№24-25 2003 год

ГЕННЫЙ И ХРОМОСОМНЫЙ УРОВНИ КОНТРОЛЯ РАЗВИТИЯ

Введение

Впечатляющий прогресс в клонировании млекопитающих, в основе которого лежат эксперименты по трансплантации ядер дифференцированных клеток в энуклеированные ооциты, привнес новые доказательства того, что эукариотический геном не претерпевает необратимых изменений в ходе дифференцировки и может быть репрограммирован до уровня потенций, сходного с зиготой (Kikyo, Wolffe, 2000; Rideout et al., 2001; Surani, 2001). Более того, показано, что ядра высокодифференцированных клеток, таких, как В- или Т-лимфоциты, способны к полному репрограммированию, несмотря на то, что некоторые их гены (иммуноглобулины и Т-рецепторы) претерпевают перестройку в ходе дифференцировки (Hochedlinger, Jaenisch, 2002). И хотя остается неясным, способны ли к репрограммированию геномы любых типов дифференцированных клеток, список способных к репрограммированию разнообразных типов клеток достаточно велик и включает: фибробласты эмбрионов и взрослых животных, клетки кумулюса, эпителиальные клетки молочной железы и яйцевода, эмбриональные стволовые клетки, В- и Т-лимфоциты, незрелые клетки Сертоли и пролиферирующие нейральные клетки коры головного мозга эмбрионов (Ogura et al., 2000; Wakayama, Yanagimachi, 2001; Yamazaki et al., 2001; Hochedlinger, Jaenisch, 2002; Miyashita et al., 2002). Важно отметить, что ранее в экспериментах по трансплантации ядер дифференцированных клеток в энуклеированные яйца или ооциты амфибий были также получены результаты, однозначно свидетельствующие, что процесс дифференцировки во многих случаях не сопровождается необратимыми изменениями в геноме (Gurdon et al., 1979; Gurdon, 1986; 1999). Таким образом, совокупность данных по клонированию амфибий и млекопитающих согласуется с идеей, что в основе развития лежит дифференциальная активность генов, а фенотипическое разнообразие клеточных типов дефинитивного организма поддерживается эпигенетическими механизмами (Latham, 1999). Важно подчеркнуть, что этот принцип является общим для развития как животных, так и растений (Meyerowitz, 2002), несмотря на то, что между ними существуют огромная эволюционная дистанция и существенные различия в характере развитии. Среди растений в естественных условиях широко распространено вегетативное размножение, включающее репрограммирование специализированных клеток (листа, стебля или корня) с последующим формированием дефинитивных форм с полноценными органами размножения.

Взаимодействие генов и генный контроль развития

Геномы многоклеточных эукариот содержат многие тысячи генов, например, нематоды C. elegans примерно 19000 (The *C. elegans* Sequencing Consortium…, 1998), дрозофилы — 13600 генов (Adams et al., 2000), человека — 30000-40000 (International Human Genome Sequencing Consortium…, 2001), а Arabidopsis thaliana — почти 25500 (The Arabidopsis Genome Initiative…, 2000). Благодаря функционированию этих генов обеспечивается развитие и жизнедеятельность дефинитивного организма, состоящего из разнообразного типа специализированных дифференцированных клеток. Так, например, у человека (как и большинства млекопитающих) идентифицировано более 200 типов клеток, которые, в свою очередь, могут быть дополнительно подразделены (чаще идентифицируются с помощью молекулярных маркеров) на множество более специализированных функционально и отчасти морфологически типов клеток (Volpert et al., 1998; Surani, 2001). Согласно современной парадигме о дифференциальной активности генов в развитии, предполагается, что все фенотипическое разнообразие соматических специализированных клеток основывается на том, что в каждом конкретном клеточном типе функционирует свойственный только этому типу набор экспрессирующихся генов.

Из сравнительного анализа геномов млекопитающих следует, что генный состав их сходен у большинства изученных видов, несмотря на разительные морфологические различия между ними. Более того, функционально важные для развития гены (иногда используют термин «гены развития», подчеркивая их важность в процессах дифференцировки, такие, как транскрипционные факторы, гомеобокс-содержащие гены и гены, кодирующие трансмембранные белки, ответственные за проведение регуляторных индукционных сигналов между клетками) эволюционно консервативны и присутствуют в геномах позвоночных и даже беспозвоночных, выполняя порой сходные функции в развитии. Сходство геномов разных видов наблюдается и на уровне генных ассоциаций. Так, например, у всех видов млекопитающих сходен генный состав Х-хромосом, а среди аутосом идентифицировано более десяти крупных консервативных ассоциаций синтенных генов, которые сохраняются полностью или частично у большинства изученных видов млекопитающих (O'Brien et al., 1999 a, b). Из этого следует, что онтогенез разных видов млекопитающих базируется на функционировании сходных наборов гомологичных (гомеологичных) генов, которые к тому же нередко сходно организованы на хромосомном уровне. В то же время наблюдаемое широчайшее многообразие морфологических форм млекопитающих дает основание заключить, что непременным атрибутом онтогенеза является его видоспецифичность.

Для объяснения этого феномена — видоспецифичности онтогенеза — предполагается, что в процессе эволюции в генах, контролирующих те или иные этапы развития, происходят структурные изменения, затрагивающие либо кодирующую их часть, либо их цис-регуляторные последовательности, прилежащие к кодирующей части (Carroll, 2000; Stern, 2000), в результате чего изменяются временные и/или тканеспецифические параметры их экспрессии. Негласно предполагается, что такие изменения экспрессии генов в конечном счете трансформируются в изменениях тех или иных процессов морфогенеза, что и приводит к появлению разнообразия морфологических форм животных и растений.

Если рассматривать развитие с точки зрения экспрессии генов, то оно представляется как многоступенчатый динамический процесс с постоянно меняющимися спектрами экспрессирующихся генов в зависимости от стадии эмбриональной дифференцировки. Палитра экспрессирующихся генов значительно усложняется, если учесть, что на разных стадиях развития (особенно ранних) происходит формирование многообразных закладок, приводящих к появлению различного рода

специализированных типов дифференцированных клеток, т.е. набор экспрессирующихся генов на той или иной стадии развития представляет собой сумму спектров «индивидуальных» закладок или дифференцированных клеток. Важно учесть при этом, что в эти смены спектров вовлечены многие сотни или тысячи генов, расположенных на разных хромосомах или в разных сайтах в пределах одной хромосомы. Последнее предполагает необыкновенно четкую координацию экспрессии множества генов на протяжении всего развития и всей дальнейшей жизни взрослого индивидуума, являющейся продолжением развития (Gilbert, 1991). В этом случае вполне оправдано применение термина «программа развития», если подразумевать под этим именно строго упорядоченную во времени и пространстве скоординированную экспрессию сотен и тысяч генов.

В настоящее время отсутствует четко сформулированное представление о том, что лежит в основе «программы развития». Это не означает, что к решению этой проблемы нет каких-либо перспективных подходов. Благодаря прогрессу в молекулярной биологии стала наполняться содержанием концепция (до недавнего времени больше напоминавшая соображение общего характера), согласно которой процесс развития покоится на взаимодействии генов, при котором продукты генов предшествовавших стадий развития активируют новые генные наборы в последующие стадии и/или репрессируют отдельные гены предыдущих. Такой тип взаимодействия генов Lewin (1994) определил как «каскадное», подчеркивая этим преемственность в экспрессии генов ранних и более поздних стадий. Действительно, существуют примеры такого рода взаимодействия генов в развитии, например в раннем развитии дрозофилы белковый продукт гена *bicoid* выступает в качестве типичного морфогена, формируя передний полюс передне-задней оси эмбриона. Этот же ген на более поздней стадии развития проявляет себя как позитивный регулятор одного из первых зиготических генов, гена *hunchback,* связываясь с его промотором. В свою очередь, белок hunchback является регулятором других генов группы gap, причем экспрессию одних (*Krupp*el и *knirps*) он подавляет, а других — активирует (*giant*). При формировании границ будущих сегментов у дрозофилы важную роль играет ген *even-skipped,* экспрессия которого регулируется белками Kruppel, giant (репрессоры) и bicoid и hunchback (активаторы) (Lewin, 1994; Volpert et al., 1998). Примером могут также служить скоординированные иерархические взаимодействия между гомеобокссодержащими генами, входящими в комплексы генов C-ANT и C-BX у дрозофилы или комплексы генов: HOXA, HOXB, HOXC и HOXD у млекопитающих (Lewin, 1994; Volpert et al., 1998).

В геномах эукариот доля генов, выполняющих функции транскрипционных факторов, невелика: у дрозофилы около 700, или 5% всех генов, из них 279 участвуют в контроле развития (2,5%) (Adams et al., 2000), у нематоды *C. elegans 500,* или 2,5% (The *C. Elegans* Sequencing Consortium…, 1998), а у *Arabidopsis thaliana* 500, или 2% (The Arabidopsis Genome Initiative…, 2000). Из этого следует, что на каждый ген-регулятор приходится 40-50 генов-мишеней. Каким образом осуществляется координация экспрессии генов-мишеней при малом числе генов-регуляторов? В последние годы активно развивается представление, что, возможно, существует специальный класс транскрипционных факторов — «селекторные» гены, которые напрямую связываются с цис-регуляторными элементами генов-мишеней и объединены в единую «генную регуляторную сеть» («genetic regulatory network»), в результате чего происходит координированная экспрессия генов, приводящая к формированию той или иной морфологически сложной структуры (Guss et al., 2001). В настоящее время удалось идентифицировать несколько «селекторных» генов: *eyeless, Distalless* и *scalloped.* Функционирование такой «генной регуляторной сети» можно проиллюстрировать на примере образования крыла у дрозофилы. Как показали Guss et al. (2001), фактор scalloped в комплексе с транскрипционными факторами vestigial и spalt трансмембранной сигнальной системы *Decapentaplegic* и *cut* системы *Notch* контролируют образование всех частей крыла, то есть один ген-селектор scalloped через генную регуляторную сеть осуществляет контроль образования сложной структуры. Как полагают авторы (Guss et al., 2001), это, возможно, общий принцип генного контроля морфогенеза в развитии.

В этом контексте уместно также рассмотреть большую группу генов, обеспечивающих генную регуляцию посредством проведения индукционных транс-мембранных сигналов из одних клеток в другие, где находятся гены-«мишени». Эта группа генов играет ведущую роль в процессах морфогенеза позвоночных и беспозвоночных и представлена несколькими группами эволюционно консервативных генов: *FGF-FGFR* (лиганд, ростовой фактор фибробластов и его рецептор), *Delta-Notch* (лиганд-белок Delta и его рецептор-морфоген Notch), *Wnt-Frizzled* (сложное семейство белков-лигандов, wingless у насекомых, а Wnts у позвоночных и их рецептор Frizzled), *Hedgehog-Pached* (сложное семейство белков-лигандов Hedgehog у насекомых и Sonic hedgehog и Indian у позвоночных и их рецептор Pached), семейство белков BMP (морфогенетические белки костного мозга) и их рецепторы серинкиназ и родственные с ними белки beta-TGF (трансформирующий фактор фибробластов), Nodal (у позвоночных) и Decapentaplegic (у насекомых) (Volpert et al., 1998; Hogan, 1999). Как правило, та или иная трансмембранная сигнальная система включает около десятка или более генов. Общий принцип их организации следующий: индукционный сигнал (секреторный фактор-лиганд) одной клетки связывается с рецептором на поверхности клеточной мембраны клетки-мишени, активированный комплекс лиганд-рецептор (например, с помощью протеинкиназ) транспортируется либо непосредственно в ядро, где активирует или репрессирует гены-«мишени», либо вступает в промежуточные взаимодействия с белками или небелковыми компонентами, и затем сигнал достигает генов-«мишеней». Конечным результатом является то, что в большинстве случаев транссигнальные системы регулируют экспрессию нескольких генов-«мишеней». Эти системы можно рассматривать как некое подобие генных сетей, описанных выше.

Хромосомный контроль развития

Вышеизложенные представления о генном контроле развития не исключают других уровней контроля, в частности, хромосомный. Важность этого уровня регуляции можно проиллюстрировать примерами, показывающими, что вне хромосомного (хроматинового) контекста невозможно реализовать корректную регуляцию тканеспецифических генов (Bonifer, 2000). Связано это с тем, что нередко регуляторные последовательности расположены на расстоянии десятков тысяч пар оснований от точки инициации транскрипции, и потому необходим механизм пространственного их сближения, что может быть реализовано только тогда, когда ген является структурным элементом хромосомы. Например, Jackson et al. (1996) показали, что гиперчувствительные сайты для ДНКазы в LCR (локусконтролирующий район) кластера бета-глобиновых генов проявляют свою энхансерную активность только после интеграции трансгена в геном трансформированных клеток, тогда как в клетках с транзиторной трансфекцией эта активность либо не проявляется, либо резко снижена. Важно также отметить, что синергичное действие сайтов H2 и H3 проявляется только в стабильных трансформантах, но не транзиторных. Если иметь в виду, что LCR находится на расстоянии свыше 20 т.п.н. от инициирующего кодона, то это предполагает, что активирующий эффект LCR возможен только при условии его пространственного приближения с кодирующей частью гена. Прямые доказательства пространственного сближения локуса LCR с одним из экспрессирующихся генов кластера были получены с помощью метода гибридизации *in situ,* позволившего визуализировать этот процесс (Dillon et al., 1998).

В настоящее время накапливаются данные о «пространственном» контроле транскрипции в индивидуальных хромосомах у разных видов эукариот: дрожжей, дрозофилы и млекопитающих (Cockell, Gasser, 1999; Lyko, Paro, 1999). В дрожжевых клетках инсерция генов в теломерные районы сопровождается репрессией их активности — феномен, напоминающий «эффект положения» у дрозофилы (Grunstein, 1998). В ядре дрожжевой клетки теломерная ДНК формирует компартмент вблизи ядерной оболочки, и там же наблюдается высокая концентрация Sir-белков («silent information regulator»). При инсерции активного гена вблизи теломеры Sir-белки, образуя комплекс с ДНК, полностью репрессируют его активность. Однако, если нарушается перинуклеарное позиционирование теломеры в результате действия мутаций (генов HDF1 или HDF2 из семейства Ku), то теломеры утрачивают свою репрессирующую активность (феномен «telomeric position effect»). Таким образом, репрессирующее действие теломерного гетерохроматина у дрожжей осуществляется только при условии локализации теломеры вблизи ядерной оболочки. В изящных экспериментах по направленному «заякориванию» трансгена (слитого с геном-репортером) на ядерной оболочке дрожжевой клетки наблюдалась полная репрессия гена-репортера (Andrulis et al., 1998). Авторы заключили, что близость ядерной оболочки способствует репрессии генов у дрожжей, но происходит это при участии Sir-белков, создающих центры нуклеации.

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал о трехмерной организации интерфазного ядра эукариот, в основе которой лежит дифференциальное позиционирование различных районов хромосом как относительно друг друга, так и ядерной оболочки, что предположительно оказывает существенное влияние на экспрессию генов (Cockell, Gasser, 1999; Misteli, 2001; Gasser, 2002; Parada, Misteli, 2002). В архитектуре ядра ключевым моментом является разделение его на территории, соответствующие индивидуальным хромосомам (Zink, Cremer, 1998; Zink et al., 1998; Edelman et al., 2001). В свою очередь хромосомные территории разбиты на субхромосомные домены (размером примерно 1 Мб) (Zink, Cremer, 1998; Zink et al., 1998). По данным Sadoni et al. (1999), хромосомные территории поляризованы так, что в одних компартментах находятся раннереплицирующиеся (ближе к центру ядра), а в других — позднереплицирующиеся районы хромосом (по периферии ядра, в перинуклеолярной зоне), которые соответствуют R- и G/C-сегментам митотических хромосом (подробнее о R- и G/C-сегментах рассмотрим ниже). Согласно данным Croft et al. (1999) и Cremer et al. (2001), хромосомы с низкой плотностью генов (хромосома 18) предпочтительно локализуются по периферии ядра, а с высокой (хромосома 19) — во внутренних районах интерфазных ядер. Позднее было показано, что расположение хромосом с высокой и низкой плотностью в разных компартментах интерфазного ядра характерно для всех хромосом человека (Boyle et al., 2001). Интересно отметить, что локализация хромосом 18 и 19 в разных компартментах наблюдается у всех приматов Старого Света (Tanabe et al., 2002). По мнению авторов, такой эволюционный консерватизм в пространственной организации хромосом в интерфазном ядре предполагает, что эта форма организации может играть важную роль в функционировании генома. Ранее Стегний (1993) высказал идею, что изменения в архитектонике интерфазного ядра путем изменения позиции хромосом могут играть важную роль в видообразовании. К этому следует добавить, что согласно данным Sun et al. (2000), теломеры больших хромосом локализованы на периферии ядра, тогда как теломеры более мелких хромосом находятся ближе к центру. Таким образом, есть все основания утверждать, что хромосомы неслучайным образом организованы в интерфазном ядре. Более того, хромосомные территории устойчивы и воспроизводятся в дочерних клетках после митоза, а хромосомные компартменты закреплены структурно посредством связей с различными элементами интерфазного ядра (Chubb et al., 2002; Parada, Misteli, 2002).

Данные о пространственной организации хромосом в интерфазных ядрах рассматриваются некоторыми авторами как фактор в регуляции отдельных генов и генома в целом (Cockell, Gasser, 1999; Lyko, Paro, 1999; Parada, Misteli, 2002). Выше были приведены примеры «пространственного» контроля в регуляции генов у дрожжей и генов бета-глобинового кластера у млекопитающих. Важно также отметить, что такой контроль имеет место и при клеточной дифференцировке. Так, согласно данным Brown et al. (1997), при дифференцировке В-лимфоцитов гены *CD2, CD4, CD8 alpha, CD19, CD45 lambda5* перемещаются в ядре в места скопления гетерохроматина («heterochromatin-containing foci»), в результате чего их экспрессия подавляется. Связь неактивных генов с гетерохроматином осуществляется с помощью белка Ikaros, который специфически связывается с промоторами генов и тем самым «рекрутирует» их в состав гетерохроматина (Brown et al., 1997; 1999; Cobb et al., 2000). Эти данные свидетельствуют, что хромосомный контекст (близость гетерохроматина) и пространственные перемещения отдельных районов хромосом в интерфазном ядре действительно могут играть важную роль в контроле экспрессии генов.

В свете приведенных выше данных уместно рассмотреть последствия изменений в позиции генов в хромосомах на их экспрессию. Действительно, имеется экспериментальный материал о влиянии хромосомных перестроек на генную активность. Например, анализ экспрессии гена Pgd (6-фосфоглюконат-дегидрогеназа), вовлеченного в 21-ю хромосомную перестройку, показал, что в 2 случаях она была полностью утрачена, в 10 — заметно снижена, в 3 — наблюдалось повышение активности и в 6 — не отмечено эффектов перестройки (Slobodyanyuk, Serov, 1983). Несомненно, наиболее ярким примером эффекта хромосомных перестроек является ставший хрестоматийным феномен «эффекта положения гена», при котором прилежащий в новой позиции гена гетерохроматин вызывает полную его инактивацию или сайленсинг либо во всех соматических клетках, либо только в части клеток (эффект положения мозаичного типа). Этому феномену посвящен ряд исчерпывающих обзоров, в которых суммированы многолетние исследования по влиянию гетерохроматина на экспрессию близлежащих генов (Tarlof et al., 1984; Жимулев, 1993; Weiler, Wakimoto, 1995; Zhimulev, 1998).

Следует отметить, что долгое время считалось, что феномен «эффект положения» свойственен только семейству Drosophilidae. Однако с развитием технологии получения трансгенных животных и растений стало очевидным, что сходные явления наблюдаются у других животных и даже растений.

Основным способом получения трансгенных животных является инъекция рекомбинантной ДНК в пронуклеус зигот. При таком способе чужеродная ДНК интегрируется в реципиентный геном случайным образом, и, таким образом, каждое трансгенное животное независимого происхождения является уникальным относительно хромосомной локализации трансгена (Palmiter, Brinster, 1986).

Уже в ранних работах по трансгенезу была отмечена необычайно широкая вариабельность в экспрессии трансгенов: от полного ее отсутствия до уровня, сходного с эндогенным геном (Palmiter, Brinster, 1986). В большинстве случаев уровень транскрипции трансгенов не зависит от числа копий в геноме трансгенных животных. С учетом случайного характера интеграции трансгенов было предположено, что вариабельность экспрессии определяется хромосомным контекстом в месте локализации трансгена. Долгое время считалось, что эта вариабельность определяется исключительно уровнем транскрипции трансгена (Palmiter, Brinster, 1986; Transgenic animals, 1992). Однако позднее было показано, что в основе этой вариабельности чаще всего лежит

мозаицизм, и экспрессия зависит от соотношения клеток с активным и неактивным трансгеном (Porter, Meyer, 1994; Robertson et al., 1995; Dobie et al., 1996; Festenstein et al., 1996). Эти данные были получены на трансгенных животных и растениях с использованием генов-репортеров бета-галактозидазы E. coli или «зеленого» белка (GFP) под контролем конститутивных или тканеспецифических промоторов (Ramirez et al., 2001).

Мозаичная экспрессия у трансгенных животных несомненно имеет сходство с эффектом положения гена у дрозофилы, поскольку в основе обоих феноменов лежит принцип «все или ничего». Любопытно, что формирование тканевого мозаицизма у трансгенных мышей имеет сходство с таковым у химерных животных, что предполагает сходные временные закономерности (Morley et al., 2002). Также общим свойством является индукция устойчивого сайленсинга трансгена в тех случаях, когда место его интеграции расположено по соседству с гетерохроматином (Dobie et al., 1996; Festestein et al., 1996), хотя имеются примеры мозаичной экспрессии трансгенов, находящихся на удаленном расстоянии от центромерного гетерохроматина (Ramirez et al., 2001). Это натолкнуло на идею, что мозаичная экспрессия трансгенов может быть связана с локальной гетерохроматизацией, индуцированной повышенной их копийностью (Dorer, Henikoff, 1994; Garrick et al., 1998). Однако описаны случаи, в которых мозаицизм наблюдался у животных с единичными копиями трансгена (Zhuma et al., 1999; Ramirez et al., 2001). Следует также отметить, что мозаичность в экспрессии трансгенов устраняется присутствием в нем LCR (Locus Control Region) (Kioussis, Festenstein, 1997; Ramirez et al., 2001).

Другим важным аспектом, на котором имеет смысл остановиться в связи с выяснением роли хромосомного контекста, является эктопическая экспрессия трансгенов, находящихся под контролем тканеспецифических промоторов (Palmiter, Brinster, 1986). Первоначально предполагалось, что эктопическая экспрессия может возникать из-за того, что используемые промоторы не содержат всех регуляторных последовательностей, необходимых для правильной тканеспецифической экспрессии. Позднее были получены данные, в которых оценена роль места интеграции трансгена в появлении его эктопической экспрессии. Например, промотор ретинолсвязывающего белка, слитый с геном-репортером бета-Gal, обеспечивал правильную экспрессию трансгена (в клетках печени) у 3 трансгенных животных, тогда как у 4-го животного экспрессия не наблюдалась в печени, но обнаруживалась в постимплантационный период в сомитах и ромбомерах заднего мозга эмбриона (Tan, 1991). Более того, у взрослых потомков этого основателя экспрессия была выявлена в лицевых мышцах и неокортексе. Таким образом, фланкирующие последовательности в месте интеграции трансгена у одного из животных изменили как время экспрессии в онтогенезе, так и тканеспецифичность (Tan, 1991). Другой пример: среди трансгенных мышей, полученных введением конструкции, содержащей промотор гена кератина 18, слитого с геном-репортером бета-Gal, было выявлено животное, у которого правильная экспрессия (в печени) наблюдалась только в случае наследования трансгена от матери и эктопическая (в мезодерме эмбриона и сетчатке глаза) при наследовании от отца (Thorey et al., 1992). Важно отметить, что интеграция этого трансгена произошла в место, не связанное с эндогенным импринтингом (Thorey et al., 1992). К этому следует добавить, что гены-репортеры, находящиеся по контролем «слабых» промоторов (например, herpes simples virus), экспрессируются уникальным образом у трансгенных животных независимого происхождения (Allen et al., 1988). Это заключение справедливо как для времени активации в развитии, так и тканевой специфичности экспрессии трансгенов у взрослых животных. Таким образом, многочисленные данные, полученные на трансгенных животных, позволяют заключить, что временные и пространственные параметры экспрессии трансгенов находятся под значительным влиянием хромосомного контекста. Из этого следует заманчивое предположение, что потенциально хромосомные перестройки могут модифицировать временные и пространственные параметры экспрессии генов, вовлеченных в эти перестройки.

В настоящее время не вызывает сомнений важность хромосомного уровня регуляции генов в развитии. Учитывая, что интенсивность исследований этого уровня регуляции стремительно нарастает в последнее десятилетие, можно ожидать в ближайшие годы новых открытий в одной из самых значительных проблем современной биологии — проблеме индивидуального развития.

Литература

1. Жимулев И.Ф. Гетерохроматин и эффект положения гена. Новосибирск: Наука, 1993. С. 490.
2. Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1993.
3. Adams M.D., Celniker S.E., Holt R.A. et al. The genome sequence of Drosophila melanogaster // Science. 2000. V. 287. P. 2185-2195.
4. Allen N.D., Cran D.G., Barton S.C. et al. Transgenes as probes for active chromosomal domains in mouse devel-opment // Nature. 1988. V. 333. P. 852-855.
5. Andrulis E.D., Neiman A.M., Zappulla D.C., Sternglanz R. Perinuclear localization of chromatin facilitates transcrip-tional silencing // Nature. 1998. V. 394. P. 592-595.
6. Bonifer C. Developmental regulation of eukaryotic gene loci: which cis-regulatory information is required? // Trends Genet. 2000. V. 16. P. 310-315.
7. Boyle S., Gilchrist S., Bridger J.M. et al. The spatial organization of human chromosomes within the nuclei of normal and emerin-mutant cells // Hum. Mol. Genet. 2001. V. 10. P. 211-219.
8. Brown K.E., Baxter J., Graf D. et al. Dynamic repositioning of genes in the nucleus of lymphocytes preparing for cell division // Mol. Cell. 1999. V. 3. P. 207-217.
9. Brown K.E., Guest S.S., Smale S.T. et al. Association of transcriptionally silent genes with Ikaros complexes at cen-tromeric heterochromatin // Cell. 1997. V. 91. P. 845-854.
10. Carroll S.B. Endless forms: the evolution of gene regulation and morphological diversity // Cell. 2000. V. 101. P. 577-580.
11. Chubb J.R., Boyle S., Perry P., Bickmore W.A. Chromatin motion is constrained by association with nuclear com-partments in human cell // Curr. Biol. 2002. V. 12. P. 439-445.

12. Cobb B.S., Morales-Alcelay S., Kleiger G. et al. Targeting of Ikaros to pericentromeric heterochromatin by direct DNA binding // Genes Dev. 2000. V. 14. P. 2146-2160.

13. Cockell M., Gasser S.M. Nuclear compartments and gene regulation // Curr. Opin. Genet. Develop. 1999. V. 9. P. 199-205.

14. Cremer M., von Hase J., Volm T. et al. Non-random radial higher-order chromatin arrangements in nuclei of diploid human cells // Chromosome Res. 2001. V. 9. P. 541-567.

15. Croft J.A., Bridger J.M., Boyle S. et al. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the hu-man nucleus // J. Cell Biol. 1999. V. 45. P. 1119-1131.

16. Dillon N., Trimborn T., Strouboulis J. et al. The effect of distance on long-range chromatin interactions // Mol. Cell. 1998. V. 1. P. 1311-1339.

17. Dobie K.W., Lee M., Fantes J.A. et al. Variegated transgene expression in mouse mammary gland is determined by the transgene integration locus // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 6659-6664.

18. Dorer D.R., Henikoff S. Expansions of transgene repeats cause heterochromatin formation and gene silencing in Drosophila // Cell. 1994. V. 77. P. 1-20.

19. Edelman P., Bornfleth H., Zink D. et al. Morphology and dynamics of chromosome territories in living cells // Bio-chem. Biophys. Acta. 2001. V. 1551. P. M29-M40.

20. Festenstein R., Tolaini M., Corbella P. et al. Locus control region function and heterochromatin-induced position effect variegation // Science. 1996. V. 271. P. 1123-1125.

21. Garrick D., Fiering S., Martin D.I.K., Whitelaw E. Repeat-induced gene silencing in mammals // Nature Genet. 1998. V. 18. P. 56-59.

22. Gasser S.M. Visualizing chromatin dynamics in interphase nuclei // Science. 2002. V. 296. P. 1412-1416.

23. Gilbert S.F. Developmental Biology, 3rd Ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 1991. 562 p.

24. Grunstein M. Yeast heterochromatin: regulation of its assembly and inheritance by histones // Cell. 1998. V. 93. P. 325-328.

25. Gurdon J.B. Nuclear transplantation in eggs and oocytes // J. Cell Sci. (Suppl.). 1986. V. 4. P. 287-318.

26. Gurdon J.B. Genetic reprogramming following nuclear transplantation in Amphibia // Semin. Cell Dev. Biol. 1999. V. 10. P. 239-243.

27. Gurdon J.B., Laskey R.A., De Robertis E.M., Partington G.A. Reprogramming of transplanted nuclei in amphibia // Int. Rev. Cytol. (Suppl.), 1979. V. 9. P. 161-178.

28. Guss K.A., Nelson C.E., Hudson A. et al. Control of a genetic regulatory network by a selector gene // Science. 2001. V. 292. P. 1164-1167.

29. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome // Na-ture. 2001. V. 49. P. 860-921.

30. Hogan B.L.M. Morphogenesis // Cell. 1999. V. 96. P. 225-233.

31. Jackson J.D., Petrykowska H., Philipsen S. et al. Role of DNA sequences outside the cores of DNase hypersensitive sites (HSs) in functions of the *-globin locus control region // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 11871-11878.

32. Kikyo N, Wolffe A.P. Reprogramming nuclei: insights from cloning, nuclear transfer and heterokaryons // J. Cell Sci. 2000. V. 113. P. 11-20.

33. Kioussis D., Festenstein R. Locus control regions: overcoming heterochromatin-induced gene inactivation in mam-mals // Curr. Opin. Genet. Dev. 1997. V. 7. P. 614-619.

34. Latham K.E. Mechanisms and control of embryonic genome activation in mammalian embryos // Int. Rev. Cytol. 1999. V. 193. P. 71-124.

35. Lewin B. Genes V. NY, Tokyo: Oxford Univ. Press, 1994. P. 1272.

36. Lyko F., Paro R. Chromosomal elements conferring epigenetic inheritance // BioEssays. 1999. V. 21. P. 824-832.

37. Meyerowitz E.M. Plants compared to animals: the broadest comparative study of development // Science. 2002. V. 295. P. 1482-1485.

38. Misteli T. Proteins dynamics: implication for nuclear architecture and gene expression // Science. 2001. V. 291. P. 843-847.

39. Miyashita N., Shiga K., Tonai M. et al. Remarkable differences in telomere lengths among cloned cattle derived from different cell types // Biol. Reprod. 2002. V. 66. P. 1649-1655.

40. Morley S.D., O`Donohoe E.A., Hughes K.E. et al. Mosaic patch patterns in chimaeric and transgenic mice suggest that directional growth in the adrenal cortex begins in the perinatal period // Endocr. Res. 2002. 28: 657-662.

41. O'Brien S.J., Menotti-Raymond M., Murphy W.J. et al. The promise of comparative genomics in mammals // Sci-ence. 1999a. V. 286. P. 458-462.

42. O'Brien S.J, Menotti-Raymond M., Murphy W.J. et al. Genome maps 10. Comparative genomics. Mammalian radia-tions. Wall chart // Science. 1999b. V. 286. P. 463-478.

43. Ogura A., Inoue K., Ogonuki N. et al. Production of male cloned mice from fresh, cultured, and cryopreserved imma-ture Sertoli cells // Biol. Reprod. 2000. V. 62. P. 1579-1584.

44. Palmiter R.D., Brinster R.L. Germ-line transformation of mice // Ann. Rev. Genet. 1986. V. 20. P. 465-499.

45. Parada L.A., Misteli T. Chromosome positioning in the interphase nucleus // Trends in Cell Biol. 2002. V. 12. P. 425-432.

46. Porter S.D., Meyer C.J. A distal tyrosinase upstream element stimulates gene expression in neural-crest-derived melanocytes of transgenic mice: position-independent and mosaic expression // Development. 1994. V. 120. P. 2103-2111.

47. Ramirez A., Milot E., Ponsa I. et al. Sequence and chromosomal context effects on variegated expression of keratin 5/lacZ constructs in stratified epithelia of transgenic mice // Genetics. 2001. V. 158. P. 341-350.

48. Rideout W.M., Eggan W., Jaenisch R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome // Science. 2001. V. 293. P. 1093-1098.

49. Robertson G., Garrick D., Wu W. et al. Position-dependent variegation of globin transgene expression in mice // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 5371-5375.

50. Sadoni N., Langer S., Fauth C. et al. Nuclear organization of mammalian genomes. Polar chromosome territories build up functionally distinct higher order compartments // J. Cell Biol. 1999. V. 146. P. 1211-1226.

51. Slobodyanyuk S.Y., Serov O.L. Varionations in the expression of the gene Pgd due to the effect of chromosomal rearrangements in Drosophila melanogaster // Mol. Gen. Genet. 1983. V. 191. P. 372-377.

52. Stern D.L. Evolutionary developmental biology and the problems of variation // Evolution Int. J. Org. Evolution. 2000. V. 54. P. 1079-1091.

53. Sun H.B., Shen J., Yokota H. Size-dependent positioning of human chromosomes in interphase nuclei // Biophys. J. 2000. V. 79. P. 184-190.

54. Surani M.A. Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance // Nature. 2001. V. 414. P. 122-128.

55. Tan S.S. Liver-specific and position-effect expression of a retinal-binding protein-lacZ fusion gene (RBP-lacZ) in transgenic mice // Dev. Biol. 1991. V. 146. P. 24-37.

56. Tanabe H., Muller S., Neusser M. et al. Evolutionary conservation of chromosome territory arrangements in cell nu-clei from higher primates // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 4424-4429.

57. Tarlof K.D., Hobbs C., Jones H. A structural basis for variegating position effects // Cell. 1984. V. 37. P. 869-878.

58. The Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of flowering plant Arabidopsis thaliana // Na-ture. 2000. V. 408. P. 796-815.

59. The C. elegans Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode C. elegans: a platform for investigat-ing biology // Science. 1998. V. 282.
P. 2012-2018.

60. Thorey I.S., Pedersen R.A., Linney E., Oshima R.G. Parent-specific expression of a human keratin18/beta-galactosidase fusion gene in transgenic mice // Dev. Dyn. 1992. V. 195. P. 100-112.

61. Transgenic Animals / Eds. F.Grosveld, G.Kollias. London: Acad. Press, 1992. P. 79-98.

62. Volpert L., Beddington R., Brockes J. et al. Principles of Development. Oxford: Oxford Univ. Press. 1998. 484 p.

63. Wakayama T., Yanagimachi R. Mouse cloning with nucleus donor cells of different age and type // Mol. Reprod. Dev. 2001. V. 58. P. 376-383.

64. Weiler K.S., Wakimoto B.T. Heterochromatin and gene expression in Drosophila // Ann. Rev. Genet. 1995. V. 29. P. 577-605.

65. Yamazaki Y., Makino H., Hamaguchi-Hamada K. et al. Assessment of the developmental totipotency of neural cells in the cerebral cortex of mouse embryo by nuclear transfer // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. P. 14022-14026.

66. Zhimulev I.F. Polytene chromosomes, heterochromatin and position effect variegation // Advances in Genetics. 1998. V. 37. P. 1-566.

67. Zhuma T., Tyrrelli R., Sekkali B. et al. Human HMG box transcription factor HBP1: a role in hCD2 LCR function // EMBO J. 1999. V. 18. P. 6396-6406.

68. Zink D., Cremer T. Chromosome dynamics in nuclei of living cells // Curr. Biol. 1998. V. 8. P. R321-R324.

69. Zink D., Cremer T., Saffrich R. et al. Structure and dynamics of human interphase chromosome territories // Hum. Genet. 1998. V. 102. P. 241-251.

Данные по организации генома человека, дрозофилы, C. *elegans* и других животных можно найти в Web-сайтах или http://www.nature.com/genomics/links/index/html.

О.Л.Серов, д.б.н., профессор, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск