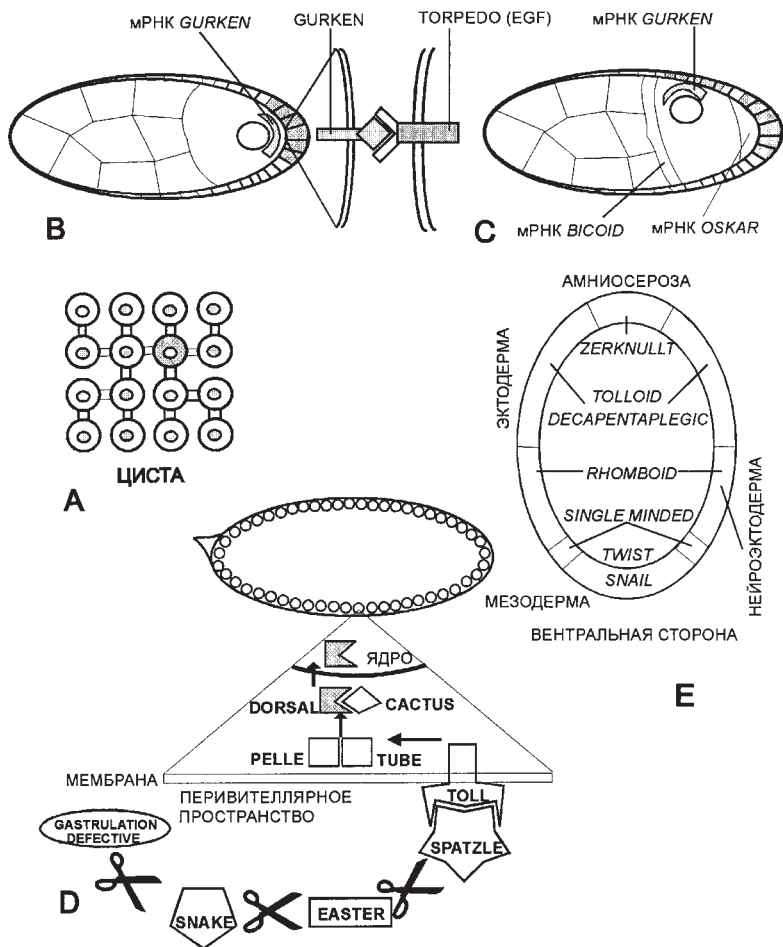
#### 4.1. Осевые отношения

Становление передне-задней оси и различий в дорсально-вентральной плоскости определяется своими генами (табл. 2). Если в качестве примера рассмотреть развитие дрозофилы, то процесс дифференциации начинается еще в яйце с установления полярности, задаваемой градиентами материнских (вырабатываемых генами «матери») морфогенов. Формирование осей тела у дрозофилы происходит на ранней стадии развития ооцита. В гермарио оогоний (цистобласт) подвергается четырем последовательным дроблениям, дающим цисту из 16 связанных цитоплазматическими мостиками (кольцевыми каналами) клеток (рис. 8 А). Из них 15 клеток становятся трофоцитами, а одна специфицируется как ооцит. Дифференциация клеток начинается с первого деления и определяется особой структурой, называемой фузмой (Cuevas & Spradling, 1998; Grieder et al., 2000; Gonzalez-Reyes, 2003). Фузома содержит различные цитоскелетные белки (спектрины, анкирин и близкий к аддуцину белок *hu-li tai shao*), которые взаимодействуют с микротрубочковым скелетом. У дрозофилы фузома является сферической структурой, называемой спектросомой. При делении клетки фузома связана с одним из полюсов митотического веретена, и именно та из клеток, в которой остается фузома, и дифференцируется как ооцит. Морфологически это одна из двух клеток, связанных с трофоцитами четырьмя кольцевыми каналами. После выхода цисты из гермарио в вителлярый фузома рассасывается.

Вокруг цисты образуется слой фолликулярных клеток, который по мере ее развития в вителлярии сдвигается в заднем направлении, параллельно аналогичному сдвигу ооцита к будущему заднему полюсу. Это состояние отвечает примерно шестидневной стадии развития, когда и происходит формирование передне-задней оси. Ядро ооцита сближается с фолликулярными клетками на заднем полюсе и начинает кодировать белок Gurken из TFG- $\alpha$  семейства факторов роста. Рецептором этого лиганда в плазматической мембране фолликулярных клеток является белок Torpedo, обладающий тирозинкиназной активностью (рис. 6 А, 8 В). Для его активации необходима высокая плотность Gurken, которая как раз и создается на заднем полюсе. Связанная с Torpedo сигнальная цепь активирует работу ряда генов

внутри фолликулярных клеток. Секретируемые этими клетками белки (например, *Mago nashi*) при попадании в ооцит поляризуют его микротрубочковый скелет таким образом, что плюс-конец микротрубочек находится на заднем полюсе, а минус-конец – на противоположном, расположенном близ питательных клеток. Ядро ооцита возвращается в срединное положение и начинает вместе с трофоцитами транскрибировать мРНК для синтеза нескольких белков, из которых важнейшими будут *Vicoid* (*Vcd*), *Oskar*, *Prospero* и *Nanos*. Эти мРНК взаимодействуют с разными моторными белками микротрубочкового цитоскелета, которые тянут их вдоль микротрубочек следующим образом: мРНК *bcd* – в сторону минус-конца, мРНК *oskar* и *nanos* – в сторону плюс-конца (рис. 8 С). В итоге первый белок имеет наибольшую плотность (за счет поступления мРНК и из трофоцитов) на переднем, а два других – на заднем полюсах ооцита. мРНК *prospero* концентрируется в базальной области. Белок *Varentsz*, возможно, существенен для транспорта мРНК *oskar* в задний отдел ооцита. Другой белок *Staufen* важен для закоривания мРНК *bcd* и, кроме того, играет какую-то роль в активации трансляции мРНК *bcd* и *oskar* (Micklem et al., 2000; Johnston, 2001). Белки *Vcd* и *Nanos* являются транскрипционными факторами и устанавливают два компартмента, передний и задний, которые определяют разнокачественность ооцита вдоль передне-задней оси. У *bcd*-мутанта отсутствуют передние головные структуры; вместо них образуется второе, переднее по положению брюшко. У *nanos*-мутанта, напротив, нет брюшных сегментов.

После определения передне-задней оси начинается дифференциация ооцита в дорсо-вентральной плоскости (Dorfman & Shilo, 2001; Goff et al., 2001). Процесс связан со спецификацией фолликулярных клеток на одной стороне ооцита в качестве дорсальных (Lall & Patel, 2001). Ядро ооцита сближается с будущей дорсальной стороной и транскрибирует мРНК для синтеза *Gurken*, который через *Torpedo* специфицирует дорсальные фолликулярные клетки. В результате в дорсальных клетках начинает вырабатываться транскрипционный фактор *Pointed* и останавливается экспрессия гена *pipe*; активность последнего сохраняется, однако, в фолликулярных клетках, отвечающих будущей вентральной стороне тела. Белок *Pipe* активирует в перивителлярной жидкости (ПЖ) между ооцитом и фолликулярными клетками внеклеточную протеазу *Nudel*, которая запускает на вентральной поверхности серинпротеазный каскад из трех протеаз *Gastrulation defective* → *Snake* → *Easter* (рис. 8 D).



**Рис. 8.** Формирование основных осей в ооците дрозофилы (по Gerhart & Kirschner, 1997 и Wolpert et al., 1998).

A – 16-клеточная циста в гермариум; B – ооцит на 5-6-й стадии; C – ооцит на 9-й стадии; D – стадия синцитиальной бластодермы; E – дорсо-вентральная спецификация клеточной бластодермы.

**Fig. 8.** Formation of basic axes in the *Drosophila* oocyte (adapted from Gerhart & Kirschner, 1997 and Wolpert et al., 1998).

A – 16-cell cyst in the germarium; B – Oocyte stage 5-6; C – Oocyte stage 9; D – Stage of syncytial blastoderm; E – Dorso-ventral specification of cellular blastoderm into different regions.



Следующий этап организации дорсо-вентральной разнокачественности приходится на стадию синцитиальной бластодермы (Stathopoulos & Levine, 2002a, b). Протеаза Easter, накапливающаяся в ПЖ на вентральной стороне, модифицирует инактивную форму белка Spdztzle, который в своем активированном состоянии является лигандом для трансмембранного рецептора Toll (Belvin, 1996). Этот последний через свою серию генов (*pele*, *tube*) дезинтегрирует находящийся в цитоплазме белковый комплекс [Dorsal+Cactus]. Cactus в этом тандеме играет роль якорного белка, удерживающего Dorsal в цитоплазме, возможно, с помощью еще каких-то белков. Раскомплексованный транскрипционный фактор Dorsal попадает в бластодермальные ядра, причем его плотность оказывается наивысшей на вентральной стороне бластодермы. В структурном плане Dorsal относится к небольшому семейству белков, имеющих так называемую Rel-ДНК-связывающий домен (Graef et al., 2001).

В области наивысшей плотности Dorsal активирует ген *twist*, и они вместе включает ген *snail* (рис. 8 E). Последний реагирует лишь на высокую плотность Dorsal и поэтому активен только в вентральной области бластодермы. Оба гена, *twist* и *snail*, будут значимы на более позднем этапе, когда начнется развитие мезодермы. В отличие от *snail*, *twist* активируется и при средней плотности Dorsal, поэтому он экспрессируется также и в латеро-вентральной области бластодермы. Здесь же позднее установится экспрессия еще одного гена *rhomboid*, который включает генетический каскад, определяющий нейроэктодерму. Активатором *rhomboid* является Twist, а репрессором – Snail. Экспрессия гена *zerknyllt* (*zen*) возможна лишь при полном отсутствии в ядре Dorsal, поэтому для Zerknyllt характерно дорсальное распределение. Гены *decapentaplegic* (*dpp*) и *tolloid* репрессированы белком Dorsal в меньшей степени, чем *zen*, и поэтому способны экспрессировать соответствующие белки в дорсо-латеральной полосе бластодермы. В латеральной полосе бластодермы проявляется активность гена *short gastrulation* (*sog*), который индифферентен к Dorsal, но подавляется продуктами генов *twist* и *zen*.

Наконец, следует упомянуть еще одну группу материнских генов, которые специфицируют переднюю и заднюю области яйца, отвечающие акрону с передним сегментом головы и тельсону с самыми задними сегментами брюшка, соответственно (Schröder et al., 2000). Ключевым в этом процессе является рецепторный белок Torso, равномерно распределенный в плазматической мембране фолликулярных клеток. Torso является рецептором с тирозинкиназной

активностью и по структуре близок к рецептору Toll, который служит ключевым элементом дорсо-вентральной детерминации. Лигандом для Torso является белок Trunk, близкий к Spdztle и также накапливаемый в перивителлярном пространстве. Torso концентрируется лишь на полюсах, а его активность доходит до критического уровня после оплодотворения. У дефицитных по этому белку личинок не развиваются передние клипео-лабральные компоненты и цефалофарингеальный скелет. Через Torso-сигнальную цепь запускается ряд генов (*tailless, huckebein, serpent*), специфицирующих терминальные отделы вне процессов сегментации, о которых у нас будет речь впереди. Ген *tailless* вовлечен в образование самых передних отделов мозга, включая оптические доли. Такая его роль сохраняется даже у филогенетически удаленных групп; например, он участвует в процессах развития глаза у *Xenopus*. Ген *huckebein*, наряду с *tailless*, регулируют гены *brachyenteron, forkhead, chunchback* и др.

Следует отметить, что Vcd способен компенсировать недостаток Torso-активности: оба белка имеют ряд общих генов-мишеней, на которые они действуют независимо. Vcd известен лишь у круглошовных мух, и его функция в качестве фактора, определяющего осевые отношения, является новой. В связи с этим интересно было бы проследить гомологию факторов осеобразования в других группах насекомых и, шире, во всех ключевых группах членистоногих. Это представляется важным для решения проблемы акрона и ларвальных сегментов, о чем еще будет сказано ниже.

Из представленного материала видно, что дорсо-вентральная поляризация определяется по меньшей мере на двух уровнях: при формировании яйца и на стадии бластулы. При сравнении генетических дорсо-вентральных маркеров в разных группах удалось обнаружить интересные зависимости. Оказалось, что в определении дорсо-вентральных отношений у позвоночных и насекомых имеется глубокий параллелизм по некоторым ключевым генам, функционирующим на стадии бластулы. Мы уже упоминали два гена, *decapentaplegic* и *short gastrulation*, которые активны соответственно в дорсальной и вентральной полусферах эмбриона дрозофилы. Конечное распределение сигнальных белков этих генов несколько иное, что связано с действием других генов, частично подавляющих их активность. В частности, в зародыше *Drosophila* белок Dpp активен в дорсо-латеральной полосе, а белок Sog – вдоль экватора в полосе, примыкающей к первой. Однако исходная картина областей экспрессии отвечает дорсальному распределению для Dpp и вентральному для Sog.

У *Xenopus* гомологом гена *dpp* является *Bmp-4*, но он определяет не дорсальный (как у насекомых), а вентральный компартмент. Гомологом гена *sog* у *Xenopus* является ген *chordin*, который определяет дорсальный (а не вентральный как у насекомых) компартмент. Недавно было выяснено, что *Bmp-4* активируется двумя другими генами, *Bmp-1* и *Bmp-7*. Их гомологи, соответственно гены *tolloid* и *screw*, делают то же самое в отношении *dpp*. В целом же характер взаимодействия основной массы генов, а мы упомянули лишь некоторые из них, достаточно сходен. Конечно, говорить о полном сходстве генетических комплексов не приходится. У хордовых, например, имеется ген *noggin*, белковый продукт которого связывает и инактивирует *Bmp-4*. Данный ген отсутствует у насекомых, но существенно, что кодируемый им белок нейтрализует у них *dpp*, являющийся гомологом *Bmp-4*. Интересен и другой факт: продукты экспрессии *chordin* в состоянии активировать вентральное развитие у *Drosophila*, а белок Dpp может содействовать вентральному развитию у *Xenopus*. К этому следует добавить, что гены *csx* и *MEF2C*, действующие в вентральном компартменте у хордовых, и гомологичные им гены *tinman* и *Dmef2* в дорсальном компартменте *Drosophila* экспрессируются в проспективной области сердца и у тех, и у других (Gerhart & Kirschner, 1997). Аналогичные соотношения отмечены для трех пар генов *vnd-Nk2*, *ind-Gsh1,2* и *Msh-Msx1,3*, определяющих спинной мозг у позвоночных (первый в паре) и брюшную цепочку у *Drosophila* (второй в паре).

В целом ткани, близкие к бластопору и центральной нервной системе, определяются экспрессией генов *sog/chordin*, тогда как ткани, лежащие дальше (амниосероза, кровь) – экспрессией *dpp/Bmp-4* (Lall & Patel, 2001).

Эти любопытные данные заставили ученых вспомнить старинную идею Ж. Сент-Илера, который, основываясь на архетипических соображениях, еще в 1822 году предположил, что позвоночные являются перевернутыми кольцецами. Уже в наше время В.В. Малахов (1982) вернулся к идее Сент-Илера и представил дополнительные свидетельства в ее пользу. И вот теперь эта считавшаяся несколько экстравагантной гипотеза “перевернутости” позвоночных нашла серьезную поддержку со стороны генетики развития (смотри подробнее: Воронов, 2000, Gilbert & Bolker, 2001). Вероятный сценарий последовательности событий в становлении перевернутости хордовых предложен Я.И. Старобогатовым (2000, с. 16).

## 4.2. Сегментация

Под сегментацией понимают продольное подразделение тела организма на последовательность морфологически сходных единиц, называемых сегментами. Более узким является понятие метамерии (первичной сегментации по: Snodgrass, 1935), связанной с последовательным разделением эмбриона на сомиты и выражающейся исходно в обособлении серии сходных мезодермальных единиц. В свете новых данных о родстве членистоногих с круглыми червями не вполне ясно, можно ли прилагать теорию метамерного строения, разработанную на анализе кольцецов, к членистоногим. Для наших целей достаточно будет ограничиться приведенным выше формальным определением сегментации.

Гены сегментации можно разделить на материнские и зиготические (табл. 2). О материнских генах (или генах материнского эффекта, хотя последнее словосочетание сейчас чаще используют лишь для обозначения мутаций) мы уже говорили при обсуждении генетического определения передне-задней оси ооцита. Ключевыми среди них являются гены *bicoid*, *caudal* и *nanos*. мРНК первого гена образует градиент, убывающий от переднего конца к заднему, тогда как мРНК двух других генов показывают обратный градиент. После образования зиготы продукты материнских генов активируют в ней следующий пласт генов, называемых пробелвызывающими.

**Пробелвызывающие (*gap*) гены.** Общее название этих зиготических генов связано с тем, что мутации по ним вызывают выпадение тех или иных сегментов у личинки мухи. Например, у *Krüppel*-мутанта не развиваются сегменты от первого грудного до пятого брюшного, а у *knirps*-мутанта – задние сегменты. Некраевое положение компарментов, в которых активны те или иные пробелвызывающие гены, определяется только в результате совместного действия нескольких генов. Так, работа *Krüppel* контролируется тремя генами: *Vcd* вызывает его экспрессию, а продукты экспрессии генов *hunchback* (*hb*) и *knirps* останавливают работу *Krüppel* в передней и задней трети эмбриона.

Пробелвызывающие гены можно разделить на две группы (Gerhart & Kirschner, 1997). Представители одной из них репрессируются *Hb* и проявляют свое действие лишь в задней части синцитиальной бластодермы. Таковы гены *Krüppel* и *knirps* (рис. 9). Другие пробелвызывающие гены индифферентны к *Hb* и могут быть активны в передней части эмбриона. Кроме того, гены различаются по чувствительности к плотности *Hb*, а также к действию *Vcd*. Так, *knirps* менее чувствителен к плотности *Hb*, чем *giant*, и поэтому экспрессируется впереди от полосы *giant*. С другой стороны, *Vcd* может снять негативное

Таблица 2

Основные регуляторные гены в раннем развитии эмбриона *Drosophila*

Гены, определяющие передне-заднюю (П-З) ось	Гены	Тип кодируемого белка, М – мембранный (число трансмембранных спиралей)	Транскрипционный фактор (ТК), трансляционный регулятор (ТЛ) рецептор (Р), сигнальный белок (С)	Функция (если известна)	
<b>Материнские гены</b>					
Поляризирующие яйцо на передний и задний компартменты	<i>bicoid</i> <i>nanos</i>  <i>oskar</i> <i>hunchback</i> <i>caudal</i> <i>staufer</i>	Гомеодомен 2 цинксодержащих мотива  Цинковые пальцы Гомеодомен РНК-связывающий белок	ТК и ТЛ ТЛ ТК ТК	Передний полюс Задний полюс  Задний полюс П-З градиент З-П градиент Переносчик мРНК <i>bicoid</i> и мРНК <i>oskar</i> Лиганд для Torpedo	
Терминальные	<i>gurken</i> <i>torpedo</i> <i>torso</i>  <i>trunk</i>	TFG- $\alpha$ семейство EGF- семейство Рецептор с Тирозинкиназой	С Р Р  С	    Лиганд для Torso	
<b>Зиготические гены</b>					
Пробелывывающие (gap)	<i>hunchback</i> <i>krüppel</i> <i>giant</i> <i>knirps</i> <i>tailless</i> <i>orthodenticle</i> <i>empty spiracles</i> <i>buttonhead</i>	Цинковые пальцы Цинковые пальцы Лейциновая застежка Цинковые пальцы Цинковые пальцы Парный домен Гомеодомен Цинковые пальцы	ТК ТК ТК ТК ТК ТК ТК	Делят передний и задний компартменты на более дробные единицы	
Головные	<i>runt</i> <i>hairy</i> <i>even-skipped</i> <i>fushi tarazu</i> <i>odd-skipped</i> <i>odd-paired</i> <i>sloppy-paired</i> <i>paired</i>	Runt-домен СПС Гомеодомен Гомеодомен Цинковые пальцы Цинковые пальцы Forkhead-домен Парный домен	ТК ТК ТК ТК ТК ТК ТК ТК		
Гены двухсегментной периодичности (Pair-rule)	Парасегменты: Н – нечетный; Ч – четный; Н/Ч – часть четного + часть нечетного; Ч/Н – часть нечетного + часть четного			Н/Ч* Ч/Н* Н* Ч* Ч/Н Ч/Н Н/Ч/Н	Определяют парасегменты в ранней бластодерме, *, * – сопряженные пары, покрывающие все парасегменты
Гены посегментной полярности	<i>engrailed</i> <i>hedgehog</i>  <i>wingless</i> <i>gooseberry</i>  <i>patched</i> <i>smoothened</i>	Гомеодомен <i>hedgehog</i> семейство Wnt семейство Парный домен и гомеодомен М(12) М(7)	ТК С  С ТК  Р Р	Определяют границы сегментов      Рецепторы для <i>hedgehog</i>	
Гомеозисные Antennapedia-комплекс	<i>labial</i> <i>proboscipedia</i> <i>deformed</i> <i>Sexcomb reduced</i> <i>Antennapedia</i>	Гомеодомен Гомеодомен Гомеодомен Гомеодомен Гомеодомен	ТК ТК ТК ТК ТК	Специфицируют сегменты	
<i>bithorax</i> -комплекс	<i>Ultrabithorax</i> <i>Abdominal-A</i> <i>abdominal-B</i>	Гомеодомен Гомеодомен Гомеодомен	ТК ТК ТК		

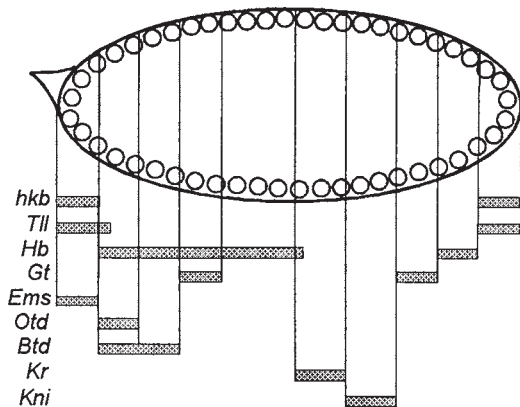
Продолжение таблицы 2

Гены, определяющие дорсо-вентральные отношения	Гены	Тип кодируемого белка: СПС – спираль-петля-спираль; М – мембранный; ВК – внеклеточный	Транскрипционный фактор (ТК), рецептор (Р), сигнальный белок (С)	Функция (если известна)
Материнские гены	<i>Toll</i> <i>spätzle</i> <i>dorsal</i> <i>cactus</i> <i>pele</i>  <i>tube</i> <i>gurken</i>	М  Rel-домен Анкирин-домен Death-домен  Death-домен TFG-α семейство	Р С (лиганд для Toll) ТК Связывает dorsal Серин/трионин киназа DAP-киназа С	Дорсо-вентральная поляризация
Зиготические гены	<i>twist</i> <i>snail</i> <i>single-minded</i> <i>rhomboid</i> <i>short gastrulation</i> <i>decapentaplegic</i>  <i>zerknüllt</i> <i>tolloid</i> <i>schurri</i>	СПС Цинковые пальцы СПС М ВК TFG-β семейство  Гомеодомен Семейство BMP-1 Цинковые пальцы	ТК ТК ТК Протеаза Связывает dpp С  ТК С ТК	Определяют: мезодерму мезодерму мезодерму мезэктодерму нейроэктодерму дорсальная эктодема амниосерозу Активатор <i>dpp</i> Регулятор <i>dpp</i> -цепи

влияние Hb на *giant*, в результате чего в передней части эмбриона появляется его вторая полоса. Белковые (транскрипционные) продукты пробелвызывающих генов определяют в общей сложности десять компартментов. Сами полосы крайне нестабильны и быстро распадаются, существуя не более двух часов непосредственно перед целлюляризацией.

Среди пробелвызывающих генов по ряду параметров отличаются от остальных три головных гена: *orthodenticle*, *empty spiracles* и *buttonhead*. Два первых содержат гомеобокс и по своему действию близки к гомеозисным *Hox*-генам. Их транскрипты, содержащие гомеодомен, по своей структуре радикально отличаются от транскрипционных факторов, кодируемых остальными генами, для которых характерно наличие цинковых пальцев (табл. 2). Все это говорит об ином происхождении *orthodenticle* и *empty spiracles*, о чем у нас еще будет идти речь. Другое отличие этих трех генов состоит в том, что они показывают длительный период активности. Видимо, по этой причине в некоторых источниках их относят к другому слою генов сегментной полярности, действующих позже.

**Гены двухсегментной периодичности.** Под совместным контролем пробелвызывающих генов начинается экспрессия следующего важного комплекса регуляторных генов, показывающих двухсегментную периодичность (pair-rule) экспрессии до начала гастрюляции (смотри обзор: Davis & Patel, 2002). Эти гены у дрозофилы можно разбить на группы первичных и вторичных. Вторые регулируются первыми, а те активируются непосредственно пробелвызывающими генами. Первичных генов всего три: *runt*, *hairy* и *even-skipped (eve)*. Вторичных генов шесть: *fushi-tarazu (ftz)*, *odd-skipped*, *odd-paired*, *sloppy-paired*, *paired* (поздний). Экспрессируются гены, о чем можно судить по окрашиванию соответствующих белков, в семи поперечных полосах вдоль эмбриона с периодичностью через один сегмент. Например, *even-skipped (eve)* выражается в семи нечетных парасегментах, *fushi-tarazu (ftz)* и *paired* – в семи четных (рис. 10). Мутации по этим генам приводят к тому, что области эмбриональной кутикулы не развиваются с двухсегментной периодичностью. Заметим, что после гастрюляции «поведение» генов может измениться; например, *eve* экспрессируется во всех парасегментах, с более слабым выражением в четных (рис. 10).

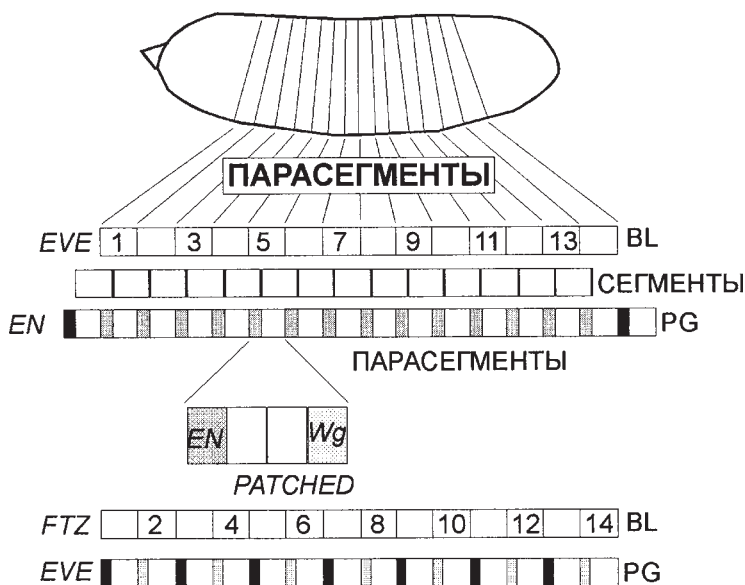


**Рис. 9.** Экспрессия пробелвызывающих генов в эмбрионе дрозофилы (по Gerhart & Kirschner, 1997, с изменениями).

*Btd* – *buttonhead*; *Ems* – *empty spiracles*; *Gt* – *giant*; *Hb* – *hunchback*; *Hkb* – *huckebein*; *Kni* – *knirps*; *Kr* – *Krüppel*; *Otd* – *orthodenticle*; *Tll* – *tailless*.

**Fig. 9.** Expression of gap genes in the *Drosophila* embryo (adapted from Gerhart & Kirschner, 1997).

*Btd* – *buttonhead*; *Ems* – *empty spiracles*; *Gt* – *giant*; *Hb* – *hunchback*; *Hkb* – *huckebein*; *Kni* – *knirps*; *Kr* – *Krüppel*; *Otd* – *orthodenticle*; *Tll* – *tailless*.



**Рис. 10.** Соотношение между парасегментами и сегментами в эмбрионе дрозофилы (по Wolpert et al., 1998, с изменениями).

*Bl* – стадия бластодермы; *En* – engrailed; *eve* – even-skipped; *ftz* – fushi-tarazu; *Pg* – стадия постгастролы; *Wg* – wingless.

**Fig. 10.** The relationship between parasegments and segments in the *Drosophila* embryo (adapted from Wolpert et al., 1998).

*Bl* – blastoderm stage; *En* – engrailed; *eve* – even-skipped; *ftz* – fushi-tarazu; *Pg* – post-gastrula stage; *Wg* – wingless.

Экспрессия отдельного гена двухсегментной периодичности осуществляется в каждой полосе независимо от его экспрессии в других полосах, т.е. не в виде волнового распределения, как предполагали вначале. Рассмотрим, следуя Арности с соавторами (Arnosti et al., 1996; Wolpert et al., 1998), как образуется вторая полоса *even-skipped* у эмбриона дрозофилы. Она определяется экспрессией материнского гена и трех пробелвызывающих генов *Kрыппел*, *hunchback* и *giant* (экспрессирующего в передней полосе). Гены *bcd* и *hunchback* в своих областях экспрессии включают ген *eve*, но не определяют границы активности последнего. Правую границу очерчивает *Kрыппел*, а левую – *Giant*, причем оба белка репрессируют *eve* в пороговозависимой



форме. Важно подчеркнуть и другой момент. Регуляторная область гена *eve* должна различать разные концентрации транскрипционных факторов и реагировать на них. Поэтому в регуляторной области располагаются сайты связывания, соотносящиеся с различными критическими концентрациями одного и того же транскрипционного фактора. Например, в упомянутом гене *eve* его регуляторная область включает пять сайтов связывания для активатора *Bcd*, один для активатора *Hunchback*, три сайта для репрессора *Krüppel* и два для репрессора *Giant*.

В результате экспрессии генов двухсегментной периодичности устанавливаются так называемые **парасегменты** (Wolpert et al., 1998; Корочкин, 1999). Парасегменты являются последовательными единицами членения эмбриона, имеющими ту же длину, что и сегменты, но сдвинутыми относительно будущих сегментов. Например, у дрозофилы парасегмент отвечает заднему отделу будущего сегмента и передней части следующего. Парасегменты – прекрасный пример онтогенетических модулей; через них обеспечивается разная адаптивная и функциональная специализация переднего и заднего отделов будущих имагинальных сегментов. Но их главная функция, видимо, связана с развитием конечностей. Границы парасегментов определяют области взаимодействия устойчивых генетических систем (модулей), прежде всего *en/wg/hh*, которые и инициируют развитие конечностей. Отметим в этой связи, что передние границы действия *Hox*-генов часто отвечают границам парасегментов.

Теперь посмотрим, сколько всего возникает парасегментов и как они соотносятся между собой (рис. 10). Из рисунка видно, что *eve* активен в семи парасегментах (через один) от первого до тринадцатого. А ген *ftz*, например, экспрессируется в четных парасегментах со второго до четырнадцатого. Таким образом, гены двухсегментной периодичности определяют 14 парасегментов. Другой момент, на который следует обратить внимание, связан с тем, что позже некоторые гены дают между каждыми двумя главными дополнительную полосу. Так, ген *eve* экспрессируется еще в семи полосах, давая в итоге 14 полос. Мы вернемся к этой особенности при рассмотрении структуры сегментации у насекомых.

Среди насекомых с полным превращением аналогичные гены двухсегментной периодичности, определяющие парасегменты, выявлены у жесткокрылых (Brown et al., 1997), длинноусых двукрылых (Rohr et al., 1999), чешуекрылых (Kraft & Jackle, 1994) и перепончатокрылых, в частности, у медоносной пчелы и *Bracon hebetor* (Binner &

Sander, 1997; Grbi & Strand, 1998). Однако у паразитического наездника *Aphidius ervi* гомолог *eve* не дает характерного для дрозофилы распределения полос через одну и активен в дорсо-латеральной мезодерме (Grbi & Strand, 1998).

Из насекомых с неполным превращением гены двухсегментной периодичности изучены у прямокрылых, ухверток и тараканов (Hughes & Krause, 2001). В этих группах сходного проявления генов двухсегментной периодичности поначалу обнаружено не было. Так, у *Schistocerca* ортологи генов *eve* и *ftz* экспрессируются в задней части бластодермы без периодичности, свойственной эмбриогенезу дрозофилы. Поэтому было даже высказано предположение, что парасегменты являются синапоморфией Holometabola. Впоследствии были исследованы ортологи и паралоги других генов двухсегментной периодичности, в частности *paired* и *pairberry*. Особенно интересным оказался второй ген, существующий у шистоцерки в двух копиях. Он входит в семейство PaxIII генов и родственен генам дрозофилы *paired* (*prd*), *gooseberry* (*gsb*) и *gooseberry-neuro* (*gsbn*); два последних относятся к генам сегментной полярности. Мы уже говорили о генах этого семейства и отмечали, что для них характерен парный домен и гомеодомен (рис. 4 D). У дрозофилы все три гена образовались в результате двух событий дупликации: сначала анцестральный ген дублировался и дал *prd*, затем произошла вторая дупликация с разделением анцестрального гена на *gsb* и *gsbn*. Связаны эти гены и функционально: *prd* активирует *gsb*, а тот, в свою очередь, *gsbn*. Положение *pairberry* относительно трех PaxIII генов дрозофилы пока не вполне ясно. Возможно, что он выделился в процессе дупликации после обособления *prd*, но до разделения анцестрального для *gsb* и *gsbn* гена (Davis et al., 2001).

У дрозофилы *prd* экспрессируется в семи полосах, позже в еще семи. У шистоцерки *pairberry*, хотя и показывает двухсегментную периодичность, но дает не все главные полосы сразу. Сначала появляются полосы, отвечающие мандибулярному, нижнегубному и второму торакальному сегментам. На следующем этапе появляются полосы максиллярного и первого грудного сегментов, и на третьем этапе – антеннального и третьего грудного сегментов. Дальнейшее образование брюшных сегментов идет за счет зоны роста в последовательности: A1/A2 → A1, A2, A3/A4 → A1, A2, A3, A4, A5/A6 → ... , где полосы A1 и A2 производны от единственной широкой полосы A1/A2 и т.д. В итоге *pairberry* у шистоцерки экспрессируются в 19 полосах. Отметим, что у дрозофилы и хрущака имеет место сдвиг полос: A1 и A2 производны от T3/A1 и т.д. (Davis et al., 2001).

Кроме насекомых, гены двухсегментной периодичности найдены у ракообразных и хелицерных (Damen et al., 2000; Damen, 2002). У *Tetranychus urticae* отмечен ген *Tu-rax3/7* из PaxIII семейства, который, однако, показывает двухсегментную активность только в просоме. Сначала полосы появляются в четных парасегментах, отвечающих педипальпам, вторым и четвертым просомальным ногам, на втором этапе появляются вторичные полосы *Tu-rax3/7* в нечетных парасегментах, отвечающих первым и третьим просомальным конечностям (Dearden et al., 2002). У многоножек рода *Lithobius* ген *eve* проявляет себя в последовательных сегментах, образуемых зоной роста (Hughes & Kaufman, 2002b) и не показывает двухсегментной периодичности. Интересно, что у хордовых активность *eve* связана с хвостовой почкой.

Таким образом можно заключить, что оформление в процессе онтогенетического развития парасегментов в качестве компартментов, определяющих границы сегментов, является характерной особенностью развития членистоногих. Пока нет данных, что у аннелид образование парасегментов также предшествует сегментации (Shankland & Seaver, 2000; Seaver & Shankland, 2001). Что касается позвоночных, то у них выявлен гомолог *hairy*, который активен в мезодерме и также показывает периодический характер экспрессии при образовании сомитов (Dearden & Akam, 2000).

**Гены сегментной полярности** (Gerhart & Kirschner, 1997; Wolpert et al., 1998; Корочкин, 1999). Следующий шаг в развитии сегментации находится под контролем генов сегментной полярности (segment polarity). Эти гены задают границы будущих сегментов взрослых мух внутри парасегментов (рис. 10). Центральным в этой группе является ген *engrailed (en)*, который экспрессируется в передней части каждого парасегмента, и границы сегментов определяются по задней линии *en*-полос. Из рис. 10 видно, что сегменты сдвигаются относительно парасегментов на ширину *en*-полосы, что составляет примерно четверть длины сегментов. Между полосами экспрессии *en* проявляют активность гены *patched* и *wingless (wg)*. Последний активен в узкой полосе непосредственно перед областью экспрессии *en*. *Wingless* является сигнальным белком, и его экспрессия зависит от гена *hedgehog*, который активен в полосе действия гена *en*. Напомним (рис. 7 C), что *Wg (Wnt)*-сигнальный путь поддерживает экспрессию *en*. *En*-клетки в свою очередь секретируют белок *Nh*, который, попадая в соседние клетки, индуцирует там экспрессию *Wg*.

Другой момент, на котором важно заострить внимание, касается числа полос генов сегментной полярности. Ген *en* активен в ряде полос

и кпереди от парасегментов. Так, у дрозофилы передний конец первого парасегмента соответствует задней части мандибулярного сегмента, а из рис. 10 видно, что одна *en*-полоса присутствует кпереди от мандибулярного сегмента. В базальных группах насекомых таких *en*-полос оказывается три. Это означает, что к сегментам, определяемым генами двухсегментной периодичности, необходимо добавить еще три *en*-зависимых передних сегмента.

На завершающем этапе формирования сегментации включаются селекторные *Hox*-гены, которые определяют региональную специализацию сегментов и их придатков. Решению этой последней задачи способствует специфика коллинеарного размещения генов: в хромосоме они расположены и экспрессируются во времени в том порядке (в направлении:  $3' \rightarrow 5'$ ), в каком следуют определяемые ими сегменты у взрослых мух.

**Селекторные гомеозисные гены *Hom/Hox*-комплекса.** Под этим названием имеют в виду интересное семейство гомеобоксных (*Homeobox*) генов (подробнее смотри: Wolpert et al., 1998; Знойко и др., 1999; Корочкин, 1999; Зарайский, 2001). Как *Hom* обозначаются *Homeobox*-содержащие гомеозисные гены у *Drosophila*, а как *Hox* – *Homeobox*-содержащие гены у позвоночных. Ныне для обозначения генов данного класса чаще используется сокращение *Hox*, которого мы и будем придерживаться.

Под **селекторными** понимают регуляторные гены, которые включают и контролируют работу генетических каскадов других генов, специфицирующих внешне неразличимые компартменты (Wolpert et al., 1998). Все гомеозисные гены являются селекторными и определяют, в частности, судьбу сегмента: будет ли он грудным, имеющим ноги и крылья, или брюшным, лишенным придатков. Ген *engrailed*, не имеющий гомеозисного действия, также является селекторным и контролирует работу генов, специфицирующих задние края сегментов. Ранее употреблялась более широкая трактовка селекторных генов. К ним относили и регуляторные гены, определяющие компартменты, т.е. переключающие развитие клеток по новому пути (смотри, например, Gerhart & Kirschner, 1997, p. 240; Корочкин, 1999, с. 112). В этом значении все рассмотренные нами гены, от материнских до генов *Hox*-комплекса, будут селекторными. Мы склоняемся к более узкой трактовке, поскольку в этом случае снимаются сложности с разграничением понятий селекторного гена и регуляторного гена в развитии.

До сравнительно недавнего времени в *Hox*-комплекс дрозофилы включали лишь гомеозисные гены. Сейчас по филогенетическим осно-

ваниям к 8 гомеозисным генам дрозофилы добавлены еще четыре, отличающиеся по своим функциям (Falciani et al., 1996; Coulier et al., 2000; Jagla et al., 2001; Stauber et al., 2002). В отличие от большинства других генов развития, разбросанных по всему геному, *Hox* гены *Drosophila* распадаются на два пространственно очерченных кластера, Antennapedia и Bithorax. Первый включает гены *labial*, *proboscipedia*, *\*zerknyllt*, *\*zerknyllt2*, *\*bicoid*, *Deformed*, *Sex comb reduced*, *\*fushi tarazu* и *Antennapedia*; второй – *Ultrabithorax*, *abdominal-A* и *Abdominal-B* (звездочкой обозначены гены без гомеозисного действия). Отметим, что не все гомеобоксные гены относятся к числу *Hox* генов (табл. 2).

У беспозвоночных и у ланцетника *Hox* гены собраны внутри хромосомы в один коллинеарный кластер. Однако у миноги имеются три, а у тетрапод – четыре полных набора *Hox* генов (у костистых рыб еще больше: Aparicio, 2000), расположенных в разных хромосомах (подробнее смотри Корочкин, 1999; Зарайский, 2001). Такая тандемная дупликация позволяет использовать новые копии генов для освоения новых возможностей без нарушения устоявшихся путей развития.

В некоторых случаях активность *Hox* генов может быть подавлена. Это было показано, например, для пурпурного морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* (Arenas-Mena et al., 1998; Wray & Lowe, 2000), у которого из семи *Hox* генов шесть никак не проявляют себя в эмбриогенезе. Удивительно то, что у билатеральной личинки иглокожих *Hox* гены также не показывают активности. Петерсон и Дэвидсон (Peterson & Davidson, 2000) связывают этот факт с иным механизмом генетического регулирования ранних этапов эмбриогенеза у животных с непрямым развитием. Вместо региональной, контролируемой *Hox* генами спецификации клеток с выделением компарментов, у них имеет место спецификация клеток с первых делений яйца. Соответственно, клеточные линии разделяются по своему происхождению, и при таком механизме *Hox* гены не требуются.

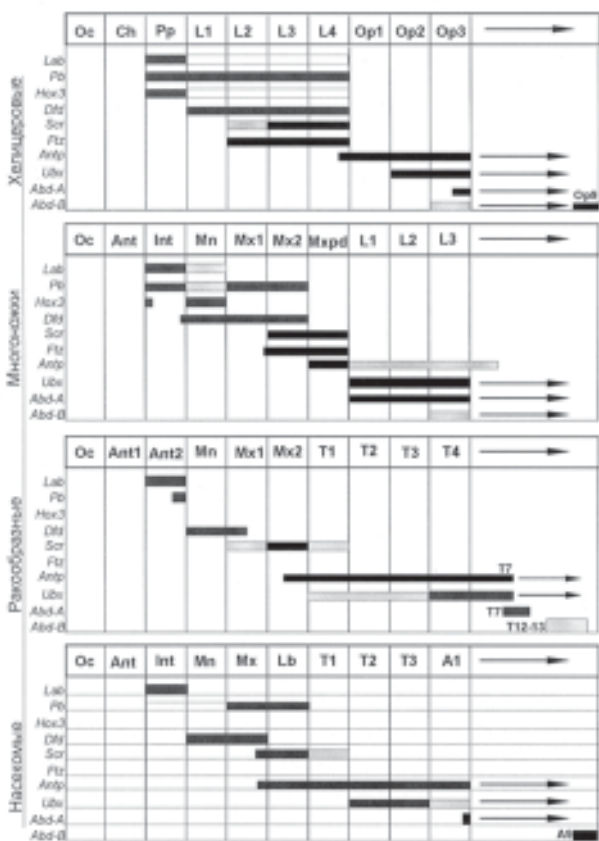
Рассмотрим последовательно области и уровни экспрессии *Hox* генов, сначала на примере дрозофилы, затем в эмбриогенезе других насекомых и, наконец, у некоторых модельных видов из других групп членистоногих (рис. 11). При изложении материала мы будем опираться в первую очередь на обзорные работы, в которых суммированы основные данные (Hughes & Kaufman, 2002a, b, c; Minelli et al., 2000; Minelli, 2001). Как уже было отмечено, *Hox* гены по очередности и времени действия образуют коллинеарную последовательность. Первым в списке идет ген *labial*.

**Ген *labial*.** У *Thermobia domestica* этот ген активен в интеркалярном сегменте, а у крылатых насекомых, кроме того, в периферийной нервной системе, а также в дорсальном гребне головы (Rogers & Kaufman, 1997; Nie et al., 2001). Название выбрано не совсем удачно и связано с тем, что мутация в гене сопряжена с недоразвитием ряда компонентов нижней губы. Однако гомеозисного эффекта с замещением одной структуры на другую здесь нет, поскольку такое недоразвитие обусловлено выпадением ряда вентральных склеритов головы. У мокрицы *Porcellio scaber* ген экспрессируется в сегменте вторых антенн, соответствующем интеркалярному сегменту (Abzhanov & Kaufman, 1999a).

У косянки *Lithobius* область экспрессии гена шире и охватывает интеркалярный сегмент и переднюю половину мандибулярного (Hughes & Kaufman, 2002a). Кроме того, сильная экспрессия наблюдается в лабруме, что может быть расценено как свидетельство связи лабрума с интеркалярным сегментом (Haas et al., 2001a, b). Наконец, у хелицерных *labial* активен в пяти сегментах, начиная с сегмента педипальп; возможно, это говорит в пользу соответствия сегмента педипальп интеркалярному сегменту насекомых и многоножек или сегменту вторых антенн ракообразных (Damen et al., 1998; Telford & Thomas, 1998a). Однако к предложению гомологизировать сегмент педипальп с интеркалярным сегментом мандибулат некоторые авторы (например: Abzhanov et al., 1999) отнеслись настороженно, полагая, что области экспрессии *Hox* генов могут в процессе эволюции сдвигаться.

В целом можно отметить, что область экспрессии гена *labial* в ходе эволюции сужается по направлению от исходных к продвинутым группам.

**Ген *proboscipedia (pb)*.** У дрозофилы этот ген проявляет себя в максиллярном и нижнегубном сегментах. Недостаток его экспрессии ведет к редукции у взрослых мух щупиков и превращению нижней губы в ноги. У базальных групп насекомых область экспрессии *pb* шире и начинается с интеркалярного сегмента. Та же картина наблюдается у ракообразных (данные по *Porcellio scaber*), где роль интеркалярного выполняет сегмент вторых антенн (Abzhanov & Kaufman, 1999a). Сходно поведение гена и у *Lithobius*, у которой под его действием находится не только интеркалярный сегмент, но и верхняя губа (Hughes & Kaufman, 2002a). Некоторые насекомые показывают иной тип экспрессии. Так, для клопа *Oncopeltus* характерна очень слабая активность *pb* в максиллярном сегменте; в максиллярных придатках экспрессия практически отсутствует, что связывают с сильной модифи-



**Рис. 11.** Экспрессия *Hox* генов в разных группах членистоногих (по Hughes & Kaufman, 2002c).

Сегменты: *A* – брюшные; *Ant* – антеннальный; *Ch* – хелицеральный; *Int* – интеркалярный; *Lb* – нижнегубной; *Mn* – мандибулярный; *Mx* – максиллярный; *Mxpd* – ногочелюстной; *Oc* – окулярный; *Op* – опистосомальные; *Pp* – педицель; *T* – грудные у насекомых, туловищные у ракообразных. *Hox* гены: *Lab* – labial, *Pb* – proboscipedia, *Dfd* – deformed, *Scr* – Sex comb reduced, *Ftz* – fushi tarazu, *Antp* – Antennapedia; *Ubx* – ultrabithorax, *Abd-A* – abdominal-A, *Abd-B* – Abdominal-B.

кацией присущего клопам ротового аппарата сосущего типа (Rogers & Kaufman, 1997; Rogers et al., 2002).

**Ген *Hox-3*.** Название говорит о том, что этот ген является третьим в *Hox* комплексе. У дрозофилы он потерял функцию гомеозисного и дублицировался, причем каждая из трех действующих копий получила свое название. Наиболее важным из них является ген *bicoid*, активность которого сдвинута на более ранние этапы развития. Мы уже говорили о *bicoid* как о ключевом гене, определяющем передне-заднюю ось тела. Из двух других генов, *zerknyllt (zen)* и *zerknyllt2 (zen2)*, первый экспрессируется в экстраэмбриональной амниосерозе, тогда как функция второго пока не определена. Гомеобоксный ген *bicoid (bcd)* участвует в установлении передне-задней оси тела не только у дрозофилы, принадлежащей к продвинутым круглошовным двукрылым, но и у *Megaselia abdita*, представителя примитивных круглошовных двукрылых из группы бесщелевых (Stauber et al., 2000). Однако среди стоящих ниже прямошовных мух и комаров, а также в других группах насекомых этот ген не найден. Его функцию здесь, возможно, выполняет ген *zen* (Stauber et al., 2002). У дрозофилы последний находится внутри гомеозисного комплекса, располагаясь вместе с дублицированными генами третьим в ряду сразу за *proboscipedia*, и экспрессируется в дорсальной сфере яйца, участвуя в определении дорсо-вентральной оси тела. Однако у низших двукрылых, а также у жука-хрущака *Tribolium* ген *zen* активен в передней части яйца, что свидетельствует об изменении им своей функции у круглошовных мух. Сравнение гомеодоменов белков Bcd и Zen показало их близость, и это дало основание считать, что отвечающий первому белку ген возник в результате дубликации *zen* (Stauber et al., 1999; Patel, 2000). Таким образом, дубликация генов *zen* с образованием нового гена *bicoid*, приобретшего новую функцию, произошла при становлении круглошовных двукрылых.

**Fig. 11.** Expression of *Hox* genes in Arthropoda (adapted from Hughes & Kaufman, 2002c).

Segments: *A* – abdominal; *Ant* – antennal; *Ch* – chelicerae; *Int* – intercalary; *Lb* – labial; *Md* – mandibular; *Mx* – maxillary; *Mxpd* – maxillipedal; *Oc* – ocular; *Op* – opisthosomatic; *Pp* – pedipalpal; *T* – thoracic in Insecta, trunk in Crustacea. *Hox* genes: *Lab* – labial, *Pb* – proboscipedia, *Dfd* – deformed, *Scr* – Sex comb reduced, *Ftz* – fushi tarazu, *Antp* – Antennapedia; *Ubx* – ultrabithorax, *Abd-A* – abdominal-A, *Abd-B* – Abdominal-B.



Гены *zen* и *zen2* были найдены также у *Tribolium* и *Schistocerca*, причем первый ген имеет ту же функцию, что и в геноме дрозофилы (Falciani et al., 1996). Однако все эти три представителя насекомых отличаются распределением экстраэмбриональных тканей: в передней части яйца у *Tribolium*, в задней – у *Schistocerca*, вдоль дорсальной поверхности – у *Drosophila*. Отметим еще, что мутация в гене *zen* ведет к недоразвитию зародышевой полоски.

У пауков и клещей *Hox-3* действует в типичной для данного комплекса манере, не выделяясь среди других гомеозисных генов (Damen & Tautz, 1998; Telford & Thomas, 1998b), и экспрессируется в сегментах от педипальп до опистосомы. У *Lithobius* этот ген выражается в интеркалярном и мандибулярном сегментах (Hughes & Kaufman, 2002a). Надежных данных по ракообразным в настоящее время нет, поэтому пока нельзя сказать, на каком этапе эволюции от ракообразных к базальным (стоящих ниже Orthoptera) группам насекомых произошла смена функции *Hox-3*.

**Ген *Deformed (Dfd)*.** У дрозофилы этот ген экспрессируется в мандибулярном и максиллярном сегментах, а также в задней части интеркалярного сегмента, дающей клетки головного мозга. Кроме того, *Dfd* обнаруживается в клетках антеннально-глазного диска, дающих отдельные элементы головной капсулы. Сведения по другим насекомым (*Tribolium*, *Oncopeltus*, *Apis mellifera*, *Thermobia*) существенно не отличаются от того, что показано для дрозофилы (Rogers & Kaufman, 1997; Brown et al., 1999, 2000; Rogers et al., 2002; Walldorf et al., 2000). У *dfd*-мутантов *Oncopeltus* мандибулы преобразуются в подобие антенн.

У мокрицы *Porcellio Dfd* экспрессируется в эктодерме парагнат, а также в мезодерме латеральных мандибулярных придатков (Abzhanov & Kaufman, 1999a). У *Lithobius* он проявляется в трех сегментах, от заднего края интеркалярного до максиллярного (Hughes & Kaufman, 2002a). У пауков этот ген активен во всех бегающих ногах, а у клещей еще и в опистосоме (Damen et al., 1998; Telford & Thomas, 1998b).

Ген *Dfd*, равно как и другие рассмотренные ранее гены, вызывает уменьшение области генетической компетенции. Специалисты видят в этом возможность увеличения числа генетических кодов, что и могло создать предпосылки для диверсификации ротовых аппаратов, поражающих своим разнообразием у насекомых (Hughes & Kaufman, 2002c).

**Ген *Sex comb reduced (Scr)*.** Этот ген активен у дрозофилы в интервале от задней части максиллярного до передней части первого грудного сегментов. У *Oncopeltus*, *Acheta* и *Thermobia* область его

экспрессии в первом грудном сегменте ограничена одним или двумя небольшими латеро-вентральными пятнами, а также дорсальным участком, активность гена в котором, как предполагают, подавляет развитие проторакальных крыльев у двух первых насекомых (Rogers et al., 1997; Walldorf et al., 2000).

У *Porcellio Sc* экспрессируется сходным образом, от максиллярного сегмента до сегмента ногочелюстей (Abzhanov & Kaufman, 1999b). У многоножек он активен в сегментах вторых максилл и ногочелюстей (Hughes & Kaufman, 2002a). Наконец, у клещей ген проявляет себя во второй и третьей парах ног, а у пауков еще и в четвертой паре ног (Telford & Thomas, 1998a; Abzhanov et al., 1999).

**Ген *fushi tarazu (ftz)*.** У дрозофилы этот ген потерял гомеозисную роль и экспрессируется в семи полосах как ген двухсегментной периодичности. Такая его функция наблюдается и у жуков (*Tribolium*), но в иной временной последовательности. У *Schistocerca* он активен в полосе вдоль зоны роста.

У саккулины (*Sacculina carcini*) из усонюгих ракообразных ген *ftz* также не является гомеозисным (Mouchel-Vielh et al., 1998). У многоножек он выполняет в разные периоды развития несколько функций, в том числе и гомеозисную (Hughes & Kaufman, 2002b). Гомеозисная функция *ftz* характерна для клещей, у которых ген активен во второй и третьей парах ног (Telford, 2000).

Таким образом, исходно ген *ftz* у членистоногих был гомеозисным, но в дальнейшем эта функция была им утеряна. У насекомых с полным превращением в гомеодомене Ftz отсутствует один важный мотив (смотри раздел 2.2), который, возможно, и отличает белки с гомеозисным эффектом (Lühr et al., 2001). Лишившись основной своей функции, этот ген приобрел другую, связанную с определением парасегментов.

**Ген *Antennapedia (Antp)*.** У эмбриона дрозофилы этот ген вначале экспрессируется от нижнегубного до первого брюшного будущих сегментов, но в дальнейшем область его действия ограничивается лишь грудными сегментами. Еще позже экспрессия уменьшается в боковых частях второго и третьего сегментов. В имагинальных тканях личинки *Antp* проявляет свое действие во всех грудных дисках, отвечающих ногам, крыльям и жужжальцам. Распределение *Antp* у чешуекрылых и перепончатокрылых близко к таковому у мух (Zheng et al., 1999; Walldorf et al., 2000). У *Tribolium* гомолог *Antp* называется *prothoraxless* (Brown et al., 2002). Мутация по этому гену вызывает слияние торакса с головой и трансформацию конечностей в антенны (Beeman et al.,

1993). У *Schistocerca* ген *Antp* проявляет активность в груди и брюшке, тогда как у *Thermobia* экспрессия *Antp* в брюшке отмечена лишь на ранних этапах развития (Peterson et al., 1999).

Распределение *Antp* у ракообразных (*Artemia*, *Porcellio*, *Procambarus*) не отличается существенно от такового у насекомых (Averof & Akam, 1995; Abzhanov & Kaufman, 2000a, 2000b). У *Lithobius* ген сначала активен во всех сегментах, начиная с сегмента ногочелюстей, но позже позади четвертого туловищного сегмента он не обнаруживается (Hughes & Kaufman, 2002a). У пауков и клещей ген активен во всех сегментах, начиная с сегмента четвертой пары ног (Damen et al., 1998; Telford & Thomas, 1998a).

Таким образом, если у хелицероных экспрессия гена *Antp* охватывает опистосому, то в продвинутых группах членистоногих она оказывается связанной лишь со срединными сегментами. Это ограничение области компетенции гена, по мнению некоторых авторов (Hughes & Kaufman, 2002c), могло быть главной причиной образования средней тагмы: торакса у насекомых, переона у *Porcellio* и батарееи ногочелюстей у *Procambarus*.

**Ген *Ultrabithorax (Ubx)*.** У дрозофилы область компетенции гена в груди ограничена задней частью второго и третьего сегментов, а в брюшке – первыми восемью сегментами. В имагинальных закладках у личинки *Ubx* обнаруживается в периферийных клетках дисков второй и третьей пар ног, крыльев и жужжалец. Мутации в *Ubx* различаются по своему эффекту и получили разные названия: *anterobithorax*, *bithorax*, *bithoraxoid (bx)*, *Contrabithorax (Cbx)*, *Ultrabithorax*, *postbithorax (pbx)*. Например, мутация *bx* превращает первый сегмент брюшка в третий грудной, *cbx* – второй грудной в третий, *pbx* – третий грудной во второй (Льюин, 1985, табл. 20.1). В брюшке *Ubx* и следующий за ним ген *abd-A* подавляют активность *Distalless*, являющегося ключевым фактором в развитии ног. У гусениц же некоторых чешуекрылых (*Manduca sexta*, *Precis coenia*) образуются круговые участки, свободные от *Ubx* и *abd-A*; эти участки показывают экспрессию *Dll* и именно на этих местах образуются проноги (Suzuki & Palopoli, 2001). Впрочем, другие авторы не нашли разрывов в распределении *Ubx* и *abd-A* у *M. sexta* (Zheng et al., 1999).

За пределами крылатых насекомых *Ubx* и *abd-A* не подавляют транскрипцию *Dll*, что связано с развитием в этих группах членистоногих брюшных придатков (из первичнообескрылых исследовались коллемболы: Palopoli & Patel, 1998). Исходно функция подавления активности *Dll* возникла, очевидно, у гена *abd-A*, о чем свидетельствуют

данные изучения *Schistocerca* и *Tribolium*, но в последующей эволюции ту же функцию приобрел и ген *Ubx*. Это показано, в частности, для двукрылых и чешуекрылых (Suzuki & Palopoli, 2001).

Различные ракообразные имеют специализированные ноги, используемые для сбора пищи и называемые ногочелюстями. Оказалось (Averof & Patel, 1997), что передняя граница экспрессии *Ubx* и *Abd-A* проходит у них по границе между сегментами, несущими ногочелюсти и локомоторные ноги.

У пауков *Ubx* экспрессируется в сегментах опистосомы, начиная со второго (Damen et al., 1998; Abzhanov et al., 1999). Такое же распределение *Ubx* показано для скорпиона *Paruroctonus* и мечехвоста *Limulus* (Popadi & Nagy, 2001). Наконец, у онихофор ген *Ubx* активен в двух концевых сегментах, лишенных конечностей (Grenier & Cartoll, 2000).

Поскольку у насекомых ген *Ubx* активен в третьем грудном сегменте и в преабдомене, можно предположить, что в эволюции членистоногих произошло расширение области экспрессии этого гена кпереди, и это, видимо, повлекло за собой потерю части конечностей.

**Ген *abdominal A (abd-A)*.** У дрозофилы этот ген экспрессируется в брюшке с первого до восьмого сегмента, возможно, со слабым проявлением в девятом сегменте (Brodu et al., 2002). Его активность в задней части брюшка подавляется *Abd-B*. У мутантов по *Abd-B* девятый сегмент развивается полностью. У других исследованных насекомых (*Tribolium*, *Thermobia*) ген также проявляет себя лишь в брюшке (Shippey et al., 1998; Peterson et al., 1999).

**Ген *Abdominal B (Abd-B)*.** В развитии дрозофилы ген имеет две функции, морфогенетическую и регуляторную, каждая из которых определяется своей изоформой белка *Abd-Bm* и *Abd-Br* (Hughes & Kaufman, 2002c). Первая изоформа присутствует только в терминалиях самки, вторая – только в гениталиях самца. Ген исключительно важен для развития генитального аппарата (Estrada & Sánchez-Herrero, 2001); в частности, его белки комплексируются с белками *Doublesex (Dsx)*, существующими также в двух изоформах, и включают сигнальные системы *dpp* и *wg*, необходимые для развития склеритов терминалий у обоих полов (Sánchez et al., 2001; Gorfinkiel et al., 2003).

Изменения в уровнях и последовательности экспрессии *Hox* генов ведут к изменению морфотипа. Например, у ракообразных (данные по *Artemia*) имеет место совмещение областей экспрессии туловищных *Hox* генов *Antennapedia*, *Ultrabithorax* и *Abdominal-B* в тораксе, тогда как у насекомых (*Drosophila*) области экспрессии этих генов в грудном отделе не пересекаются, причем первый ген специфицирует

передне- и среднегрудь, а второй ген – заднегрудь и, совместно с третьим геном, – преабдомен (т.е. брюшко, исключая генитальные сегменты). Таким образом, можно заключить, что в генетическом плане тораксу *Artemia* отвечает грудь и преабдомен насекомого (Wolpert et al., 1998). Брюшко *Artemia* в таком случае соответствует постгенитальным сегментам насекомых.

В свое время совмещение областей экспрессии у *Artemia* сочли за исходное состояние (Averof & Akam, 1995). Было сделано предположение, что членистоногие как группа оформились в процессе последовательной дупликации единственного туловищного гена типа *Antp* без изменения на первых порах функции новых генов. Соответственно *Artemia* сохранила исходный тип экспрессии, а отсюда гомономность ее торакальных сегментов, тогда как у насекомых функция новых генов претерпела индивидуальную спецификацию, что и повлекло столь существенные различия в грудных сегментах. Однако сейчас, после получения данных по другим ракообразным (Abzhanov & Kaufman, 1999b, 2000a, b) и хелицеровым (Damen et al., 1998; Abzhanov et al., 1999) с этим трудно согласиться. В самом деле, у мокрицы *Porcellio scaber* области экспрессии *Antp*, *Ubx* и *abd-A* образуют дискретные домены (Abzhanov & Kaufman, 2000), а тип экспрессии у хелицеровых оказался очень близким к таковому у насекомых. Все это свидетельствует в пользу того, что как раз тип экспрессии насекомых и хелицеровых и показывает плезиоморфное состояние.

Интересные результаты дали первые работы по анализу *Hox* генов у хелицеровых (Damen et al., 1998; Abzhanov et al., 1999). Традиционно к просоме хелицеровых относили семь сегментов, которые могут быть сопоставлены с пятью головными и двумя торакальными (или туловищными) сегментами у ракообразных, насекомых и многоножек. Область экспрессии первого исходно туловищного гена *Antp* во всех четырех группах совпадает; он отделяет торакальную (туловищную) часть тела от головной. Поэтому, принимая во внимание структуру комплекса *Hox* генов, просома («голова») хелицеровых должна содержать не более шести сегментов. Шестой сегмент просомы, отвечающий первому грудному сегменту насекомых, находится в особом положении. У всех членистоногих этот сегмент лишь в задней своей части определяется *Antp*, тогда как у хелицеровых (Damen et al., 1998) область экспрессии головного гена *deformed* охватывает весь шестой сегмент, за счет чего последний, видимо, и включается (можно сказать, перетягивается) в головной отдел.

## 5. Структура сегментации у насекомых

### 5.1. Протоцефалон и туловищные сегменты

Из схемы на рис. 10, показывающей экспрессию генов двухсегментной периодичности, видно, что эти гены определяют не все множество сегментов. Отметим, в частности, предротовые головные сегменты, которые не затрагиваются генетическим каскадом, начинающимся от генов двухсегментной периодичности и заканчивающимся гомеозисными генами *Hox* комплекса (рис. 11). Это означает, что сегментация у дрозофилы задается двумя разными механизмами. Один из них связан с генами двухсегментной периодичности, которые определяют даже не сегменты, а границы парасегментов; лишь на втором этапе имеет место переход от парасегментов к сегментам. Второй механизм образования сегментов работает вне действия генов двухсегментной периодичности и, следовательно, не связан с образованием парасегментов. Сразу заметим, что ген *en*, экспрессию которого мы сравнивали с *eve* и *ftz*, на самом деле является вторичным геном, действующим внутри уже заданных сегментов. Он не определяет сегменты, но лишь маркирует их в качестве фактора, выделяющего внутри них компартменты.

Таким образом, мы можем говорить о сегментах, возникающих кпереди от парасегментов и маркируемых *en*. Сколько может быть таких сегментов? У дрозофилы *en* выражается в одной полосе, а у многоножек и ракообразных таких полос насчитывается три. Можно допустить, что кпереди от парасегментов закладываются исходно три сегмента, которые Минелли (Minelli, 2001) назвал науплиальными. У насекомых эти сегменты определяются тремя головными пробелвызывающими генами, а именно *orthodenticle*, *empty spiracles* и *buttonhead* (рис. 12 А). Мы уже говорили о них в соответствующем разделе и подчеркнули, что их следует рассматривать отдельно от всех «туловищных» генов. По своему поведению они настолько отличаются от пробелвызывающих генов, что некоторые авторы зачисляют их в группу генов сегментной полярности, а другие (Gerhart & Kirschner, 1997) видят в них гомеозисное дополнение к *Hox* генам.

Можно утверждать, что у насекомых сегменты определяются несколькими головными генами и каскадом туловищных генов от материнских до *Hox*-комплекса. Головные гены определяют три первых сегмента (протоцефалон по: Snodgrass, 1935), которые, видимо, и входили в исходный состав головы у далеких предков насекомых. Этот сценарий находит поддержку в данных по самым ранним этапам

становления животной (=метазойной) организации. У исходных для Bilateria форм значение имели *Lim* и *Paired (Prd)* классы генов, играющих ключевую роль в становлении «головы» животного; иными словами, головные гены в организации животных возникли первыми. И только позже, на следующих этапах эволюции билатеральных животных, стал формироваться комплекс туловищных генов, включая *Hox* гены (Peterson & Davidson, 2000). Об этом уже шла речь в первом разделе.

Минелли (Minelli, 2000a, 2001) отметил еще один аспект в проблеме сегментации у членистоногих, обратив внимание на характер проявления генов двухсегментной периодичности. Так, например, экспрессия гена *eve* распадается на две фазы. Сначала появляются семь полос, между которыми позже образуются дополнительные, чуть более широкие *eve*-полосы, в сумме дающие 13 (по другим данным 14) полос. Минелли сделал предположение о двухфазном механизме сегментации: сначала образуются парасегменты в числе семи, а затем каждый парасегмент, кроме первого, делится на два новых. Сегменты, отвечающие первой группе парасегментов, он назвал основными или эосегментами. Сегменты же, отвечающие более дробному делению парасегментов, были названы меросегментами. По существу, им было дано первое объяснение столь странного характера поведения генов двухсегментной периодичности.

Основываясь на данных по разным группам членистоногих, Минелли (Minelli, 2001) определил следующую базовую структуру сегментации. У членистоногих три первых сегмента (науплиальные) закладываются вне действия генов двухсегментной периодичности и соответствуют первым трем головным сегментам. Следующие сегменты возникают через образование сначала основных парасегментов, которые затем делятся на то или иное количество дополнительных сегментов. Число основных парасегментов и отвечающих им эосегментов у членистоногих постоянно и равно десяти. У насекомых насчитывается 17 постнауплиальных меросегментов, которые получаются из эосегментов по следующей формуле:

$1(I) + 2(II-VIII) + 1(IX-X) = 1 + 2 \times 7 + 1 \times 2 = 17$ , где римскими цифрами в скобках указаны номера эосегментов, а перед скобками – коэффициент, на который следует умножить число эосегментов, чтобы получить значение числа меросегментов.

У ракообразных формула для вычисления меросегментов будет иметь следующий вид:

для высших (Eumalacostraca):  $2(I-VII) + 1(VIII-X) = 2 \times 7 + 1 \times 3 = 17$ , т.е. всего, считая науплиальные, 20 сегментов, как и у насекомых;

для тонкопанцирных (Leptostraca, Phyllopora):  $2(I-VIII) + 1(IX-X) = 2 \times 8 + 1 \times 2 = 18$ , всего 21 сегмент.

Приведем аналогичные формулы для других групп членистоногих:

для анаморфных губоногих (*Lithobius*, *Scutigera*):  $2(I-X) = 2 \times 10 = 20$ , всего 23 сегмента;

для эпиморфных губоногих (*Scolopendra*):  $2(I-III) + 3(IV-IX) + 2(X) = 2 \times 3 + 3 \times 6 + 2 = 26$ , всего 29 сегментов;

для мечехвоста (*Lumulus*):  $1(I-X) = 10$ , всего 13 сегментов.

## 5.2. Структура головных сегментов

Под головой у членистоногих обычно имеют в виду передний отдел тела, не несущий локомоторных конечностей (Snodgrass, 1951). У мандибулат (насекомые, многоножки и ракообразные) голова хорошо выражена. У паукообразных передняя тагма несет локомоторные конечности, и ее называют просомой.

В составе головы различают протоцефалон, охватывающий передние сегменты до интеркалярного (сегмента антенн II) включительно. Этот отдел обособляется уже при первом делении зародышевой полоски на протоцефалон и эмбриональное туловище (протококорм). У взрослых насекомых в состав головы кроме него входят еще три гнатальных сегмента.

Разные исследователи приводят различное число головных сегментов. Так, Будро (Boudreaux, 1979), суммируя точки зрения многих старых авторов (из отечественных исследователей – В.Н. Беклемишева и П.П. Иванова), говорит о четырех сегментах у насекомых. Некоторые авторы (Шванвич, 1949; Ах, 1999; Ключе, 2000) принимают для членистоногих пять головных сегментов, которым предшествует акрон. Акрон они соотносят с протоцеребральной областью, т.е. включают в него глаза и глазки. После акрона идет антеннальный, или дейтоцеребральный сегмент, связанный с дейтоцеребральным отделом мозга. Следующим является интеркалярный, или тритоцеребральный, сегмент (сегмент вторых антенн у ракообразных), отвечающий тритоцеребральному отделу мозга. Заключают голову три гнатальных сегмента: мандибулярный, максиллярный и лабиальный (нижнегубной). Ряд авторов отрицают наличие у членистоногих акрона и то, что принимают обычно за акрон, считают первым головным сегментом, называемым окулярным, или протоцеребральным. В этом последнем случае голова членистоногих рассматривается в составе шести сегментов.



Иногда между мандибулярным и максиллярным сегментами различают так называемый суперлингвальный сегмент, отвечающий гипофаринксу, который у первичнобескрылых и личинок поденок и ухверток несет пару латеральных лопастей (суперлингв). Суперлингвы при этом сопоставляются с парагнатами ракообразных. Существование такого сегмента, однако, не находит подтверждения в данных генетики развития.

В общем виде можно сказать, что мнения исследователей в отношении последовательности сегментов не совпадают в тех случаях, когда отсутствуют маркеры в виде придатков.

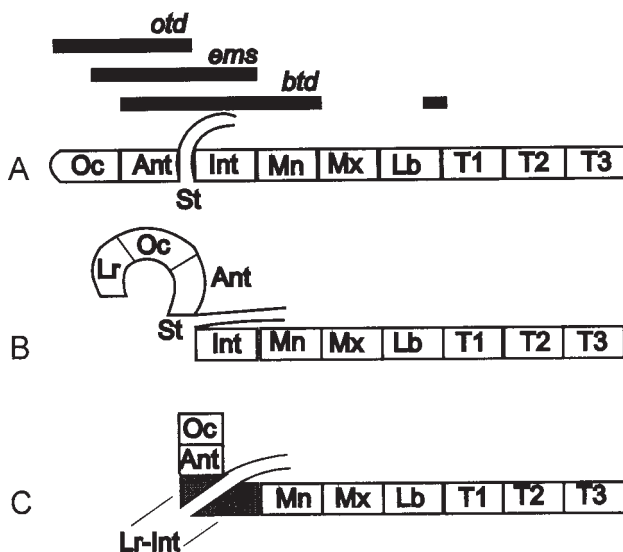
Коснемся теперь так называемого лабрального сегмента. Верхняя губа представляет собой склерит, прикрывающий спереди ротовое отверстие и являющийся продолжением клипеуса. Вопрос о происхождении верхней губы постоянно дебатировался; некоторые авторы видят в ней слившиеся придатки либо самого переднего головного сегмента (Rempel, 1975), либо, если говорить о насекомых, интеркалярного сегмента (Butt, 1960). Первая точка зрения, видимо, противоречит новым данным по экспрессии генов *en* и *wg* кпереди от антеннального сегмента. Последнее свидетельствует о сегментной природе глазной области, т.е. подтверждает существование окулярного сегмента.

Если верхняя губа представляет собой слившиеся придатки, то их следует признать крайне атипичными. Во-первых, эктопическая экспрессия *Antennapedia* не индуцирует, по аналогии с усиками, гомеозисных преобразований верхней губы в торакальные конечности. Во-вторых, в верхней губе как насекомых, так и ракообразных, не отмечено активности *engrailed*, которая есть в ногах и крыльях. Недавно в верхней губе хелицероных, ракообразных и насекомых была показана экспрессия *Dll* (Popadic et al., 1998), что говорит в пользу ее аппендикулярной природы.

С другой стороны, интеркалярный сегмент у насекомых в известном смысле также атипичен. В нем просматривается экспрессия *en* и *wg*, но нет активности *Dll*. Последнее можно объяснить тем, что интеркалярный сегмент не несет придатков. В сравнительном плане отметим, что для сегмента вторых антенн ракообразных активность *Dll* показана.

Серьезные доводы в пользу существования лабрального сегмента привели Шмидт-Отт и Технау (Schmidt-Ott & Technau, 1992; Schmidt-Ott et al., 1994), основываясь на анализе распределения транскриптов *En* и *Wg*. Они, правда, расположили его кпереди от окулярного (рис. 12 В), что вызвало ряд возражений. Позже, с учетом

новых данных, существование лабрального сегмента было подтверждено (Haas et al., 2001a, b), но при этом было высказано предположение, что верхняя губа представляет собой слившиеся придатки не самого переднего, а интеркалярного сегмента. Серьезным аргументом против принятия такого предположения является то обстоятельство, что верхняя губа и интеркалярный сегмент находятся по разные стороны от передней кишки. И не случайно авторы, принявшие аппендикулярную природу верхней губы (Schmidt-Ott & Technau, 1992, и др.), помещали лабральный сегмент перед окулярным и принимали исходное



**Рис. 12.** Структура головных сегментов насекомых по традиционным современным источникам (A), по данным Schmidt-Ott & Technau, 1992 (B) и Haas et al., 2001a (C) (за основу взят рисунок из последней работы).

Сегменты: *Lr* – верхнегубной; *Lr-Int* – лабро-интеркалярный; сокращения для других сегментов как на рис. 11. *St* – стомодеум. Область экспрессии генов (показанная черными полосами): *btd* – buttonhead; *ems* – empty spiracles; *otd* – orthodenticle.

**Fig. 12.** Structure of head segments in Insecta based on a number of traditional contemporary sources (A), from Schmidt-Ott & Technau, 1992 (B) and Haas et al., 2001a (C) (principally after Haas et al., 2001a).

Segments: *Lr* – labral; *Lr-Int* – labro-intercalary; abbreviations for other segments as in Fig. 11. *St* – stomadeum. Region of gene expression (shown by the black blocks): *btd* – buttonhead; *ems* – empty spiracles; *otd* – orthodenticle.

число головных сегментов в количестве не менее семи (рис. 12 В): три впереди и четыре позади стомадеума. Интеркалярную природу верхней губы трудно согласовать с наличием у ракообразных одновременно и верхней губы, и вторых антенн.

Тем не менее, интеркалярная природа верхней губы находит все новые подтверждения. Наиболее впечатляющим доказательством связи верхней губы с интеркалярным сегментом является гомеозисная мутация *Antennagalea-5* у жука *Tribolium castaneum* (Haas et al., 2001a), которая превращает антеннальные и верхнегубные структуры в образования, похожие на гнатальные придатки следующих сегментов.

Был предложен (Haas et al., 2001a) следующий сценарий разделения лабро-интеркалярного сегмента (рис. 12 С). В исходном состоянии у предков современных членистоногих предротовые сегменты находились на одной оси с послеротовыми. Ротовое отверстие имело субтерминальное положение и было обращено вниз к субстрату. В последующей эволюции предротовые сегменты начали изгибаться вверх, и ротовое отверстие стало открываться вперед, т.е. оказалось практически терминальным. Эндиты (мезальные лопасти) придатков интеркалярного сегмента под давлением мандибул начали сдвигаться кпереди и утратили морфологическую связь с телоподитом интеркалярного сегмента. Впоследствии они слились и образовали переднее прикрытие рта. У ракообразных телоподиты сохранились в виде вторых антенн.

Рассмотренные выше данные по экспрессии генов свидетельствуют, что кпереди от парасегментов, т.е. в области действия генов двухсегментной периодичности, имеется три сегмента. Поскольку первый парасегмент отвечает будущему мандибулярному сегменту, то речь может идти об окулярном, антеннальном и интеркалярном передних сегментах. Попытаемся соотнести их с ларвальными сегментами.

Понятие ларвальных сегментов отражает особенности эмбриональной закладки передних сегментов, возникающих в результате одновременного расчленения зародыша. Ларвальным сегментам противопоставляют постларвальные, которые связаны с зоной роста и возникают путем последовательного обособления по мере нарастания туловища. Сразу заметим, что единства среди исследователей в отношении числа ларвальных сегментов нет. Л.В. Пучкова (1972) говорит о трех передних ларвальных сегментах, но в их число она не включает интеркалярный сегмент. Следовательно, принимаемая ею схема не вписывается в общую картину, составленную выше по генетическим основаниям. О.А. Мельников (1974), возражая Пучковой, насчитывает шесть передних ларвальных сегментов. Многие считают ларвальными

и три науплиальных сегмента, что совпадает с морфогенетической трактовкой последних.

Подобный разброс мнений, как нам кажется, связан с тем, что понятия ларвальных и постларвальных сегментов описывают явления внешне сходные, но различающиеся по механизмам определения сериальной специфики эмбриона вдоль передне-задней оси.

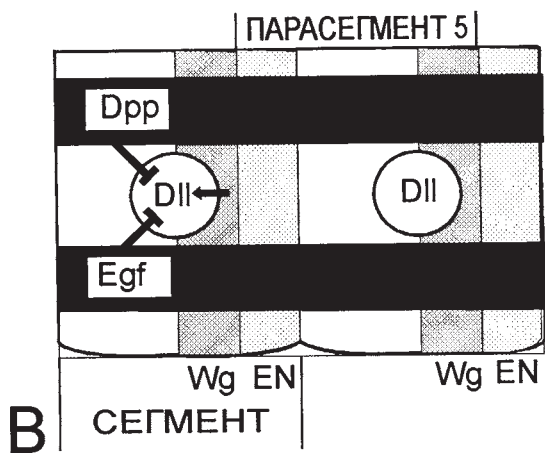
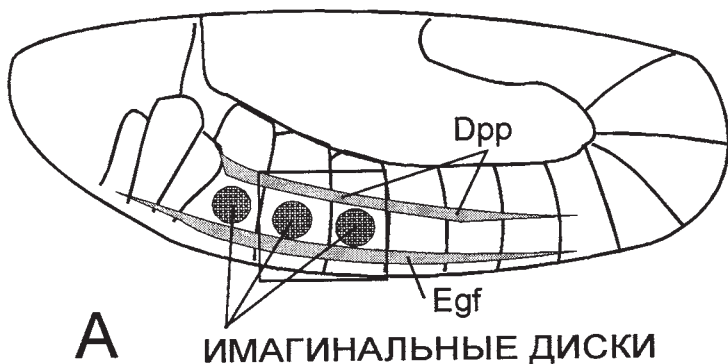
Подводя итог, можно принять, что у насекомых шесть сегментов (три науплиальных и три гнатальных) приходятся на голову, три сегмента образуют грудь и 11 сегментов – брюшко.

## **6. Развитие ног и крыльев у насекомых**

У дрозофилы придатки тела (ноги, крылья, жужжальца, усики, ротовые органы, гениталии) развиваются из так называемых имагинальных дисков – однослойных эпителиальных мешков, образующихся в результате инвагинации эмбриональной эктодермы и лежащих под гиподермой. Генитальный диск отличается от других тем, что он непарный и является производным от нескольких сегментов. Кроме того, генитальный диск способен развиваться в альтернативные структуры, мужские и женские терминалии, которые морфологически радикально различаются между собой.

### **6.1. Развитие ног у насекомых**

Развитие ног у дрозофилы является двухфазным процессом (Morata & Sánchez-Herrero, 1999; Jockusch et al., 2000). В период эмбрионального развития ножные диски устанавливаются по обеим сторонам от парасегментальных границ, отвечающих будущим торакальным сегментам. Спецификация эмбриональной эктодермы в клетки диска определяется экспрессией двух генов: *wingless* (*wg*) и *decapentaplegic* (*dpp*). Ген сегментной полярности *wg* кодирует белок семейства Wnt, который распределяется полосой вдоль задней границы парасегмента. Напомним, что после образования парасегментов в их передней четверти накапливаются белки En и Hh, причем последний является морфогеном и индуцирует экспрессию *wg* кпереди от En-полосы (рис. 10). В будущих сегментах En-полоса будет иметь самое заднее положение, тогда как *Wg*-полоса будет располагаться где-то посередине. Ген *dpp* кодирует белковый фактор семейства TGF- $\beta$ , который распределен боковой полосой, перпендикулярной к *Wg*-полосам. Такое распределение Dpp возникло на самых ранних этапах



**Рис. 13.** Локализация грудных имажинальных дисков до их разделения на дорсальные (крыло и жужжальца) и вентральные (ноги) у эмбриона дрозофилы (по Wolpert et al., 1998).

A – общий вид эмбриона. B – 2-й и 3-й грудные сегменты. Сокращения как на рис. 6–7.

**Fig. 13.** Allocation of thoracic imaginal discs before splitting off a wing and haltere discs in the *Drosophila* embryo (Wolpert et al., 1998).

A – lateral view. B – 2nd and 3d thoracic segments. Abbreviations as in Figs 6–7.

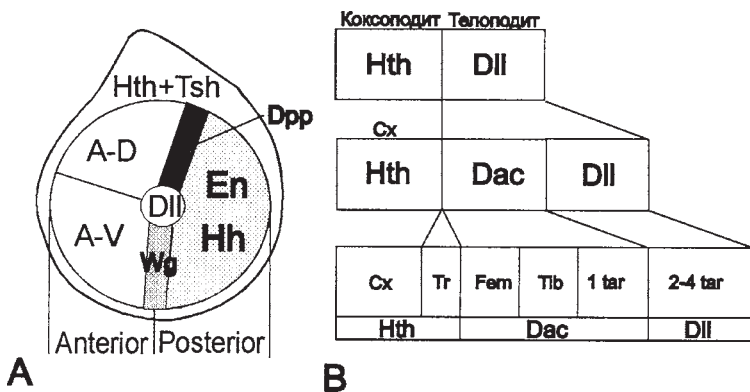
развития, когда шло становление дорсо-вентральных компартментов на стадии клеточной бластулы. Напомним (рис. 8 E), что при спецификации дорсальной стороны Dpp накапливается в дорсо-латеральной полосе. Снизу же, т.е. более вентрально, имагинальные диски ограничиваются областью действия эпидермального фактора роста (Egf). Клетки имагинальных дисков у личинки дрозофилы специфицируются по-сегментно на пересечении двух продольных Dpp-полос с Wg-полосами (рис. 13). Позже имагинальные диски на втором и третьем грудных сегментах разделяются на диски ног, крыльев и жужжалец.

Вторая фаза связана с развитием ног из имагинальной эктодермы дисков личинки (Galindo et al., 2002). Соотношения между En/Hh/Wg, устанавливающиеся в развитии туловищных сегментов, в целом повторяются и в ножных дисках. Когда размер диска увеличивается, в его задней половине начинается экспрессия селекторного гена *engrailed*, которая одновременно вызывает экспрессию гена *hedgehog*. Морфоген, вырабатываемый последним геном, проявляет свое действие в узкой полосе кпереди от заднего компартмента. Как результат, в переднем компартменте на его границе с задним компартментом образуется узкая полоса экспрессии *dpp*. При этом в дорсальной половине полосы плотность Dpp оказывается выше, чем в вентральной половине, и там со временем установится полоса экспрессии *wg* (рис. 14 A). Рассмотрим теперь генетическое определение проксимодистальных компартментов ножного диска насекомого (рис. 14 B).

Истинные членики ног членистоногих, отличающиеся наличием точек прикрепления мышц, называют подомерами. У насекомых их насчитывается 6. Лапки и флагеллум усиков с этой точки зрения истинными члениками не являются. Определяет расчленение ноги насекомых, равно как и всех членистоногих, уникальная система генов (Rauskolb, 2001; Panganiban & Rubenstein, 2002). В ее основе лежат два уже упоминавшихся сигнальных белка Dpp и Wg. В небольшой зоне наивысшей плотности этих морфогенов, приблизительно соответствующей центру диска, начинается экспрессия гена *Distalless (Dil)*, а также ряда других генов, определяющих дистальные компоненты ноги. В то же время в проксимальной части диска, отвечающей тазику и трохантеру, в условиях низкой концентрации морфогенов Dpp и Wg, оформляется зона экспрессии генов *homothorax (hth)*, *extradenticle (exd)* и *theashirt (tsh)*.

Ген *Distalless* является ключевым в образовании дистальных частей конечностей (Panganiban, 2000; Schoppmeier & Damen, 2001), и на нем следует остановиться подробнее. Этот ген имеет несколько функций. У дрозофилы он проявляет себя в антеннах, в которых,

помимо определения дистального компартмента, играет роль в развитии слуховых и обонятельных рецепторов. Интересно, что у позвоночных ген *Dlx*, являющийся гомологом *Dll*, также имеет значение в развитии слуховых органов и носа, и именно эта функция, как предполагают, была исходной (Panganiban & Rubenstein, 2002). В груди *Dll* в дорсальной сфере подавляется *Dpp*, в вентральной – *DER* (*Egf*), а активируется *Wg*-сигнальной системой. Однако при высокой плотности *Wg* и *Dpp* активность *Dll* резко возрастает. Этим объясняется наличие *Dll* в центре ножного диска на стыке *Wg*- и *Dpp*-полос (рис. 14 А). По мере дистального роста диска на дорсальной периферии *Dll*-области плотность *Wg* снижается, и экспрессия *Dll* подавляется из-за высокого уровня *Dpp*. Снижение активности *Dll* в латеральных и вентральной сферах происходит, по-видимому, за счет авторегуляции.



**Рис. 14.** Определение компартментов в ножном диске вдоль передне-задней (А) и проксимо-дистальной (В) осей (по Wolpert et al., 1998 и Rauskolb, 2001). *A-D*, *A-V* – передне-дорсальный, передне-вентральный компартменты; *Cx* – тазик; *Dac* – *dachshund*; *Dll* – *Distalless*; *Fem* – бедро; *Hth* – *homothorax*; *tar* – лапки; *Tib* – голень; *Tr* – вертлуг; *Tsh* – *theashirt*; остальные сокращения как на рис. 6–7.

**Fig. 14.** Establishment of compartments in the leg disc along its antero-posterior (A) and proximo-distal (B) axes (adapted from Wolpert et al., 1998 and Rauskolb, 2001). *A-D*, *A-V* – Antero-dorsal, antero-ventral compartments; *Cx* – coxa; *Dac* – *dachshund*; *Dll* – *Distalless*; *Fem* – femur; *Hth* – *homothorax*; *tar* – tarsus; *Tib* – tibia; *Tr* – trochanter; *Tsh* – *theashirt*; the rest of abbreviations as in Figs 6–7.

В брюшке личинки дрозифилы *Dll* подавляется совместным действием *Hox* генов *Ultrabithorax (Ubx)* и *abdominal A (abd-A)*. Белок *Ubx* выступает как репрессор, связывая *cis*-регуляторные элементы гена *Dll* выше его стартовой области (Levine, 2002). У гусениц бабочек образуются кольцевые зоны, свободные от экспрессии генов *Ubx/abd-A*. В этих зонах показывает активность ген *Dll*, благодаря чему гусеницы имеют проноги (ложные ноги). Интересно, что у пилильщиков действует другой механизм образования проног. Также как и у мух, *Dll* подавляется генами *Ubx/abd-A* и не участвует в развитии проног. Проноги у пилильщиков формируются под контролем только проксимальных генов *hth* и *exd*. В этом плане проноги личинок пилильщиков по генетическому определению подобны мандибулам насекомых, в которых экспрессия *Dll* также не выявлена (Suzuki & Palopoli, 2001).

У прямокрылых и жуков *Dll* репрессируется лишь геном *abd-A*. За пределами класса насекомых, например, у ракообразных, гены *Bithorax*-комплекса не являются репрессорами гена *Dll*. С этим связана способность к широкому развитию конечностей на большом числе сегментов. Сходная ситуация имеет место у коллембол. Таким образом, у крылатых насекомых гены *Bithorax*-комплекса, сначала *abd-A*, затем *Ubx* приобрели новую функцию, связанную с подавлением развития ног.

Ген *Dll* показывает ряд интересных особенностей. В усиках, например, он имеет двойную функцию. Основная, как и в ногах, связана с определением дистальных частей, дополнительная – с развитием ольфакторных и слуховых структур. Это сопоставимо с ролью *Dll* у позвоночных, где он является ключевым геном в развитии слуховых органов и носа. Анализ действия этого гена в разных группах животных дает следующий сценарий его эволюционной истории. У исходных *Bilateria* *Dll* функционировал в качестве одного из факторов развития нервной системы. Позже он приобрел еще и функцию определяющего фактора развития дистальных элементов конечностей. У вторичноротых имела место многократная дупликация гена, давшая серию *Dlx* генов, 6 у млекопитающих и 8 у рыб.

Белок *Dll* содержит гомеодомен и является транскрипционным фактором. Его генами-мишенями являются *disconnected* в груди эмбриона и *aristales (al)* и *bric & brac (bab)* в антеннальном и максиллярном сегментах. В ножных дисках *Dll* регулирует гены *al*, *bab*, *dachshund*, *spalt*, *spineless (ss)* и *atonal* (смотри табл. 3). Функция генов *bab* и *ss* связана с разделением лапки на членики. В усиках дрозифилы ген *bab* определяет границы между 3-5-м члениками (Chu et al., 2002).



Экспрессия гена *Dll* вначале возникает в дистальной части, отвечающей подомерам, начиная с бедра. Позже белок *Dll* кодируется в апикальной части голени и лапках, а также в узком кольце на границе трохантера и бедра. У дрозофилы эта смена связана с активностью гена *dachshund* (*dac*), который транскрибируется в бедре, голени и первом членике лапок. Отметим, что область действия *Dll* в апикальной части ноги пересекается с областью экспрессии *dac*. В проксимальной части *dac* подавляется белком *Tsh*.

Таким образом, в развитии и расчленении ног насекомых ключевыми являются три гена: *homothorax*, *Distalless* и *dachshund*, которые активны лишь в определенных дискретных доменах вдоль продольной оси. И хотя области их экспрессии пересекаются, можно говорить о проксимальном, срединном и дистальном компартментах ножного диска (Dong et al., 2001).

В проксимальной области диска, но уже независимо от морфогенов *Dpp* и *Wg*, проявляет активность ген *extradenticle* (*exd*), который в дистальной части подавляется. Ген *exd* является гомеобоксным, и его белковые продукты существуют в двух формах: цитоплазматической (инертной) и внутриядерной, транскрипционно активной (*nExd*). Перенос *Exd* из цитоплазмы в ядро обеспечивает белок *Hth* (Dong et al., 2001). Такая его функция, видимо, установилась давно, поскольку гомологи этого белка у позвоночных (*Meis* и *Prep-1*) также необходимы для перевода цитоплазматической формы белка *Pbx* (гомолога *Exd*) в ядерную. Забегая вперед, отметим, что близкая картина наблюдается и в крыловом диске. В клетках будущей среднеспинки *Exd* является ядерным, тогда как в будущих клетках крыла, исключая, возможно, самые базальные, – цитоплазматическим. Гомологи *Exd* известны, помимо позвоночных, также у ракообразных. По своей функции *Exd* является кофактором *Hox*-генов. Кодируемые последними белки могут действовать как транскрипционные активаторы либо как репрессоры в зависимости от того, связаны ли они с *Exd* или нет. Это, возможно, говорит за то, что *exd* исходно был туловищным геном.

Оценивая все эти факты, некоторые авторы (Dong et al., 2001) пришли к ряду интересных заключений. Одно из них сводится к тому, что первое членение ноги, связанное с активностью генов *hth* и *exd* с одной стороны и *Dll* с другой, выделяет два компартмента, проксимальный и дистальный. В свое время Снодграсс (Snodgrass, 1935) по чисто морфологическим основаниям ввел представление о коксоподите и телоподите в качестве исходного деления, от которого шла дальнейшая эволюция придатков членистоногих. У него, правда, гра-

Таблица 3

## Основные регуляторные гены в развитии усиков и ног насекомых

Гены	Тип кодируемого белка	Презумптивная область определения
<i>extradenticle</i>	Гомеодомен	Проксимальный компартмент, отвечающий коксоподиту
<i>homothorax</i>	Гомеодомен	То же
<i>theashirt</i>	Цинковые пальцы	
<i>distalless</i>	Гомеодомен	Дистальный компартмент
<i>dachshund</i>		3-й членик усиков, срединный компартмент ног
<i>aristalless</i>	Гомеодомен	Дистальная часть аристы, претарзус и коготки
<i>BarH</i>	Гомеодомен	Ариста с 2-го членика, лапки
<i>bric-a-brac</i>	ВТВ/POZ-домен	1-2-й членики аристы, 1-4-й членики лапок (расчленение)
<i>spalt</i>	Цинковые пальцы	2-3-й членики усиков
<i>spineless</i>	Спираль-петля-спираль	3-й членик усиков-ариста, лапки (расчленение)
<i>atonal</i>	Спираль-петля-спираль	2-й членик усиков

ница между этими частями не совпадает с той, что определяется по генетическим маркерам у дрозофилы. По Снодграссу, трохантер является принадлежностью телоподита, тогда как согласно приведенным выше данным тазик и вертлуг составляют единый компартмент.

Вместе с тем, данные по дрозофиле, представляющей группу продвинутых насекомых, не могут приниматься безоговорочно, пока не рассмотрены более примитивные насекомые и другие группы членистоногих.

У домашнего сверчка *Acheta domestica* ядерный nExd также активен в трохантере и тазиках (Abzhanov & Kaufman, 2000c); не отличается он от дрозофилы и в распределении nExd и Dll в максиллах и нижней губе. В усиках же nExd отмечен в двух базальных сегментах, что поддерживает точку зрения Снодграсса (Snodgrass, 1958), считавшего, что эти членики отвечают тазику и трохантеру ходильных ног. В равной мере подтверждает это и гипотезу о трехподомерном составе усиков. Близкая картина наблюдается у мокрицы *Porcellio scaber*.

Однако у паука *Steatoda triangulosa* картина совершенно иная (Abzhanov & Kaufman, 2000c). Во-первых, область активности nExd в хелицерах ограничена только одним базальным сегментом. Во-вторых, срединная область экспрессии *dac* начинается с вертлуга, тогда как у ракообразных и насекомых вертлуг свободен от *Dac*. Если считать, что *dac* активен лишь в области экспрессии *Dll*, то получается, что коксоподит (определяемый генетически по nExd) исходно соответствует лишь тазикам. В последующей эволюции у ракообразных и насекомых произошло дистальное расширение области действия nExd, так что вертлуг оказался включенным в коксоподит.

Таким образом можно заключить, что предложенное Снодграссом деление ног членистоногих на коксоподит и телоподит находит свое подтверждение в данных по распределению регуляторных белков. Добавим также, что проноги у личинок пилильщиков образованы лишь коксоподитами, тогда как в структуре проног гусениц бабочек присутствует и коксоподит, и телоподит.

Второе заключение Донга с соавторами (Dong et al., 2001) представляется достаточно радикальным. Если туловище членистоногих определять как область экспрессии *Hox* генов и гена *exd*, то коксоподит (в объеме тазика) следует считать производным именно туловища. Иными словами, хотя морфологически тазики мало чем отличаются от других члеников ног, по генетическому определению они – часть туловища. Возможно, производным туловища следует считать и узкую базальную полосу крыла, где по некоторым данным имеет место

экспрессия *Exd*. Эти соображения, однако, нуждаются в подтверждении; во всяком случае, и к ним следует относиться с осторожностью.

Третье заключение касается специфики ног по сравнению с усиками. Ноги и усики дрозофилы различаются по числу выделяемых компартментов. В развитии ног, как мы уже говорили, действуют три ключевых гена, *extradenticle*, *dachshund* и *Distalless*, определяющих соответственно проксимальный, срединный и дистальный компартменты. В развитии усиков из-за широкого наложения областей экспрессии генов *exd* и *Dll* действие срединного гена *dac* подавляется. Иными словами, в развитии усиков дрозофилы отсутствует срединный компартмент. Аналогичная картина наблюдается у *Acheta*, а также у *Porcellio* для вторых антенн и у *Steatoda* для хелицер. Нечто подобное характерно и для крыла насекомого, которое также строится в продольной оси из двух компартментов: проксимального, охватывающего узкую полосу в основании крыла, и дистального, соответствующего остальной части крыла.

Образование границ между члениками ног связано с работой Notch-рецептора и его лигандов *Serrate* и *Delta* (рис. 5). Эти трансмембранные белки активны в узких кольцевых зонах, которые поддерживаются при регулирующем влиянии генов *hth*, *dac*, *bab* и *ss*, а также *Dll*, функционирующего как репрессор. Порядок появления кольцевых зон активности Notch-рецептора напоминает таковой генов двухсегментной периодичности (Rauskolb, 2001).

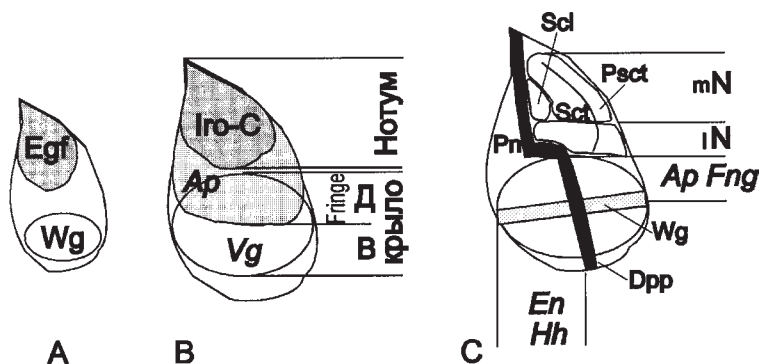
## 6.2. Развитие крыльев у насекомых

У дрозофилы из крыловых дисков развиваются крылья и среднеспинка. Дифференциация этих структур начинается (рис. 15 А) с выделения на диске двух областей, в которых действуют сигнальный белок *Wg* и эпидермальный фактор роста (ЭФР) с его лигандом *Vein* (Cavodeassi et al., 2003). По различиям в плотности этих белков устанавливаются три компартмента: 1) высокое содержание *Wg*, ЭФР отсутствует; 2) низкое содержание *Wg* и ЭФР; 3) высокое содержание ЭФР и *Vein*, *Wg* отсутствует (рис. 15 В). Первый из этих компартментов отвечает нотуму, два других – дорсальной и вентральной поверхностям будущего крыла. Между нотальным и крыловым компартментами имеется узкая область, которая отвечает основанию крыла (рис. 15 В). ЭФР-сигнальный путь включает нотальные гены *iroquois*-комплекса (гены *araucan*, *caupolican*) и блокирует Notch-сигнальную систему, а также экспрессию гена *vestigial* (*vg*). На презумптивной крыловой территории проявляет активность ген *nubbin*, который подавляет

экспрессию *homothorax*. Заметим, что в развивающихся конечностях не удалось выявить активность гена *nubbin* ни у дрозофилы, ни у сверчка. В других же группах членистоногих, например у ракообразных и хелицероных, этот ген участвует в образовании апикальных члеников ног, а также в развитии вторых антенн у *Porcellio scaber* (Abzhanov & Kaufman, 2000c).

В среднем компартменте имеет место экспрессия гена *apterus* (*ap*) (Zecca & Struhl, 2002a, b).

Следующий этап дифференциации крыльев связан с выделением переднего и заднего компартментов, на границе которых будут идти основные морфогенетические события. Как и в случае ног, в заднем компартменте экспрессируется *engrailed*, который включает ген *hedgehog*, дающий соответствующий белок с функцией близкодействующего морфогена. Клетки могут отвечать на Hh-сигнал только при наличии в них белка *Cubitus interruptus* (Ci) (рис. 7 А). В заднем



**Рис. 15.** Определение компартментов в крыловом диске на разных стадиях его развития (по Zecca & Struhl, 2002a, b).

*B, Д* – вентральный и дорсальный компартменты крыла. *Ap* – *apterus*; *Fng* – *Fringe*; *iN* – боковая часть нотума; *mN* – мезальная часть нотума; *Iro-C* – *iroquois complex*; *Pn* – постнотум; *Psct* – прескутум; *Scl* – щиток; *Sct* – скутум; *Vg* – *vestigial*; остальные сокращения как на рис. 6–7.

**Fig. 15.** Establishment of compartments in the wing disc in different stages (adapted from Zecca & Struhl, 2002a, b).

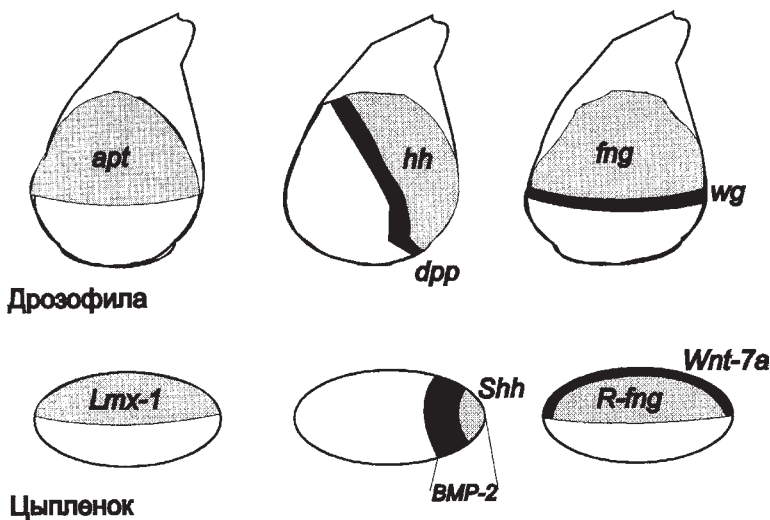
*B, Д* – *Ventral and dorsal wing compartments*. *Ap* – *apterus*; *Fng* – *Fringe*; *iN* – *lateral part of notum*; *mN* – *mesal part of notum*; *Iro-C* – *iroquois complex*; *Pn* – *postnotum*; *Psct* – *prescutum*; *Scl* – *scutellum*; *Sct* – *scutum*; *Vg* – *vestigial*; the rest of abbreviations as in Figs 6–7.

компарimente En подавляет экспрессию *ci*, так что транскрипты данного гена будут присутствовать лишь в переднем компарimente. Как результат, морфоген Hh может действовать лишь в узкой полосе переднего компаримента, примыкающей к заднему компарименту. В этой полосе (шириной в 10 размеров клетки) Hedgehog вызывает экспрессию *decapentaplegic* (рис. 15 С), а тот – его генов-мишеней *spalt*, *optomotor-blind* (*omb*), *vestigial* (*vg*). Здесь мы видим важное отличие от картины, наблюдаемой в развитии ног: там *dpp* экспрессируется также полосой, но генетически значимая плотность белка поддерживается лишь в дорсальной половине зачатка (рис. 14 А). Гены-мишени отличаются тем, что отвечают на разные пороговые концентрации Dpp. Так, экспрессия *spalt* имеет место при высоких концентрациях Dpp, тогда как экспрессия *omb* – при более низких. Соответственно полосы активности *spalt* по обе стороны от передне-задней границы будут более узкими. Заметим, что Dpp может распространяться и на большие расстояния по особым цитоплазматическим выростам клеток крылового диска, называемым цитонемами.

Среднеспинка и крыло по-разному отвечают на En/Hh/Dpp-сигналы. В крыловом зачатке передне-задняя граница делит его, а в результате и крыло, на равные половинки. Соответствующая граница в зачатке среднеспинки расположена асимметрично, что проявляется в морфологии взрослых мух: постнотум заметно меньше скутума и щитка. В крыле Dpp индуцирует экспрессию генов *omb* и *vg*, тогда как в будущей среднеспинке этого не происходит.

Следующий важный шаг в образовании крыла связан с его дорсо-вентральной спецификацией. Средний компаримент отвечает будущей дорсальной поверхности крыла, и в нем, как было отмечено, экспрессируется селекторный ген *apterus*, который включает гены *fringe* и *Serrate*. Последний ген кодирует трансмембранный белок, который является лигандом для рецептора Notch. Другой ключевой трансмембранный белок Delta, также связанный с дорсо-вентральной спецификацией клеток крыла, в отличие от *Serrate* присутствует во всех клетках, как вентральных, так и дорсальных. Рецептором для него также является трансмембранный белок Notch (рис. 5). Белок Fringe является модулирующим фактором, благодаря которому Notch-рецептор становится чувствительным к лиганду Delta, но только при высоком уровне этого белка. Вентральные клетки, в которых Fringe отсутствует, оказываются чувствительными к *Serrate*. Поскольку последний присутствует лишь в мембране дорсальных клеток, то взаимодействие между этим лигандом и Notch-рецептором может

иметь место в двух пограничных рядах клеток между дорсальным и вентральным компартментами, причем лиганд *Serrate* в мембране клеток дорсального ряда будет соединяться с рецептором Notch в мембране клеток вентрального ряда. Включение Notch-сигнального пути сопряжено с подавлением работы гена *Serrate*, что приводит к более интенсивной экспрессии гена-антагониста *Delta* в клетках вентрального ряда. Увеличение плотности лиганда *Delta* в свою очередь ведет к активации Notch-сигнального пути в клетках дорсального ряда. В результате работы Notch-сигнальных путей в этих двух рядах пограничных клеток начинается экспрессия гена *wingless* (*wg*), продукты которого распределяются в узкой полосе вдоль дорсо-вентральной границы. Полоса экспрессии морфогена *Wg* аналогична полосе *Dpp* вдоль передне-задней границы, но формирует будущий край крыла.



**Рис. 16.** Сравнение компартментов, определяемых ортологичными генами, в крыловом диске дрософилы и в крыловой почке цыпленка (по Wolpert et al., 1998).

Сокращения для сигнальных белков дрософилы как на рис. 6-7.

**Fig. 16.** Comparison of compartments, defined by orthologous genes, in *Drosophila* wing imaginal disc and the chick wing bud (adapted from Wolpert et al., 1998).

Abbreviations for *Drosophila* signal proteins as in Figs 6-7.

В среднеспинке определение дорсо-вентральных границ невозможно, поэтому там клетки на раннем этапе развития зачатка индифферентны к *Wg*. Позже *Wg* показывает активность, определяя, в частности, продольные полосы в переднем компартменте.

Ген *Dll* не выделяет в крыле особых компартментов, но он необходим для спецификации крылового края. У бабочек он является ключевым в определении некоторых элементов крылового рисунка, например центрального пятна у нимфалид.

### **6.3. Проблема гомологии с учетом молекулярного уровня**

Наличие гомологичных (ортологичных) генов, определяющих эквивалентные морфологические структуры у далеких в филогенетическом отношении групп, вновь поставило перед морфологами проблему гомологии, казалось бы, уже окончательно решенную. Суть проблемы в том, что негомологичные органы (например, крылья у насекомых и птиц) могут определяться сходным комплексом гомологичных генов. В случае сходства паттерна экспрессии регуляторных генов некоторые стали говорить о глубинной гомологии и даже видеть в ней более сильное доказательство морфологической гомологии.

Сравним в плане генетического определения туловищные придатки членистоногих и наземных позвоночных. Туловищные придатки в этих двух группах, хотя и имеют сходное генетическое определение, очевидно, не гомологичны. Гомологичные гены, участвующие в формировании этих придатков, определяют компартменты вдоль передне-задней и дорсо-вентральной осей тела. Соответствующие генетические комплексы в обеих группах возникли у предковых форм, которые были заведомо лишены конечностей. Там они определяли компартменты в пределах сегментов. Отсюда можно предположить, что при эволюционном формировании конечностей эти генетические комплексы каждый раз оказывались востребованными в качестве факторов, детерминирующих пространственные оси. Иными словами, гены, участвующие в формировании конечностей, гомологичны на более высоком иерархическом уровне, включающем и первично безногих животных.

Такое объяснение, казалось бы, снимает противоречия между генетическим и чисто морфологическим подходами к понятию гомологии. Но при всем этом неясности остаются. Говоря о генетическом единстве придатков тела у беспозвоночных и позвоночных животных, мы не касались вопроса об уровнях генетического сходства. С этой точки зрения особенно поражает онтогенетическое сходство крыльев



насекомых и конечностей тетрапод на начальных фазах их формирования. В частности, показана (Wolpert et al., 1998) четкая параллель в экспрессии гомологичных генов между апикальным эпидермальным гребнем (АЭГ) у цыпленка и аналогичного по функции крылового края у *Drosophila*. В обоих случаях эти структуры разделяют вентральный и дорсальный компартменты, причем в клетках последнего имеет место экспрессия *Radical fringe (R-fng)* у цыпленка или его гомолога *fringe (fng)* у дрозофилы. Индуктивный эффект *fng* в крыловом крае опосредуется через лиганды Delta и Serrate, запускающие через рецептор Notch соответствующую сигнальную систему. Аналогично этому, в крыле цыпленка индуктивный эффект *R-fng* в АЭГ также опосредуется через гомологичные белки Serrate-2 и Notch-1.

К этому следует добавить, что имеется интересная функциональная параллель между АЭГ и краевыми клетками крылового имгинального диска. Подобно АЭГ у цыпленка, крыловой край у *Drosophila* необходим для дистального развития крыла, и частичная его потеря в обоих случаях ведет к дефектам вдоль проксимо-дистальной оси развивающихся крыльев.

В крыловом крае у дрозофилы секретируется морфоген Wingless. Его гомолог Wnt-7 отмечен у цыпленка в дорсальной эктодерме крыловой почки (рис. 16). Еще одна параллель связана с образованием передне-задней границы в крыле. У дрозофилы в задней части будущего крыла проявляет активность ген *hedgehog*, и его гомолог *Sonic hedgehog* также активен в задней области крыловой почки цыпленка. На передне-задней границе крылового зачатка дрозофилы происходит выделение морфогена Decapentaplegic. Его гомолог BMP-2 обнаруживается в задней трети крыловой почки цыпленка, т.е. не имеет, в отличие от дрозофилы, краевого распространения. У дрозофилы с дорсальной областью будущего крыла связан ген *apterus*. Его гомолог в крыловой почке цыпленка *Lmx-1* экспрессируется в дорсальной мезодерме.

Очевидно, что параллелизмов очень много, и их нельзя объяснить независимой кооптацией туловищных генов при формировании конечностей. Какие же еще могут быть правдоподобные объяснения столь многочисленных параллелизмов в группах, никак не связанных между собой?

Минелли (Minelli, 2000b) высказал мнение, что осевые отношения, в рамках которых развиваются конечности, представляют собой дубликацию главной оси тела организма. В генетике под дубликацией понимают появление новых копий генов в одном организме. Теорети-

чески гены должны рассматриваться в качестве гомологов, если они происходят от одного и того же гена. Следуя этому определению, различают два типа гомологичных генов. **Ортологичными** называют гены, которые являются «потомками» единственной копии соответствующего гена, имевшегося у ближайшего общего предка этих видов. При дупликации же ситуация может осложниться, и в случае, если у сравниваемых видов те или иные гены происходят от двух разных копий «родительского» гена, их называют **паралогичными** (паралогами).

По аналогии с генами, Минелли говорит о возможности дупликации осей. Сразу оговоримся, что называть конечности позвоночных параморфами конечностей насекомых будет не совсем корректно. Паралогичные гены являются гомологами, т.е. унаследованы от общего предка, уже имевшего сравниваемые копии гена. Оси же, как мы видели, определяются своими каскадами генов, поэтому проблему их дупликации всегда можно перевести в проблему кооптации генетических комплексов. О вероятности использования уже сложившихся каскадов генов в развитии новых структур говорили многие. Но только Минелли указал, что здесь имеет место не просто расширение возможностей старых генетических систем, но и перестройка осевых отношений.

Касаясь фактической стороны дела, подчеркнем, что гены, определяющие передне-заднюю спецификацию эмбриона, не участвуют в развитии туловищных придатков. Образование проксимодистальных компартментов в ногах насекомых определяется своими генами. Что же касается сходства в поведении этих генов с туловищными генами двухсегментной периодичности, то в этом можно усматривать скорее выражение общности механизмов компартментализации. Однако в главном идея Минелли все же заслуживает самого серьезного внимания и, как нам кажется, будет необычайно плодотворной, если рассматривать конечности в качестве «параморф» не главной оси тела, а осей сегментов. В этом случае сразу выступает сходство в генетических средствах поляризации сегментов и конечностей. Получает относительное объяснение и отмеченная Минелли закономерность появления конечностей преимущественно у сегментированных организмов.

Развитие крыльев насекомых идет, как мы видели, по несколько иной схеме. Это, возможно, свидетельствует о существовании у насекомых двух различных механизмов эволюции ног и крыльев. Если становлению ног вполне может быть объяснено дупликацией осевых отношений, сложившихся в сегменте, то для крыльев необходим какой-то иной сценарий. В свое время Артур (Arthur, 1997) предложил простую схему

возникновения конечностей, рассматривая их в качестве латеральных выростов тела. Соответственно и все отношения между ключевыми генами в этих выростах, прежде всего распределение *En*, должны соответствовать картине, наблюдаемой внутри сегмента.

Рассматривая крыловой зачаток можно заметить, что ранняя структура компартментов сходна с той, что присуща сегментам, например брюшным. Более того, у дрозофилы передне-задняя граница в виде полосы *Dpp* является, по существу, единой для нотальной и крыловой областей крылового диска. Все это косвенно свидетельствует в пользу модели Артура, видевшего в крыльях уплощенное продолжение тела в ширину. Отметим, что аналогичный сценарий был предложен для объяснения происхождения и развития конечностей тетрапод (Tanaka et al., 2002). У предков тетрапод, как предполагается этой реконструкцией, *En* распределяется вдоль тела полосой, идущей ниже латеральных расширений. Иными словами, имеет место дорсо-вентральная поляризация *En*, связанная, возможно, с извращением самих осевых отношений; напомним, что позвоночные по отношению к членистоногим являются перевернутыми организмами. Для нас здесь важно отметить следующую параллель между насекомыми и тетраподами. Как и крылья у насекомых, конечности у тетрапод возникают также в виде латеральных уплощений, сначала в виде единственного с каждой стороны тела, но в дальнейшем распадающегося на два, отвечающих будущим передним и задним конечностям. В развитии конечностей тетрапод важную роль играют гены *Tbx5* для передних и *Tbx4* для задних конечностей. Гомолог этого гена *optomotor-blind* известен у дрозофилы и также принимает участие в развитии крыльев (Ruvinsky & Gibson-Brown, 2000).

Из всего вышесказанного следует, что в плане сравнения регуляторных генов крылья насекомых более сопоставимы с конечностями тетрапод, нежели эти последние – с ногами насекомых. Конечно, этот параллелизм касается лишь эктодермальной составляющей крыльев насекомых и конечностей тетрапод. У позвоночных велика роль мезодермальных элементов, которые становятся ведущими на более поздних этапах развития конечностей. С мезодермой, в частности, связан ряд *Hox* генов из разных дублицированных серий, а также фибробластный фактор роста (смотри раздел 2.2), который индуцирует онтогенетические изменения не только в мезодерме, но и в эктодерме. Таким образом, конечности тетрапод, в отличие от крыльев насекомых, имеют более сложную природу. У нас пока нет опыта гомологизации композиционных структур, сопоставимых лишь по отдельным своим составляющим.

## 7. Морфотип: новые составляющие

До недавнего времени под морфотипом понимали обобщенное представление близких по строению морфологических структур, т.е. статическую конструкцию. Но эти структуры не возникают в готовом виде. Они определяются в онтогенезе и в этом смысле характеризуются своей динамикой. Поэтому для полного описания морфотипа необходимы дополнительные понятия, через которые можно выразить его динамическую составляющую. Этот аспект нашел выражение в концепции модулярной организации морфоструктур и живых систем в целом (смотри подробнее: Шаталкин, 2002; там же приведена имеющаяся по этому вопросу основная литература).

Модули – это дискретные единицы целого, рассматриваемые как динамические отдельности и характеризующиеся собственным развитием. Такие модули обладают следующими свойствами: 1) имеют автономную генетически дискретную организацию; 2) часто обладают иерархической структурой; 3) пространственно локализованы относительно других таких же модулей; 4) показывают определенную связность между собой; 5) могут подвергаться изменениям во времени как в онтогенетическом, так и в историческом плане (Raff, 1996, p. 326-327). В частности, возможен их распад на новые модули или объединение с другими модулями; они могут существовать как промежуточные элементы или переходить в устойчивое состояние в виде конечных морфологических структур. К этому следует добавить, что модули могут включаться в выполнение новых функций на тех онтогенетических уровнях, на которых ранее они не были задействованы. Например, тандем генов *dpp/sog* (смотри раздел 4.1) является ключевым модулем в образовании вентральной и дорсальной сторон тела у дрозофилы: *dpp* экспрессируется в клетках дорсальной полусферы эмбриона, а *sog* подавляет активность *dpp* в клетках вентральной полусферы. Позже этот же тандем участвует в образовании жилок крыла: *dpp* экспрессируется в будущих клетках жилок, а *sog* подавляет активность *dpp* в межжилковом пространстве (Gilbert & Bolker, 2001).

Генетические системы составляют самый низший уровень модулярной организации. Элементарными (наименьшими) модулями, видимо, следует считать сигнальные системы в виде последовательности: внеклеточный сигнальный белок → рецептор → переносчики сигнала внутри клетки → транскрипционный фактор внутри ядра → гены-мишени → транскрипционные факторы или сигнальные белки,

кодируемые генами-мишенями. Если на последнем этапе переходов образуется транскрипционный фактор, то мы получаем усеченную генетическую систему, выражаемую последовательностью: гены-мишени → транскрипционные факторы → гены-мишени нового уровня и т.д. Подробнее элементарные генетические системы обсуждались в разделе 2.2, где были даны примеры транскрипционных факторов и сигнальных путей (цепей).

В развивающемся организме элементарные генетические системы объединяются в более крупные модули, контролирующие становление тех или иных морфологических структур или частей тела. В качестве примера упомянем генетические системы *Wingless* и *Hedgehog* (подробнее смотри: Cadigan & Nusse, 1997; Arias, 1999; Ingham & McMahon, 2001, а также раздел 2.2 настоящей работы). Обе системы, играющие ключевую роль в развитии сегментов, конечностей и нервной системы у позвоночных и беспозвоночных, во многих случаях образуют взаимозависимый тандем. Например, при образовании переднего и заднего компартментов в сегментах, ногах и крыльях насекомых транскрипционный белок *Engrailed* инициирует работу гена *hh*. Кодированный этим геном белок через свою сигнальную последовательность активирует экспрессию *wg*. *Wg*-сигнальная цепь в свою очередь может индуцировать экспрессию гена *engrailed* (рис. 7 С). С этими двумя системами сопряжена *Dpp*-сигнальная цепь, действующая также через *engrailed* и работающая часто на конкурентной основе с *Wg*-сигнальной цепью. Переключение с одной цепи на другую зависит от других регуляторных генов, которые определяют, по какому пути пойдет развитие в данной эмбриональной области. Другой часто упоминаемый пример генетического модуля – каскад регуляторных генов, определяющих сегментацию у насекомых. Каскад включает несколько уровней регуляции, начиная от материнских поляризующих генов и кончая ключевыми *Hox* генами, специфицирующими каждый отдельный сегмент.

Мы лишь вскользь упомянули (раздел 4.1) терминальные зиготические гены дрозофилы *brachyenteron* и *forkhead* (Schneider et al., 2000). Первый вместе с зависимыми от него генами связан с мезодермой на заднем конце бластодермы и участвует в образовании задней кишки и мальпигиевых сосудов. Его гомолог *Brachyury* у вторичноротых активен вокруг бластопора и будущего ануса (Wolpert et al., 1998). Ген *forkhead* связан с образованием стомадеума и задней кишки. Его гомолог *HNF3* у позвоночных активен вокруг рта и ануса. Наконец, у гидры гомологи обоих генов экспрессируются вокруг рта/

ануса (Holland, 2000). Таким образом, эти терминальные гены и их гомологи сохраняют свойственную им функцию во всех группах, начиная с кишечнополостных.

Пример другого крайне консервативного модуля дают гены дорсо-вентральной поляризации. Напомним (раздел 4.1.), что вентральная сторона насекомых соответствует дорсальной стороне хордовых. Это соответствие распространяется и на развитие нервной системы, находящейся у позвоночных под контролем генетического модуля *chordin/Vmp-4*. У *Xenopus* морфоген *Vmp-4*, кодируемый клетками дорсальной мезодермы, активируется белками *Vmp-1* и *Vmp-7* и индуцирует развитие соседней эктодермы в кожу. Белок *Chordin* связывает и тем самым блокирует *Vmp-4*, в отсутствии которого эктодермальные клетки специализируются в нервные. Аналогичная картина наблюдается в развитии вентральной нервной системы у дрозофилы. Гомологом *Vmp-4* является *dpp*. Кодируемый им морфоген активируется белками *Tolloid* и *Screw* (гомологами *Vmp-1* и *Vmp-7*, соответственно) и подавляется белком *Short gastrulation*, гомологом белка *chordin* (Gilbert & Bolker, 2001).

Итак, динамическая составляющая морфотипа может быть описана через понятие генетического модуля. Но что конкретно ему будет соответствовать в морфотипе? Из нашего изложения следует, что в качестве системы взаимосвязанных регуляторных генов генетический модуль фиксирует пространственно-временные отношения между компонентами развивающейся морфологической структуры. Ключевым элементом пространственной структуризации является компартмент. Например, в ножном имагинальном диске регуляторные гены разделяют клетки на передние и задние, а также на несколько их типов вдоль проксимо-дистальной оси, определяя в конечном счете число и положение члеников в конечностях у взрослых насекомых. Здесь регуляторные гены задают архетипические особенности ног, т.е. пространственную организацию выделяемых в ногах насекомых элементов членения (частей).

Между компартментами и конечным состоянием морфоструктуры у взрослых форм может и не быть полного соответствия, что мы видели в случае парасегментов. Следовательно, генетический подход дает более глубокое понимание морфотипа, в котором мы способны выделить составляющие, при чисто морфологическом описании вовсе не очевидные. Так, через парасегменты осуществляется автономизация передней и задней областей сегмента, и те могут в силу этого подвергаться независимым эволюционным преобразова-

ниям. Аналогичным образом, лишь на генетическом уровне усматривается онтогенетическое единство и, как результат, признаковое соответствие голени и первого членика лапок у мух.

Один и тот же генетический модуль может участвовать в формировании разных морфоструктур. Например, уже упоминавшиеся сопряженно действующие сигнальные системы *Wingless* и *Hedgehog* определяют разделение на проксимальные и дистальные части в конечностях, крыльях и глазах у дрозофилы (Vervoort, 2000; Gilbert & Volker, 2001), т.е. в совершенно разных морфологических структурах, которые, однако, формируются по единому плану. Другой показательный пример, рассмотренный нами ранее, касается большого числа ортологичных генов, участвующих в развитии крыльев у насекомых и птиц (рис. 16).

Модули характеризуются собственной эволюционной историей. Когда-то возникнув, они могут изменяться, объединяясь с другими модулями или, наоборот, распадаясь в разных сочетаниях. Поэтому правомерна постановка вопроса о гомологизации модулей. Она может быть осуществлена аналогично тому, как это делается при сравнении морфологических структур. Если генетические модули были независимо кооптированы для выполнения тех или иных онтогенетических функций, то говорить об их гомологии, как и о гомологии связанных с ними морфоструктур, видимо, нельзя. Другое дело, если генетические модули унаследованы сравниваемыми формами от их общего предка. В этом случае гомологию модулей можно считать доказанной. Но если модули гомологичны, то допустимо ли сразу говорить о гомологии определяемых ими морфоструктур? Рассмотрим этот вопрос на примере развития глаза в разных группах животных.

Развитие глаза у мыши и человека находится под контролем гена *Pax-6*, который на ранних стадиях определяет сетчатку, а позже – эктодерму, формирующую роговицу и хрусталик. Ген *Pax-6* кодирует транскрипционный фактор, который отличается наличием парного домена (рис. 4 D). Мутации по этому гену приводят к дефектам глаза, известным у фенотипов *Small eye* мыши и у больных *Aniridia* в случае человека. У дрозофилы гомологом *Pax-6* является ген *eyeless (ey)*, и каждый этап развития фасеток находится под контролем этого гена, действующего исключительно в антеннально-глазном диске. Относительно недавно у дрозофилы был выявлен ген *twin of eyeless (toy)*, возникший скорее всего в процессе дубликации гена *ey*. В этом смысле *toy* является паралогичным, а не гомологичным относительно *ey* геном. Глазные гены, активируемые *ey*, имеют своих гомологов

среди глазных генов, активируемых *Pax-6*. Так, гену *sine oculis* у насекомых отвечает ген *Six-6* у позвоночных, гену *eyes absent* отвечает ген *Eya-4*, а гену *eyeless* отвечает ген *Pax-9*.

Индукцированная экспрессия гена *ey* в других дисках ведет к развитию эктопических глаз на ногах, крыльях, жужжальцах и усиках (Gehring & Ikeo, 1999). Эти данные говорят о том, что ген *ey* является ключевым в работе всего каскада генов (общим числом почти 2500), необходимых для развития глаза. Ген *toy* также способен индуцировать эктопические глаза, но только при условии активности гена *ey*.

Эктопическая экспрессия мышинового гена *Pax-6* в дрозофиле индуцирует эктопические фасеточные глаза. Более того, гомологи *Pax-6* из асцидии *Phallusia* и кальмара *Loligo* также способны индуцировать эктопические глаза в дрозофиле. Обратные эксперименты не дали столь четких результатов, однако, изменяя время инъекции инородной мРНК, удалось индуцировать эктопические глаза у *Xenopus*.

Наконец, во всех группах животных, начиная с кишечнополостных, гомологи *Pax-6* участвуют в формировании фоторецепторных органов. Учитывая совокупность изложенных выше фактов, было высказано предположение (Gehring & Ikeo, 1999) о гомологии всех типов глаз, в том числе фасеточного глаза насекомых и камерного глаза млекопитающих. Поясним этот вывод.

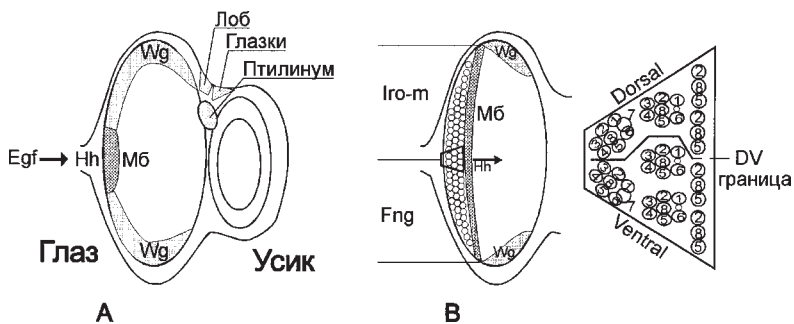
При гомологизации главная задача морфологического сравнения состоит в том, чтобы показать, что некоторый орган у одного вида является модификацией такового у другого вида (подробнее смотри: Шаталкин, 2002). Следуя этой задаче, при рассмотрении рецентного и ископаемого материала мы можем реконструировать трансформационный ряд изменения органа от исходных форм к продвинутым. Глаза (фоторецепторные органы) произошли от единственного прототипа и поэтому гомологичны. Такой тип гомологии называют **трансформационной** (оуэновской), а все типы глаз – трансформационными гомологами.

Однако если ставится вопрос о сравнении конкретного типа глаз, то картина будет иной. Так, фасеточные глаза насекомых и камерный глаз позвоночных негомологичны по той причине, что соотносятся с разными альтернативными признаками, которые не могли быть одновременно у общего предка этих групп. В то же время применительно к насекомым наличие у них фасеточного глаза является гомологией. Такой тип гомологии называют **таксической**, а сами гомологи – синапоморфиями. В основе таксической гомологии лежит сравнение



**одинаковых** признаков, а не **разных** морфологических структур, как это имеет место при анализе элементов трансформационного ряда. Один и тот же признак, скажем, наличие желтых усиков, может быть у сравниваемых видов как синапоморфным, т.е. показывать таксическую гомологию, так и нет. Поясним это на следующем известном примере. Крылья птиц и летучих мышей гомологичны в качестве передних конечностей, т.е. как трансформационные гомологи, и негомологичны как крылья, т.е. как таксические гомологи. Последнее означает, что данный признак не является для рассматриваемых групп синапоморфией.

Ген *Rax-6* и его гомологи специфицируют фоторецепторные и пигментные клетки в качестве ключевых компонентов всех типов глаз. В продвинутых группах к этим двум типам клеток добавляются другие (светопреломляющие, отражающие), которые лишь улучшают зрение применительно к конкретным условиям обитания. Однако развитие глаза находится еще и под контролем генетических модулей, непосредственно не связанных с функцией зрения. Именно эти модули во многом и определяют конкретную морфологическую организацию глаза в частных группах. Рассмотрим один из конкретных случаев.



**Рис. 17.** Развитие сложного глаза в антеннально-глазном диске у дрозофилы (по Gerhart & Kirschner, 1997; Cavodeassi et al., 2001; Hurley et al., 2001).

*A* – Образование морфогенетической борозды. *B* – Дифференциация фоторецепторных клеток (*R1–R8*) омматидия (недифференцированные клетки не показаны). *Мб* – морфогенетическая борозда; *DV* – дорсо-вентральная граница; *Iro-m* – *iroquois-mirror* комплекс; остальные сокращения как на рис. 6–7 и 15.

**Fig. 17.** Development of the *Drosophila* compound eye in eye-antenna disc (adapted from Gerhart & Kirschner, 1997; Cavodeassi et al., 2001; Hurley et al., 2001).

*A* – Formation of morphogenetic furrow. *B* – Differentiation of photoreceptor cells (*R1–R8*) of ommatidia (uncommitted cells are not shown). *Мб* – Morphogenetic furrow; *DV* – Dorso-ventral boundary; *Iro-m* – *iroquois-mirror* complex; the rest of abbreviations as in Figs 6–7 and 15.

Сложный глаз у дрозофилы составлен примерно из 800 фасеток (омматидиев). Развитие фасеток начинается с середины 3-го личиночного возраста и связано с образованием в клетках задней части глазного диска морфогенетической борозды, которая движется в виде волны, последовательно захватывая все новые и новые области эпителия. Инициация борозды связана с геном *Hh*, экспрессия которого стимулируется эпидермальным фактором роста *Egf*. Белок *Hh* имеет, видимо, две функции. Будучи морфогеном, он постепенно сдвигает борозду кпереди. Кроме того, *Hh* активирует в борозде *Dpp*-сигнальную цепь, которая обеспечивает нейрональную дифференциацию клеток. По краям кпереди от борозды происходит экспрессия белка *Wg*, который очерчивает будущий глаз с боков (рис. 17). В центре же диска *wg* подавляется глазными генами второго уровня, *eyes absent* (*eya*) и *eyegone* (*eyg*), что обеспечивает переключение *Hh* на активацию *Dpp*-сигнальной цепи.

Процесс образования фасеток в области прохождения морфогенетической борозды начинается с нейрональной дифференциации эмбриональных клеток в кластеры из восьми фоторецепторных клеток R1-R8 (Gerhart & Kirschner, 1997). Она осуществляется через так называемую латеральную ингибицию, когда специализирующаяся клетка подавляет дифференциацию в том же направлении соседних клеток (смотри раздел 2.2, сигнальные белки). Первыми специфицируются R8-клетки, которые играют роль центров формирования омматидиев; в поле их действия находятся 19 ближайших недифференцированных клеток. Как результат, позади морфогенетической волны формируется регулярный паттерн размещения 20-клеточных кластеров с центральной клеткой R8. Нейрон R8 индуцирует экспрессию гена *roagh* в двух соседних клетках (будущих нейронов R2 и R5), расположенных на противоположных от R8 сторонах (рис. 17). На следующем этапе, благодаря активности гена *seven-up*, специализируются две пары клеток R3/R4 и R1/R6, причем во второй паре *Seven-up* действует совместно с рецептором *Sevenless*. Заключительный шаг связан с дифференциацией нейрона R7, имеющей место только у недифференцированной клетки, непосредственно контактирующей с нейроном R8. Последний секретирует трансмембранный белок *Bride-of-sevenless* (*Boss*), который является лигандом для трансмембранного односпирального белка *Sevenless*, показывающего протеинтирозинкиназную активность. С рецепторной частью димера *Sevenless*, составленного из двух молекул, соединяется лиганд *Boss*. Такой тип взаимодействия лиганда и рецептора мы обсуждали на примере *Notch*

сигнального пути (рис. 5). В клетке возбуждение от Boss передается по Ras/Raf/МАРК-сигнальному пути, который мы упоминали, говоря об эпидермальном факторе роста (рис. 6 А).

После дифференциации восьми фоторецепторных клеток вокруг них специализируются сначала четыре клетки, дающие кристаллический конус (земперовы клетки), затем ирисовые пигментные клетки и, наконец, остальные клетки омматидия.

Существенной особенностью развития глазного имагинального диска является его разделение на дорсальный и вентральный компартменты. Развивающиеся фасетки на стадии трех клеток (R2-R8-R5) ориентированы параллельно фронту морфогенетической борозды. Перед спецификацией R7 кластеры R-клеток по обе стороны экватора поворачиваются, образуя между собой прямой угол (рис. 17). Ключевая роль в дорсо-вентральной спецификации глаза принадлежит нескольким генам. В дорсальной сфере проявляет активность комплекс генов *iroquois-mirror*, который ограничивает область экспрессии гена *fringe* (*fng*) вентральной сферой. Напомним (раздел 6.2, рис. 15), что *iroquois* и *fringe* образуют ключевой модуль при формировании дорсо-вентральных различий также в крыле насекомых, и эта параллель была отмечена многими. В крыльях, правда, *fng* активен в дорсальной сфере, а в развивающихся глазах – в вентральном компартменте, однако это различие несущественное. В крыловом диске образуются три компартмента (рис. 15), причем области экспрессии *iro-C* и *fng* соседствуют. Глазной же диск дрозофилы разделяется на два компартмента, но области экспрессии *iro* и *fng* в нем, как и в крыле, соседствуют.

Таким образом, фоторецепторные и связанные с ними светопреломляющие и пигментные клетки объединяются в структуру, близкую по генетическому определению к крылу насекомых. В эту картину композиционного строения фасеточного глаза насекомых хорошо вписываются данные по гомеозисным мутациям. Доминантная мутация *Nasobemia* преобразует усики дрозофилы в среднегрудные ноги и (реже) глаза в крылья. Сходный эффект преобразования глаз в крылья дает гомеозисная мутация *ophthalmoptera* у дрозофилы (Kauffman, 1993). В целом, усики и глаза у дрозофилы показывают морфогенетические зависимости, которые во многом повторяют таковые между ногами и крыльями. Возможно, как-то связан с этим и тот факт, что у дрозофилы имагинальные диски для усиков, глаз, ног, крыльев и жужжалец сгруппированы вместе и далеко отстоят от имагинальных дисков ротовых частей, сконцентрированных в головной части личинки.

Отметим еще одну интересную особенность регуляторных генов, важную для характеристики морфотипа. В разных группах они определяют функциональный тип структур независимо от того, насколько сильно эти последние изменились в процессе эволюции. Мы уже приводили пример с геном *Distalless*, имеющим ключевое значение при формировании слуховых и обонятельных органов как у насекомых, так и у позвоночных. Здесь важно подчеркнуть, что связь органов может проявляться на более глубоких, чем тканевый, уровнях: на клеточном и даже на молекулярном. Так, беспозвоночные, как правило, имеют фоторецепторные клетки с микровиллями (цитоплазматическими выростами), тогда как у позвоночных эти клетки несут реснички (цилии). У первых поглощение фотонов открывает в клетках ионный канал, а у вторых этот канал, наоборот, закрывается, что связано с использованием разных сигнальных путей при передаче светового возбуждения. У позвоночных трансмембранный фоторецептор родопсин использует сигнальную цепь с циклической ГМФ (цГМФ, гуанозинмонофосфат, cyclic GMP) по схеме: свет → родопсин → G-белок трансдуцин → цГМФ-фосфодиэстераза → ГМФ → закрытие катионного канала (Кольман и Рем, 2000; Cooper, 2000). У беспозвоночных же используется инозит-трифосфат, открывающий кальциевые каналы. Имеются различия, в том числе и в плане эмбрионального происхождения, и в других клетках, существенных для обеспечения функции зрения. Единственное, что объединяет все типы глаз, так это наличие в микровиллях или в ресничках светочувствительного трансмембранного белка опсина, который гомологичен у всех животных.

До этого мы соотносили модули с архетипом. Но архетип есть целое из гомологизированных частей (Шаталкин, 2002). В нашем последнем примере генетические модули определяют структуры, составляющие части которых не гомологичны. Регуляторные гены не определяют того, из каких конкретно клеток и тканей будет сформирован орган (морфотип) и как он будет устроен в деталях. Но именно от них зависит внутренняя организация органа, определяющая его назначение. Это подводит нас к еще более широкой концепции морфотипа.

В самой общей форме такая концепция была намечена еще Аристотелем, который в структуре вещей различал эйдос («внутреннюю форму») и «материю» (подробнее смотри: Шаталкин, 1993). «Внутренняя форма» есть конструктивное отношение, связывающее элементы в целостный объект и делающее последний качественно отличным от других объектов. Например, элементы, образующие дом,

должны быть определенным образом соединены, чтобы получился именно дом, т.е. объект определенного вида (формы) и назначения. «Материя» есть натурная составляющая вещи, например, камни или бревна, из которых может быть построен дом. Аристотель особо выделял природные объекты, поскольку их эйдосы должны включать в себя целеполагающие причины, определяющие структуру объекта применительно к его назначению (функции). Эйдосы искусственных объектов лишены имманентных целевых установок: идея дома и то, как и из чего он может быть построен, находится в голове строителя. А «идея устройства» организма находится в нем самом.

Параллели с аристотелевской интерпретацией видны при рассмотрении некоторых развивающихся морфологических структур, например, глаз. Регуляторные гены не определяют их натурное состояние, т.е. используемые типы клеток и тканей, но они управляют другими генами, от которых это зависит. Эти другие гены могут различаться в сестринских группах как в плане специфики определяемых ими клеточных типов, так и по источнику эмбриональных тканей, в которых они активны.

## Заключение

Мы находимся в начале нашего пути к новой эволюционной биологии. Первые результаты оказались впечатляющими. Прежде всего, зримо выявилось структурное единство животного мира, на котором настаивал Ж. Сент-Илер в своем споре с Ж. Кювье. Исследования в этом направлении должны внести существенные коррективы в наше понимание гомологии. Другой аспект, имеющий также глубокие исторические корни, касается внутренней организации животных. Животные показывают модулярное строение, и это возвращает нас к идеям И. Гете, который считал, что организмы построены из небольшого числа базисных морфологических единиц, наблюдаемых в их различных метаморфизированных состояниях. Такие эквивалентные единицы внутри отдельного организма получили название гомономных. Проблеме гомономности теперь придан новый импульс. Структурные связи, о которых мы раньше не подозревали, например, между такими морфологически несходными органами, как крылья и глаза насекомых, оказались очевидными на генетическом уровне. Эти и подобные им связи теперь войдут в круг интересов морфологов, а их

анализ даст основания для конкретной проработки на новом уровне гетевской идеи «метаморфозов».

Для морфологов наступает время нового синтеза. Он, как следует из нашего обсуждения, будет сопряжен с переоценкой традиционного понятийного аппарата, выдвижением новых морфологических концепций и более глубоким осмыслением морфотипа.

Большую помощь при подготовке настоящей работы оказали зарубежные коллеги: David N. Arnosti (Michigan State University), Richard W. Beeman и Susan M. Haas, (USDA, ARS, Grain Marketing and Production Research Center), Gregory K. Davis и Nipam H. Patel (University of Chicago), Walter J. Gering (Biozentrum, University of Basel), Linda Z. Holland (University of California at San Diego), Alessandro Minelli (University of Padova). Всем им автор выражает искреннюю признательность.

### Summary

In work the opportunity of definition of a morphotype on a genetic basis is investigated. Last years were marked cardinal, it is possible to tell, revolutionary changes in developmental biology and molecular systematics. Successes of the first have been connected to disclosing genetic constituent of the morphoprocess, allowed, on expression of Raff, 1996, to coordinate in uniform model genes, ontogeny, and evolution. Molecular reconstructions have considerably changed our representation about the basic stages of evolution. In classification of Invertebrata insects appeared relatives of Nematoda, instead of annelids as considered till now. If molecular reconstructions are true, it means, that reduction of two phyletic lines in one took place in traditional classification (Fig. 2).

Molecular reconstructions have called into question practice of typological extrapolations of which reliability before very few people doubted. The typology considered, that complex morphological structures as reflecting huge number of ontogenic, constructive, and functional connections, are unique and less all are subject to changes. Following this position, in the morphological series describing possible sequence of change of structures, saw some kind of the evolutionary mould closest answering to phylogeny. To this belief in unity and stability of morphological series the end has been put by molecular classifications. If old morphotypes do not reflect real groups new understanding of

morphotype, which would take into account the data of molecular researches, is necessary for us. The basis for revision of this notion now are available and are connected to successes of developmental genetics which for the first time has approached to deciphering of structure of morphotype.

The morphotype is ideal representation about the sum of essential similarities of an organism or its separate parts. Between morphostructures different levels of a generality are possible. The highest level of a morphotype is correspond to body plans. In the literature the body plan is defined differently (Arthur, 1997). Here we follow some authors who concentrated attention on the spatial organization of the basic components of a body irrespective of their structure and function. The body plan in this case is set of the general features of arranging of organs and their spatial organization. At such understanding the body plan will be defined by smaller number of parameters which count only four: (1) structure of the basic axes and planes of a body, (2) homonomous parts concerning segmentation, (3) tagmosis, (4) presence of appendages of a different kind and destination, their structure and a spatial arrangement.

From results of the molecular reconstruction in brief marked in introduction, we know, that it not the best way to use similarity for definition of a morphotype. Now however the opportunity has appeared to define a morphotype on a genetic basis. If morphotype to consider as expression of the spatial organization of parts of a body through developmental genes we in real earnest approach to its substantial understanding.

In work the following questions are in detail considered: gene structure, transcriptional factors and signal molecules, antero-posterior and dorso-ventral polarization of the *Drosophila* oocyte, the main genes involved in segmentation, in development of legs, wings, compound eye of *Drosophila*. On some from these questions it is necessary to stop more in detail.

In insect development the dual nature of segments is precisely shown The first type of segments is connected to the genetic cascade including pair-rule, segment polarity, and homeotic genes. The pair-rule genes give parasegments. The second type of segments is formed irrespective of parasegments and ahead of them. Minelli (2000a, b; 2001) has named these segments the naupliar.

Some pair-rule genes are expressed in odd- or even-numbered parasegments. Minelli (2000a, b; 2001), in essence, has given the first explanation of so strange peculiarity in behaviour of pair-rule genes. He has made the assumption about the two-phase mechanism of formation of

parasegments. First there are primary segments among seven in *Drosophila*. Then each parasegment except for the first divides into two new. The segments answering to the first group of parasegments, he has named the basic, or eosegments. The segments formed as a result of division of parasegments, have been named merosegments. As a whole number of the parasegments and segments answering to them is the same in Arthropoda and equally to ten. These parasegments then are split into secondary parasegments. As to the naupliar segments, their number it is equal to three and they correspond to a protocephalon (Snodgrass, 1935). The given scenario finds support in the results of studying the earliest stages of animal evolution. The head, probably, was issued by the first in evolution. Its formation was accompanied by functional specialization of *Lim-* and Paired (*Prd*) genes playing a key role in formation of a head of an animal. Later at the following stages of evolution the trunk with the complex of trunk genes including Hox genes was formed (Peterson & Davidson, 2000).

Minelli (2000b) has expressed opinion, that animal appendages represent duplicates of the main axis of a body. The problem of duplication of axes always can be converted in a problem of co-optation of already available genes into genetic programme of new structure. Though many spoke about such opportunity, only Minelli has specified, that here there should be a reorganization of axial relations. Concerning the actual state of affairs, we at once should tell, that the genes, determining antero-posterior axis of animal body, are important at early stages of development. Therefore it seems to us, that it will be better to consider appendages as duplicates of axes of segments. In this case at once there is obvious a similarity in genetic means of polarization of both segments and appendages. The following fact receives a relative explanation: appendages are inherent for those animals that have well developed, and in particular, heteronomous segments.

Unlike legs development of wings in insects goes under other circuit. It, probably, there are two evolutionary mechanisms of formation of insect legs and wings. If legs to consider as duplication of axial relations in a segment, any other scenario is necessary for an explanation of an origin of wings. In due time Arthur (1997) has offered the simple circuit of limb formation, considering limbs as lateral outgrowths of trunk. Accordingly all relations between key genes in these outgrowths and first of all distribution of *Engrailed* should correspond to a picture observable inside a segment.



The dorsal and ventral appendages are characterized by the morphological parameters on which they differ from a trunk. Therefore additional complexes of the genes, determining, in particular, various compartments along antero-posterior, dorso-ventral, and proximo-distal axis, take part in their development. In other words, appendages are composite structures. Their composite nature is especially indicative in case of compound eyes. Alongside with the genes determining the visual apparatus, other complex of genes similar to genes of a wing, plays a key role in development of an eye.

Traditionally morphotype are considered as generalized notion about similar morphological structures, i.e. as a static design. But the morphostructures do not arise in a ready kind, they are defined in development and in this sense are characterized by dynamics. The dynamic aspect has found expression in the concept of the modular organization of structures and living systems as a whole (Raff, 1996).

Genetic systems form the lowest level of modular organization. Elementary genetic systems (EGS), probably, should be counted signal systems as the following sequence: extracellular ligand → transmembrane receptor → intracellular signal transmitters → transcription factors → target gene → [signaling or transcriptional proteins]. In an organism EGS are united in more large-scale units, which control formation of those or other morphological structures or parts of a body. The genetic modules expands concept of a morphotype at least in three directions.

1. Due to genes we are able to understand the spatial organization even when it has no precise expression as any morphological structures, for example, arrangement of organs along various axes of a body.

2. The spatial connections seen only in development, can be included in the description of a morphotype. It means that between compartments and final organization of morphostructure can not be full conformity. Parasegments are an indicative example. From this example also follows, that the genetic approach gives more full understanding of a morphotype. So, through parasegments we are capable to allocate evolutionary autonomous parts which at traditional morphological description are not obvious.

3. At last, it was possible to reveal the unity of a morphotype determined at deeper structural level. We saw it in case of eye development. Eyes in different groups differ as a structure (pinhole eyes, compound eyes, cameral eyes and others), development and at a cellular level (microvilli- or ciliated-type photoreceptor cells; cyclic GMP or Inositol 1,4,5-trisphosphate as the second messenger in transmitting the visual

signals). But all of them (as light-sensing organs) are derived from a single prototypic eye and, therefore, are homologous (Gehring & Ikeo, 1999). This type of homology is named transformational. Various types of eyes are transformational homologs. On the other hand compound eyes of insects and cameral eye of vertebrate are not homologous. They correspond with different state of feature which could not be simultaneously in the common ancestor of these groups. In insects compound eye are homologous. In this case the some people speak about the taxic homology and taxic homologous similarities name synapomorphy. The given similarity is based on comparison of **identical** states of character. In case of the transformational homology it is a matter of comparison of **different** structures of a morphological series. For clearness we shall result a similar example which repeatedly discussed. Wings of birds and bats are homologous as transformational states of fore limbs and are not homologous as wings, i.e. as taxic homologs. The last means, that wings are not synapomorphy for considered groups.

In case of an eye genetic modules define structure in which their own parts are not homologous. We, thus, come to wider concept of morphotype. In the most general form this concept has been outlined by Aristotle in an antiquity. He distinguished the idea, or eidos and a matter in structure of things (their formal and material causes). The eidos (form) is the constructive relation connecting elements in complete object and making last qualitatively distinct from of other objects. For example, the elements forming the house, should be definitely connected, that the house, i.e. object of the certain form and destination has turned out. The matter is a natural constituent of a thing, for example, stones or logs from which the house can be constructed. Parallels with this interpretation are visible by consideration of some structures, for example, eyes. Regulatory genes do not determine natural constituents of an eye, i.e. used types of cells and embryonal tissues. But they regulate other genes on which it depends.

## Литература

- Беклемишев В.Н. 1964.** *Основы сравнительной анатомии беспозвоночных.* М., Наука. Т. 1. 432 с. Т. 2. 446 с.
- Воронов Д.А. 2000.** Старая гипотеза «перевернутости» хордовых подтверждается // *Природа*, **11**: 18-22.
- Зарайский Ф.Г. 2001.** *Нох-гены в эмбрио- и филогенезе* // *Онтогенез*, **32**: 3-13.
- Знойко И.Ю. 1999.** Гомеобоксные гены: структура и экспрессия в ходе развития и регенерации // *Изв. АН, Сер. биол.*, **6**: 133-144.
- Инге-Вечтомов С.Г. 1989.** *Генетика с основами селекции.* М., Высшая школа. 592 с.
- Клюге Н.Ю. 2000.** *Современная систематика насекомых.* СПб., Лань. 334 с.
- Кольман Я., Рём К.-Г. 2000.** *Наглядная биохимия.* М., Мир. 470 с.
- Корочкин Л.И. 1999.** *Введение в генетику развития.* М., Наука. 254 с.
- Льюин Б. 1987.** *Гены.* М., Мир. 544 с.
- Малахов В.В. 1982.** Новый взгляд на происхождение хордовых // *Природа*, **5**: 12-19.
- Мельников О.А. 1974.** К вопросу о числе передних ларвальных сегментов тела у Arthropoda в связи с проморфологией и морфологической эволюцией этих животных // *Журн. общ. биол.*, **35**: 858-873.
- Пучкова Л.В. 1972.** Ларвальные и постларвальные сегменты головы насекомых // *Вестн. зоол.*, **4**: 52-58.
- Старобогатов Я.И. 2000.** Принцип основных компонентов тела и филогенетические отношения типов целомических животных. 1. Основные компоненты тела, эволюция целомических образований и филогения вторичноротых // *Зоол. журн.*, **79**: 5-18.
- Шаталкин А.И. 1993.** Аристотель и систематика. К вопросу об основаниях типологии // *Журн. общ. биологии*, **54**: 243-252.
- Шаталкин А.И. 2002.** Проблема архетипа и современная биология // *Журн. общ. биологии*, **63**: 275-291.
- Шванвич Б.Н. 1949.** *Курс общей энтомологии.* М.-Л., Советская Наука. 895 с.
- Abzhanov A., Kaufman T. C. 1999a.** Homeotic genes and the arthropod head: expression patterns of the *labial*, *proboscipedia*, and *Deformed* genes in crustaceans and insects // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 10224-10229.

- Abzhanov A., Kaufman T. C. 1999b.** Novel regulation of the homeotic gene *Scr* associated with a crustacean leg-to-maxilliped appendage transformation // *Development*, **126**: 1121-1128.
- Abzhanov A., Kaufman T. C. 2000a.** Crustacean (malacostracan) *Hox* genes and the evolution of the arthropod trunk // *Development*, **127**: 2239-2249.
- Abzhanov A., Kaufman, T. C. 2000b.** Embryonic expression patterns of the *Hox* genes of the crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea, Decapoda) // *Evol. Dev.*, **2**: 271-283.
- Abzhanov A., Kaufman T. C. 2000c.** Homolog of *Drosophila* appendage genes in the patterning of Arthropod limbs // *Dev. Biol.*, **227**: 673-689.
- Abzhanov A., Popadic A., Kaufman T.C. 1999.** Chelicerate *Hox* genes and the homology of arthropod segments // *Evol. Dev.*, **2**: 77-89.
- Adoutte A., Balavoine G., Lartillot N., de Rosa R. 1999.** Animal evolution: the end of the intermediate taxa? // *TIG*, **15**: 104-108.
- Affolter M., Marty T., Vigano M.A., Jazwinska A. 2001.** Nuclear interpretation of Dpp signaling in *Drosophila* // *EMBO J.*, **20**: 3298-3305
- Aparicio S. 2000.** Vertebrate evolution: recent perspectives from fish // *TIG*, **16**: 54-56.
- Arenas-Mena C., Martinez P., Cameron R. A., Davidson E.H. 1998.** Expression of the *Hox* gene complex in the indirect development of a sea urchin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 13062-13067.
- Arias A.M., Brown A.M., Brennan K. 1999.** *Wnt* signalling: pathway or network? // *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **9**(4): 447-54
- Arnosti D.N. 2002.** Design and function of transcriptional switches in *Drosophila* // *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **32**(10): 1257-1273.
- Arnosti D.N. 2003.** Analysis and function of transcriptional regulatory elements: Insights from *Drosophila* // *Annu. Rev. Ent.*, **48**: 579-602.
- Arnosti D.N., Barolo S., Levine M., Small S. 1996.** The eve stripe 2 enhancer employs multiple modes of transcriptional synergy // *Development*, **122**: 205-214.
- Arthur W. 1997.** *The origin of animal body plans*. Cambridge, Camb. Univ. Press. 338 pp.
- Averof M., Akam M.E. 1995.** *Hox* genes and the diversification of the insect and crustacean body plans // *Nature*, **376**: 420-423.
- Averof M., Patel N.H. 1997.** Crustacean appendage evolution associated with changes in *Hox* gene expression // *Nature*, **388**: 682-686.
- Ax P. 1999.** *Das System der Metazoa II. Ein Lehrbuch der Phylogenetischen Systematik*. Stuttgart, Akad. Wiss. u. Literatur. 384 S.

- Barnes R.S.K., Calow P., Olive P.J.W. 1993.** *The invertebrates, a new synthesis.* Oxford, Blackwell Publishing Ltd. 496 pp.
- Beeman R.W., Stuart J.J., Brown S.J., Denell R.E. 1993.** Structure and function of the homeotic gene complex (HOM-C) in the beetle, *Tribolium castaneum* // *BioEssays*, **15**: 439-444.
- Belvin M.P., Anderson K.V. 1996.** A conserved signaling pathway: the *Drosophila* Toll-Dorsal pathway // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **12**, 393-416.
- Binner P., Sander K. 1997.** Pair-rule patterning in the honeybee *Apis mellifera*; expression of *even-skipped* combines traits known from beetles and fruitfly // *Dev. Genes Evol.*, **206**: 447 -454.
- Boore J. L., Lavrov D. V., Brown W. M. 1998.** Gene translocation links insects and crustaceans // *Nature*, **392**: 667-668.
- Bossing T., Brand A.H. 2002.** Dephirin, a transmembrane ephrin with a unique structure, prevents interneuronal axons from exiting the *Drosophila* embryonic CNS // *Development*, **129**: 4205-4218.
- Boudreaux H.B. 1979.** *Arthropod phylogeny with special reference to insects.* N.Y., Wiley-Intersci. Publ. 320 pp.
- Brodu V., Elstob P. R., Gould A. P. 2002.** *Abdominal-A* specifies one cell type in *Drosophila* by regulating one principal target gene // *Development*, **129**: 2957-2963.
- Brown S.J., DeCamillis M., Gonzalez-Charneco K., Denell M., Beeman R., Nie W., Denell R. 2000.** Implications of the *Tribolium* *Deformed* mutant phenotype for the evolution of *Hox* gene function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **97**: 4510-4514.
- Brown S.J., Fellers J. P., Shippy T.D., Richardson E.A., Maxwell M., Stuart J.J., Denell R.E. 2002.** Sequence of the *Tribolium castaneum* homeotic complex. The region corresponding to the *Drosophila melanogaster* Antennapedia complex // *Genetics*, **160**: 1067-1074.
- Brown S.J., Holtzman S., Kaufman T.C., Denell R.E. 1999a.** Characterization of the *Tribolium* *Deformed* ortholog and its ability to directly regulate *Deformed* target genes in the rescue of a *Drosophila* *Deformed* null mutant // *Dev. Genes Evol.*, **209**: 389-398.
- Butt F.H. 1960.** Head development in the arthropods // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, **35**: 43-91.
- Cadigan K.M., Nusse R. 1997.** *Wnt* signaling: a common theme in animal development // *Genes Dev.*, **11**: 3286-3305.
- Cavodeassi F., Modolell J., Gomez-Skarmeta J.L. 2001.** The Iroquois family of genes: from body building to neural patterning // *Development*, **128**: 2847-2855.

- Chu J., Dong P.D.S., Panganiban G. 2002.** Limb type-specific regulation of *bric a brac* contributes to morphological diversity // *Development*, **129**: 695-704.
- Cooper G.M. 2000.** *The cell. A molecular approach*. Washington, ASM Press. 689 pp.
- Cuevas M. de, Spradling A.C. 1998.** Morphogenesis of the *Drosophila* fusome and its implications for oocyte specification // *Development*, **125**: 2781-2789.
- Damen W.G. 2002.** Parasegmental organization of the spider embryo implies that the parasegment is an evolutionary conserved entity in arthropod embryogenesis // *Development*, **129**: 1239-1250.
- Damen W.G.M., Hausdorf M., Seyfarth E.-A., Tautz D. 1998.** A conserved mode of head segmentation in arthropods revealed by the expression pattern of *Hox* genes in a spider // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 10650-10670.
- Damen W.G.M., Tautz D. 1998.** A *hox* class 3 orthologue from the spider *Cupiennius salei* is expressed in a *Hox*-gene-like fashion // *Dev. Genes Evol.*, **208**: 586-590.
- Damen W.G., Weller M., Tautz D. 2000.** Expression patterns of *hairy*, *even-skipped*, and *runt* in the spider *Cupiennius salei* imply that these genes were segmentation genes in a basal arthropod // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 4515-4519.
- Davis G.K., Jaramillo C.A., Patel N.H. 2001.** Pax group III genes and the evolution of insect pair-rule patterning // *Development*, **128**: 3445-3458.
- Davis, G.K., Patel N.H. 2002.** Short, long and beyond: molecular and embryological approaches to insect segmentation. // *Annu. Rev. Ent.*, **47**: 669-699.
- Dearden P., Akam M. 2000.** A role for Fringe in segment morphogenesis but not segment formation in the grasshopper, *Schistocerca gregaria* // *Dev. Genes Evol.*, **210**: 329-336.
- Dearden P.K., Donly C., Grbi M. 2002.** Expression of pair-rule gene homologues in a chelicerate: early patterning of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* // *Development*, **129**: 5461-5472.
- Dong P.D.S., Chu J., Panganiban G. 2001.** Proximodistal domain specification and interactions in developing *Drosophila* appendages // *Development*, **128**: 2365-2372.
- Dorfman R., Shilo B.-Z. 2001.** Biphasic activation of the BMP pathway patterns the *Drosophila* embryonic dorsal region // *Development*, **128**: 965-972.

- Edgecombe G.D., Wilson G.D.F., Colgan D.J., Gray M.R., Cassis G. 2000.** Arthropod cladistics: combined analysis of histone H3 and U2 snRNA sequences and morphology // *Cladistics*, **16**: 165-203.
- Estrada, B., Sónchez-Herrero, E. 2001.** The Hox gene *Abdominal-B* antagonizes appendage development in the genital disc of *Drosophila* // *Development*, **128**: 331-339.
- Falciani F., Hausdorf B., Schroder R., Akam M., Tautz D., Denell R., Brown S. 1996.** Class 3 Hox genes in insects and the origin of *zen* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 8479-8484.
- Galindo M.I., Bishop S.A., Greig S., Couso J.P. 2002.** Leg patterning driven by proximal-distal interactions and EGFR signaling // *Science*, **297**: 256-259.
- Galliot B., Miller D. 2000.** Origin of anterior patterning: how old is our head? // *TIG*, **16**: 1-5.
- Gehring W.L., Ikeo K. 1999.** Pax 6: mastering eye morphogenesis and eye evolution // *Trends Genet.*, **15**: 371-377.
- Gerhart J., Kirschner M. 1997.** *Cells, embryos, and evolution*. Malden, Blackwell Science. 642 pp.
- Gilbert S.F., Bolker J.A. 2001.** Homologies of process and modular elements of embryonic construction // *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, **291**: 1-12.
- Giribet G., Edgecombe G.D., Wheeler W.C. 2001.** Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology // *Nature*, **413**: 157-161.
- Giribet G., Rivera A. 2000.** A review of arthropod phylogeny: new data based on ribosomal DNA sequences and direct character optimization // *Cladistics*, **16**: 204-231.
- Giribet G., Wheeler W.C. 1999.** The position of arthropods in the animal kingdom: Ecdysozoa, islands, trees, and the "Parsimony ratchet" // *Mol. Phylogenet. Evol.*, **13**: 619-23.
- Glise B., Jones L., Ingham P.W. 2002.** Notch and Wingless modulate the response of cells to Hedgehog signaling in *Drosophila* wing // *Dev. Biol.*, **248**: 93-106.
- Goff D.J., Nilson L.A., Morisato D. 2001.** Establishment of dorsal-ventral polarity of the *Drosophila* egg requires *capicua* action in ovarian follicle cells // *Development*, **128**: 4553-4562.
- Gonzalez-Reyes A. 2003.** Stem cells, niches and cadherins: a view from *Drosophila* // *J. Cell Sci.*, **116**: 949-954.
- Gorfinkiel N., Sónchez L., Guerrero I. 2003.** Development of the *Drosophila* genital disc requires interactions between its segmental primordia // *Development*, **130**: 295-305.

- Graef I.A., Gastier J.M., Francke U., Crabtree G.R. 2001.** Evolutionary relationships among Rel domains indicate functional diversification by recombination // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**: 5740-5745.
- Grbi M., Strand M.R. 1998.** Shifts in the life history of parasitic wasps correlate with pronounced alterations in early development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 1097-1101.
- Greenwald I. 1998.** LIN-12/Notch signaling: Lessons from worms and flies // *Genes Dev.* **12**: 1751-1762
- Grenier J.K., Carroll S.B. 2000.** Functional evolution of the *Ultrabithorax* protein // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 705-709.
- Grieder N.C., Cuevas M. de, Spradling A.C. 2000.** The fusome organizes the microtubule network during oocyte differentiation in *Drosophila* // *Development*, **127**: 4253-4264.
- Haas M.S., Brown S.J., Beeman R.W. 2001a.** Homeotic evidence for the appendicular origin of the labrum in *Tribolium castaneum* // *Dev. Genes Evol.*, **211**: 96-102.
- Haas M.S., Brown S.J., Beeman R.W. 2001b.** Pondering the procephalon: the segmental origin of the labrum // *Dev. Genes Evol.*, **211**: 89-95.
- Han Z., Firtel R.A. 1998.** The homeobox-containing gene *Wariai* regulates anterior-posterior patterning and cell-type homeostasis in *Dictyostelium* // *Development*, **125**: 313-325.
- Holland L.Z., 2000.** Body-plan evolution in the Bilateria: early antero-posterior patterning and the deuterostome-protostome dichotomy // *Curr. Opinion Genet. Dev.*, **10**: 434-442.
- Hughes C.L., Kaufman T.C. 2002a.** Exploring the myriapod body plan: expression patterns of the ten Hox genes in a centipede // *Development*, **129**: 1225-1238.
- Hughes C.L., Kaufman T.C. 2002b.** Exploring myriapod segmentation: the expression patterns of *even-skipped*, *engrailed*, and *wingless* in a centipede // *Dev. Biol.*, **246**: 47-61.
- Hughes C.L., Kaufman T.C. 2002c.** Hox genes and the evolution of the arthropod body plan // *Evol. Dev.*, **4**: 459-499.
- Hughes C.L., Krause H.M. 2001.** Establishment and maintenance of parasegmental compartments // *Development*, **128**: 1109-1118.
- Hurley I., Fowler K., Pomiankowski A., Smith H. 2001.** Conservation of the expression of Dll, en, and wg in the eye-antennal imaginal disc of stalk-eyed flies // *Evol. Dev.*, **3**: 408-412.
- Hwang U.W., Fridrich M., Tautz D., Park C.J., Won K. 2001.** Mitochondrial protein phylogeny joins myriapods with chelicerates // *Nature*, **413**: 154-157.



- Ingham P.W., McMahon A.P. 2001.** *Hedgehog* signaling in animal development: paradigms and principles // *Genes Dev.*, **15**: 3059-3087.
- Iwahara J., Iwahara M., Daughdrill G.W., Ford J., Clubb R.T. 2002.** The structure of the Dead ringer-DNA complex reveals how AT-rich interaction domains (ARIDs) recognize DNA // *EMBO J.*, **21**: 1197-1209.
- Jagla K., Bellard M., Frasch M. 2001.** A cluster of *Drosophila* homeobox genes involved in mesoderm differentiation // *BioEssays*, **23**: 125-133.
- Jenuwein Th., Allis C.D. 2001.** Translating the histone code // *Science*, **293**: 1074-1080.
- Jockusch E.L., Nulsen C., Newfeld S.J., Nagy L.M. 2000.** Leg development in flies versus grasshoppers: differences in *dpp* expression do not lead to differences in the expression of downstream components of the leg patterning pathway // *Development*, **127**: 1617-1626.
- Johnston D.S. 2001.** The beginning of the end // *EMBO J.*, **20**: 6169-6179.
- Kauffman S.A. 1993.** *The origins of order. Self-organization and selection in evolution.* Oxford, Oxford Univ. Press. 709 pp.
- Kraft R., Jackle H. 1994.** *Drosophila* mode of metamerization in the embryogenesis of the intermediate-germ band insect *Manduca sexta* (Lepidoptera) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 6634-6638.
- Lall S., Patel N.H. 2001.** Conservation and divergence in molecular mechanisms of axis formation // *Annu. Rev. Genet.*, **35**: 407-437.
- Levine M. 2002.** How insects lose their limbs // *Nature*, **415**: 848-849.
- Lin X., Buff E.M., Perrimon N., Michelson A.M. 1999.** Heparan sulfate proteoglycans are essential for FGF receptor signaling during *Drosophila* embryonic development // *Development*, **126**: 3715-3723.
- Lühr, U., Yussa, M., Pick, L. 2001.** *Drosophila fushi tarazu* a gene on the border of homeotic function // *Curr. Biol.*, **11**: 1403-1412.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2000.** *Brock biology of microorganisms.* New Jersey, Prentice-Hall. 991 pp.
- Massagué J., Chen Y.-G. 2000.** Controlling TGF- $\beta$  signaling // *Genes Dev.*, **14**: 627-644.
- Meyerowitz E.M. 2002.** Plant compared to animals: the broadest comparative study of development // *Science*, **295**: 1482-1485.
- Micklem D.R., Adams J., Gr̃nert S., Johnston D.S. 2000.** Distinct roles of two conserved Stauf domains in *oskar* mRNA localization and translation // *EMBO J.*, **19**: 1366-1377
- Milan M., Cohen S.M. 2000.** Subdividing cell populations in the developing limbs of *Drosophila*: do wing veins and leg segments define units of growth control? // *Dev. Biol.*, **217**: 1-9.

- Minelli A. 2000a.** Holomeric vs meromeric segmentation: a tale of centipedes, leeches, and rhombomeres // *Evol. Dev.*, **2**: 35-48.
- Minelli A. 2000b.** Limbs and tail as evolutionarily diverging duplicates of the main body axis // *Evol. Dev.*, **2**: 157-165.
- Minelli A. 2001.** A three-phase model of arthropod segmentation // *Dev. Genes Evol.*, **211**: 509-521.
- Minelli, A., Foddai, D., Pereira, L. A., Lewis, J.G.E. 2000.** The evolution of segmentation of centipede trunk and appendages // *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, **38**: 103-117.
- Morata G., Sanchez-Herrero E. 1999.** Patterning mechanisms in the body trunk and the appendages of *Drosophila* // *Development*, **126**: 2823-2828.
- Mouchel-Vielh E., Rigolot C., Gibert J. M., Deutsch J. S. 1998.** Molecules and the body plan: the *Hox* genes of Cirripedes (Crustacea) // *Mol. Phyl. Evol.*, **9**: 382-389.
- Nie W., Stronach B., Panganiban G., Shippy T., Brown S., Denell R. 2001.** Molecular characterization of *Tclabial* and the 3' end of the *Tribolium* homeotic complex // *Dev. Genes Evol.*, **211**: 244-251.
- Nielsen C. 1995.** *Animal evolution. Interrelationships of the living phyla.* Oxford, Oxford Univ. Press. 467 pp.
- Nimmo R., Woollard A. 2002.** Widespread organisation of *C. elegans* genes into operons: Fact or function? // *BioEssays*, **24**: 983-987.
- Palopoli M., Patel N.H. 1998.** Evolution of the interaction between Hox genes and a dawnstream target // *Curr. Biol.*, **8**: 587-591.
- Panganiban G., Rubenstein J.L.R. 2002.** Developmental functions of the Distal-less/Dlx homeobox genes // *Development*, **129**: 4371-4386.
- Patel N.H. 2000.** It's a bug's life // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 4442-4444.
- Patikoglou G., Burley S. K. 1997.** Eukaryotic transcription factor-DNA complexes // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **26**: 289-325.
- Peterson K.J., Davidson E.H. 2000.** Regulatory evolution and the origin of the bilaterians // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 4430-4433.
- Peterson M.D., Rogers B. T., Popadnc A., Kaufman T. C. 1999.** The embryonic expression pattern of *labial*, posterior homeotic complex genes and the *teashirt* homologue in an apterygote insect // *Dev. Genes Evol.*, **209**: 77-90.
- Popadi A., Nagy L. 2001.** Conservation and variation in *Ubx* expression among chelicerates // *Evol. Dev.* **3**: 391-396.
- Popadi A., Panganiban G., Rusch D., Shear W.A., Kaufman T.C. 1998.** Molecular evidence for the gnathobasic derivation of arthropod

- mandibles and for the appendicular origin of the labrum and other structures // *Dev. Genes Evol.*, **208**: 142-150.
- Raff R.A. 1996.** *The shape of life. Genes, development, and the evolution of animal form.* Chicago, Univ. Chicago Press. 520 pp.
- Rauskolb C. 2001.** The establishment of segmentation in the *Drosophila* leg // *Development*, **128**: 4511-4521.
- Rebay I. 2002.** Keeping the receptor tyrosine kinase signaling pathway in check: lessons from *Drosophila* // *Dev. Biol.*, **251**: 1-17.
- Rempel J.G. 1975.** The evolution of the insect head: the endless dispute // *Quaest. Ent.*, **11**: 7-25.
- Rogers B.T., Kaufman T.C. 1997.** Structure of the insect head in ontogeny and phylogeny: a view from *Drosophila* // *Int. Rev. Cyt.*, **74**: 1-84.
- Rogers B.T., Peterson M.D., Kaufman T.C. 1997.** Evolution of the insect body plan as revealed by the *Sex combs reduced* expression pattern // *Development*, **124**: 149-157.
- Rogers B.T., Peterson M.D., Kaufman T.C. 2002.** The developmental and evolution of insect mouthparts as revealed by the expression patterns of gnathocephalic genes // *Evol. Dev.*, **4**: 1-15.
- Rohr K. B., Tautz D., Sander K. 1999.** Segmentation gene expression in the mothmidge *Clogmia albipunctata* (Diptera, Psychodidae) and other primitive dipterans // *Dev. Genes Evol.*, **209**: 145-154.
- Ronshaugen M., McGinnis N., McGinnis W. 2002.** Hox protein mutation and macroevolution of the insect body plan // *Nature*, **415**: 914-917.
- Ruiz-Trillo I., Riutort M., Littlewood D.T.J., Herniou E.A., Baguca J. 1999.** Acoel flatworms: earliest extant bilaterian metazoans, not members of Platyhelminthes // *Science*, **283**: 1919-1923.
- Ruvinsky I., Gibson-Brown J.J. 2000.** Genetic and developmental bases of serial homology in vertebrate limb evolution // *Development*, **127**: 5233-5244.
- Sánchez L., Gorfinkiel N., Guerrero I. 2001.** Sex determination genes control the development of the *Drosophila* genital disc, modulating the response to Hedgehog, Wingless and Decapentaplegic signals // *Development*, **128**: 1033-1043.
- Schmidt-Ott U., Gonzalez-Gaitan M., Jackle H., Technau G.M. 1994.** Number, identity, and sequence of the *Drosophila* head segments as revealed by neural elements and their deletion patterns in mutants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 8363-8367
- Schmidt-Ott U., Technau G.M. 1992.** Expression of *en* and *wg* in the embryonic head and brain of *Drosophila* indicates a refolded band of seven segment remnants // *Development*, **116**: 111-125.

- Schoppmeier M., Damen W.C.M. 2001.** Double-stranded RNA interference in the spider *Cupiennius salei*: the role of Distal-less is evolutionarily conserved in arthropod appendage formation // *Dev. Genes Evol.*, **211**: 76-82.
- Schröder R., Eckert C., Wolff C., Tautz D. 2000.** Conserved and divergent aspects of terminal patterning in the beetle *Tribolium castaneum* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 6591-6596
- Seaver E.C., Shankland M. 2001.** Establishment of segment polarity in the ectoderm of the leech *Helobdella* // *Development*, **128**: 1629-1641.
- Shankland M., Seaver E.C. 2000.** Evolution of the bilaterian body plan: what have we learned from annelids // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 4434-4437.
- Sharpe C., Lawrence N., Arias A.M. 2001.** Wnt signalling: a theme with nuclear variations // *BioEssays*, **23**: 311-318.
- Shippy T.D., Brown S.J., Denell R.E. 1998.** Molecular characterization of the *Tribolium abdominal-A* ortholog and implications for the products of the *Drosophila* gene // *Dev. Genes Evol.*, **207**: 446-452.
- Shultz J.W., Regier J.C. 2000.** Phylogenetic analysis of arthropods using two nuclear protein-encoding genes supports a crustacean + hexapod clade // *Proc. R. Soc. Lond., Ser. B (Biol. Sci.)*, **267**: 1011-1019.
- Snodgrass R.E. 1935.** *Principles of insect morphology*. N.Y., McGraw-Hill Book Co. 667 pp.
- Stathopoulos A., Levine M. 2002a.** Linear signaling in the Toll-Dorsal pathway of *Drosophila*: activated Pelle kinase specifies all threshold outputs of gene expression while the bHLH protein Twist specifies a subset // *Development*, **129**: 3411-3419.
- Stathopoulos A., Levine M. 2002b.** Dorsal gradient networks in the *Drosophila* embryo // *Dev. Biol.*, **246**:57-67.
- Stauber M., Jackle H., Schmidt-Ott U. 1999.** The anterior determinant *bicoid* of *Drosophila* is a derived *Hox* class 3 gene // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 3786-3789.
- Stauber M., Prell A., Schmidt-Ott U. 2002.** A single *Hox3* gene with composite *bicoid* and *zerknüllt* expression characteristics in non-Cyclorrhaphan flies // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**: 274-279.
- Stauber M., Taubert H., Schmidt-Ott U. 2000.** Function of *bicoid* and *hunchback* homologs in the basal cyclorrhaphan fly *Megaselia* (Phoridae) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 10844-10849
- Suzuki Y., Palopoli M.F. 2001.** Evolution of insect abdominal appendages: are prolegs homologous or convergent traits? // *Dev. Genes Evol.*, **211**: 486-492.

- Szebenyi G., Fallon J.F. 1999.** Fibroblast growth factors as multifunctional signaling factors // *Int. Rev. Cytol.*, **185**: 45-106.
- Tabata T. 2001.** Genetics of morphogen gradients // *Nature Reviews: Genetics*, **2**: 620-630.
- Tanaka M., Mьnstenberg A., Anderson W.G. Prescott A.R., Hazon N., Tickle C. 2002.** Fin development in a cartilaginous fish and the origin of vertebrate limbs // *Nature*, **416**: 527-531.
- Telford M. J. 2000.** Evidence for the derivation of the *Drosophila fushi tarazu* gene from a Hox gene orthologous to lophotrochozoan *Lox5* // *Curr. Biol.*, **10**: 349-352.
- Telford M.J., Thomas R.H. 1998a.** Expression of homeobox genes shows chelicerate arthropods retain their deutocerebral segment // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**: 10671-10675.
- Telford M.J., Thomas R.H. 1998b.** Of mites and *zen*: expression studies in a chelicerate arthropod confirm *zen* is a divergent *Hox* gene // *Dev. Genes Evol.*, **208**: 591-594.
- Treisman J. E., Luk A., Rubin G. M., Heberlein U. 1997.** eyelid antagonizes wingless signaling during *Drosophila* development and has homology to the bright family of DNA-binding proteins // *Gen. Dev.*, **11**: 1949-1962.
- Valentine J. W. 1997.** Cleavage patterns and the topology of the metazoan tree of life // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 8001-8005.
- Valentine J.W., Collins A.G. 2000.** The significance of moulting in Ecdysozoan evolution // *Evol. Dev.*, **2**: 152-156.
- Vervoort M. 2000.** *Hedgehog* and wing development in *Drosophila*: a morphogen at work? // *BioEssays*, **22**: 460-468.
- Walldorf U., Binner P., Fleig R. 2000.** Hox genes in the honey bee *Apis mellifera* // *Dev. Genes Evol.*, **210**: 483-492.
- West A.G, Gaszner M., Felsenfeld G. 2002.** Insulators: many functions, many mechanisms // *Genes Dev.*, **16**: 271-288.
- Wolpert L., Beddington R., Brockes J. Jessell T., Lawrence P., Meyerowitz E.M. 1998.** *Principles of development*. London, Current Biology. 484 pp.
- Wray G.A., Lowe C.J. 2000.** Developmental regulatory genes and echinoderm evolution // *Syst. Biol.*, **49**: 28-51.
- Zecca M., Struhl G. 2002a.** Control of growth and patterning of the *Drosophila* wing imaginal disc by EGFR-mediated signaling // *Development*, **129**: 1369-1376.
- Zecca M., Struhl G. 2002b.** Subdivision of the wing imaginal disc by EGF-Receptor mediated signaling // *Development*, **129**: 1357-1368.

- Zheng Z., Khoo A., Fambrough D., Garza L., Booker R. 1999.** Homeotic gene expression in the wild-type and a homeotic mutant of the moth *Manduca sexta* // *Dev. Genes Evol.*, **209**: 460-472.
- Zrzavý J., Hypa V., Tietz D. 2001.** Myzostomida are not annelids: molecular and morphological support for a clade of animals with anterior sperm flagella // *Cladistics*, **17**: 170-198.
- Zrzavý J., Mihulka S., Kepka B., Bezděk A., Tietz D. 1998.** Phylogeny of the Metazoa based on morphological and 18S ribosomal DNA evidence // *Cladistics*, **14**: 249-285.
- Zrzavý J., Stys P. 1997.** The basic body plan of arthropods: insights from evolutionary morphology and developmental biology // *J. Evol. Biol.*, **10**: 353-367.

**Анатолий Иванович Шаталкин**

**РЕГУЛЯТОРНЫЕ ГЕНЫ В РАЗВИТИИ И  
ПРОБЛЕМА МОРФОТИПА В СИСТЕМАТИКЕ  
НАСЕКОМЫХ**

Чтения памяти Н.А. Холодковского. Вып. 56 (2).  
Доклад на пятьдесят шестых ежегодных чтениях  
4 апреля 2003 г.

Утверждено к печати  
Президиумом  
Русского энтомологического общества  
4.04.2003

Изготовитель оригинал-макета *В.А. Кривохатский*

---

Подписано к печати 29.05.03  
Гарнитура Times.  
Формат 60x84 1/16. Печ. л.6.75. Тираж 300 экз.