

# №16 2001 год

## РЕГУЛЯТОРНЫЕ КОНТУРЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ: ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ И ЭВОЛЮЦИИ

### Введение

Для организмов любой таксономической принадлежности характерно наличие множества регуляторных механизмов, обеспечивающих управление функциями этих организмов. Регуляторные механизмы могут быть разбиты на классы в соответствии с иерархическим положением, которое они занимают в управлении процессами жизнедеятельности организмов. Самому низшему иерархическому уровню соответствуют регуляторные механизмы, обеспечивающие функционирование отдельных клеток. В иерархически более высоком порядке выстраиваются регуляторные механизмы, обеспечивающие функционирование тканей, органов и организмов в целом. Наличие иерархии регуляторных контуров обеспечивает структурно-функциональную целостность организмов, закономерное протекание процессов индивидуального развития, скоординированное функционирование всех частей организмов при поддержании гомеостаза, адекватное реагирование организмов на изменяющиеся условия внешней среды.

Фундаментальная роль, которую играют регуляторные системы организмов в закономерностях их эволюции, являлась в 20 веке объектом пристального внимания и исследования. Достаточно указать на концепции стабилизирующего [1] и дестабилизирующего [2, 3] отборов, выдвинутые выдающимися отечественными эволюционистами И.И.Шмальгаузенем и Д.К.Беляевым. В настоящее время исключительную важность приобретают обобщение закономерностей организации регуляторных систем и исследование их роли в эволюционном процессе.

### Генетические сети как элементарные объекты регуляции

В основе функционирования регуляторных систем организмов лежат генные сети — ансамбли координированно функционирующих генов, обеспечивающих выполнение жизненно важных функций организмов.

Характерная особенность генных сетей, контролирующих дифференцировку клеток, морфогенез тканей и органов — наличие регуляторных контуров с положительными обратными связями [4]. Функция контуров с положительной обратной связью состоит в максимально эффективном отклонении величин контролируемых параметров от их исходных значений. Положительные обратные связи обеспечивают быструю активацию элементов эндокринной и нервной систем (что важно, в частности, для осуществления стрессовых ответов), а также играют ключевую роль в регуляции процессов морфогенеза, роста и развития организмов, по своему смыслу представляющих быстрый уход от имеющегося начального состояния. Характерным примером такого типа генных сетей является генная сеть созревания и дифференцировки эритроцитов, детально описанная нами и представленная в компьютерной базе данных [4]. Она содержит несколько ключевых элементов, которые характерны и для многих других генных сетей, контролирующих процессы дифференцировки клеток, роста тканей и органов и развития организмов [4]:

1. Внешний сигнал, обеспечивающий активацию генной сети (молекулы ростовых факторов, гормонов и т.д., взаимодействующие с поверхностными рецепторами клеток).
2. Протеин-киназный путь передачи сигнала от клеточного рецептора к центральному гену генной сети.
3. Механизм положительной обратной связи, обеспечивающий быструю активацию транскрипции центрального гена после получения исходного стимула через путь передачи сигнала. Он основан на присутствии в промоторе такого гена сайта связывания транскрипционного фактора (ТФ), кодируемого этим же геном. Такая положительная обратная связь является «короткой», так как в ее функционирование не вовлечены другие гены-посредники. Это обеспечивает очень быстрое возрастание концентрации центрального транскрипционного фактора генной сети, кодируемого соответствующим центральным геном, после получения внешнего стимула для его активации.
4. Кассетная активация транскрипции генов генной сети под действием центрального транскрипционного фактора. Ее механизм основан на присутствии в генной сети большой группы (кассеты) генов, промоторы которых содержат сайт связывания центрального транскрипционного фактора. В результате стремительного нарастания концентрации центрального транскрипционного фактора происходит одновременная (консолидированная) активация регулируемой им кассеты генов, необходимых для выполнения функции генной сети.

Контур с отрицательной обратной связью обеспечивают гомеостатирование внутренней среды организмов, то есть поддерживают контролируемые ими параметры вблизи величин, оптимальных для данных средовых условий. Для генных сетей гомеостаза также, несмотря на многообразие вариантов, характерно наличие некоторых общих принципов организации. Например, в случае генной сети, обеспечивающей поддержание постоянного уровня определенного метаболита, обязательными компонентами являются: 1) путь биосинтеза метаболита (последовательность ферментативных реакций); 2) кассета генов, кодирующих ферменты этого метаболического пути; 3) центральный ген генной сети, кодирующий транскрипционный фактор или белок иной природы), координированно активирующий (или подавляющий) экспрессию кассеты генов; 4) молекулярный механизм, влияющий на величину специфической активности центрального регулятора в зависимости от величины концентрации контролируемого метаболита.

Для генных сетей характерно большое разнообразие молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование положительных и отрицательных обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности транскрипции, сплайсинга,

трансляции, фосфорилирования [4]. Благодаря этим двум типам регуляторных контуров возможно поддержание определенного функционального состояния геномной сети или ее переход в другой режим функционирования, в том числе и под влиянием факторов внешней среды.

Локальные сети иерархически объединяются в глобальную геномную сеть организма, имеющую следующие уровни (снизу вверх): 1) базовый метаболизм клетки; 2) регуляция клеточного цикла; 3) дифференцировка клеток, морфогенез тканей и органов, рост и развитие; 4) гомеостаз физиологических параметров; 5) стрессовые ответы на изменения внешней среды; 6) регуляция эндокринной и нервной систем; 7) рецепция сигналов окружающей среды; 8) обеспечение ментальных функций. Геном человека содержит до 100 тыс. генов. Можно представить, насколько огромно количество взаимодействий между генами глобальной сети и как высок уровень ее сложности.

#### **Регуляторные системы с отрицательной обратной связью: эффект «обнейтрализации»**

В рамках настоящей работы рассматриваются закономерности эволюции регуляторных контуров с отрицательной обратной связью. Следует подчеркнуть, что отклонение величины контролируемого параметра  $X$  от оптимального значения  $X_0$  может быть результатом не только функциональных изменений в системе, обусловленных влиянием факторов внутренней или внешней среды, но может также иметь мутационную природу [5-7]. Проведенный нами анализ показал, что отрицательная обратная связь приводит к компенсации повреждающего эффекта мутаций на фенотипическом уровне. Суть эффекта состоит в том, что отрицательная обратная связь за счет компенсаторного изменения интенсивности регулируемых процессов минимизирует (или маскирует) фенотипическое проявление мутаций. Таким образом, под влиянием отрицательных обратных связей происходит «обнейтрализация» мутационного спектра [5-7]. Использование этого термина показывает, что значительная часть мутаций, являющихся в отсутствие регуляторного контура повреждающими или адаптивными, в присутствии регуляторного контура становятся нейтральными. Следует при этом подчеркнуть, что конкретный механизм отрицательной обратной связи для эффекта обнейтрализации несущественен.

Мутационный спектр любого гена характеризует распределение возникающих в нем мутаций по влиянию на приспособленность организма. Качественно можно выделить три основных класса возникающих мутаций: 1) повреждающие; 2) нейтральные; 3) адаптивные [8]. Повреждающие мутации в ходе эволюции, как правило, фиксируются не могут. Нейтральные мутации не влияют на приспособленность и могут фиксироваться в популяциях за счет генетического дрейфа. Адаптивные мутации могут фиксироваться в популяциях с весьма большой скоростью за счет положительного отбора.

В результате обнейтрализации в мутационном спектре уменьшается доля адаптивных и повреждающих мутаций, так как наличие отрицательной обратной связи уменьшает (или маскирует) их фенотипическое проявление. Соответственно увеличивается доля нейтральных мутаций. Указанный вывод согласуется с представлениями И.И.Шмальгаузена [1] о компенсаторном эффекте регуляторных систем организма, минимизирующем фенотипическое проявление мутаций.

Эффект обнейтрализации тем более выражен, чем более эффективным является контроль параметра по механизму отрицательной обратной связи. Это, в свою очередь, зависит от иерархического положения подсистемы, контролирующей данный параметр, в составе механизмов, контролирующих функционирование биологической системы. При низком иерархическом положении подсистема контролируется большим количеством отрицательных обратных связей от вышележащих подсистем, что должно приводить к более выраженному эффекту обнейтрализации. Напротив, при более высоком иерархическом положении, когда подсистема контролируется меньшим количеством отрицательных обратных связей от вышележащих подсистем, эффект обнейтрализации должен быть выражен слабее.

Необходимо заметить, что сам по себе эффект обнейтрализации мутационного спектра имеет двойственные эволюционные последствия. С одной стороны, обнейтрализация повреждающих мутаций, минимизируя их проявление, обеспечивает нормальное воспроизведение и функционирование организмов, то есть повышает их приспособленность на локальных временных интервалах. Одновременно с этим в геномах должно происходить накопление непроявленного груза мутаций, не бракуемых отбором. Оно может быть особенно сильным при большой эффективности регуляторных контуров, минимизирующих проявление повреждающих мутаций. Накопление груза непроявленных повреждающих мутаций должно вызывать постепенное ослабление механизмов обнейтрализации, приводя ко все большему проявлению как фиксировавшихся ранее, так и вновь возникающих мутаций (и тем самым обуславливая постепенное снижение приспособленности организмов на глобальных временных интервалах). Существенно, что обнейтрализация минимизирует также проявление и адаптивных мутаций. На локальных временных интервалах оно снижает потенциал эволюционного совершенствования организмов, на протяженных временных интервалах приводит к «замораживанию» структурно-функциональной организации организмов на определенном уровне.

#### **Регуляторные системы с отрицательной обратной связью: стабилизирующий отбор**

Проведенные нами исследования [5-7] показывают, что обнейтрализация мутационных спектров под действием отрицательных обратных связей имеет ряд фундаментальных эволюционных следствий. Одно из них заключается в том, что в условиях стабилизирующего отбора особи, несущие регуляторные контуры с отрицательными обратными связями, имеют очевидные эволюционные преимущества перед теми особями, у которых такие контуры отсутствуют.

Стабилизирующий отбор действует в постоянных условиях среды. Он обеспечивает повышенную приспособленность тех особей, жизненно важный параметр которых  $X$  имеет значение  $X_0$ , оптимальное для данных условий среды. Давление мутационного процесса приводит к возникновению в популяции особей с отклоняющимися значениями этого параметра. В этом случае снижение приспособленности будет минимально у особей с эффективно работающими контурами регуляции типа отрицательной обратной связи. Естественно, что в этой ситуации отбором будут браковаться прежде всего особи, не имеющие указанных контуров регуляции.

Эволюционное формирование регуляторных контуров требует коэволюционной фиксации некоторого набора мутаций как в генах, кодирующих определенные функциональные белки, так и в функциональных сайтах геномной ДНК, с которыми эти белки взаимодействуют. Ясно, что исходный вариант регуляторного контура, который даже в минимальной степени обеспечивает

нейтрализацию мутационного спектра, повышает приспособленность несущих его особей. Постепенно совершенствуясь за счет последовательной фиксации мутаций, этот контур обеспечивает несущим его особям все большее преимущество, тем самым обеспечивая их фиксацию в популяции.

### **Регуляторные системы с отрицательной обратной связью: движущий отбор**

Следует, однако, подчеркнуть, что преимущество отрицательной обратной связи исчезает при выраженных изменениях среды [5, 6]. В этом случае наличие отрицательной обратной связи препятствует адаптации особей к новым условиям за счет поддержания критически значимого параметра среды на постоянном уровне. Отсюда следует, что адаптация к новым средовым условиям требует перестройки системы регуляторных контуров.

Итак, важное следствие движущего отбора — частичная или полная «перестройка» (разрушение) ранее существовавших регуляторных контуров с отрицательной обратной связью. Важное следствие этого — прекращение эффекта обнуления и вскрытие так называемой замаскированной генотипической изменчивости, которая ранее маскировалась действием отрицательной обратной связи.

С одной стороны, фенотипическое проявление повреждающих мутаций, ранее маскировавшихся отрицательной обратной связью, должно приводить к снижению приспособленности особей, лишившихся регуляторного контура. С другой — появляется возможность как для запуска механизмов репарации проявившихся мутаций, так и для элиминации особей с мутациями, оказывающими наиболее значимое повреждающее действие.

Что касается адаптивных мутаций, ранее нейтрализовавшихся отрицательной обратной связью, то в этом случае становится возможным использование их адаптивного потенциала для отбора новых вариантов организации, способных выживать в новой среде.

### **Латентный фенотип как резерв эволюционной адаптации организмов**

Обычно предполагается, что состояние организма (как внутреннее, так и внешнее) однозначно определяется его генотипом и условиями внешней среды. Возможность существования организма в разных состояниях всегда связывается с определенными генетически закрепленными регуляторными механизмами, проявляющимися при определенных условиях. В то же время существуют системы, у которых наличие устойчивых альтернативных состояний не может быть выведено из структуры их подсистем. Например, простейший молекулярно-генетический триггер может функционировать в двух альтернативных состояниях, и это является свойством всей системы, и никакая ее подсистема в отдельности этим свойством не обладает. Возникает вопрос, могут ли сложные автономно существующие биологические системы (например, клетки), которые являются продуктами эволюции, существовать (потенциально или реально) в альтернативных устойчивых состояниях, которые не отличимы друг от друга по генетическим параметрам наследования и по константам реакций метаболизма, и тем не менее существенно различаться по фенотипу.

С целью теоретического исследования данного вопроса в работе [9] построена простейшая математическая модель одиночного цикла размножения клетки. В модели рассматриваются четыре вида внутриклеточных составляющих: обобщенные рибосомы; обобщенный белок; мРНК, кодирующая обобщенные рибосомы, и мРНК, кодирующая обобщенный белок. Предполагается, что в процессе жизнедеятельности клетка потребляет обобщенный ресурс, который расходуется на синтез мРНК и белков. Клетка черпает ресурс из внешней среды, в которую он поступает с постоянной скоростью. Принято, что продолжительность одиночного цикла размножения клетки есть время достижения пороговой концентрации обобщенного белка. Полагается, что концентрации мРНК и скорости инициации трансляции могут меняться в результате случайных мутаций, остальные параметры считаются заданными. Эволюция моделировалась как итерационный процесс, содержащий следующий элементарный шаг: с помощью датчика случайных чисел выбирается параметр модели и на основании заранее заданного распределения определяется величина его изменения, рассчитываются параметры функционирования «мутантной» клетки, и если «мутация» приводит к уменьшению времени деления клетки, то она фиксируется, в противном случае — элиминируется (другой вариант — фиксация также определяется в результате случайного события, вероятность наступления которого пропорциональна разнице времен деления «мутантной» и «интактной» клеток). В результате при разных заданных значениях неизменяемых параметров модели насчитывались эволюционные траектории движения системы в пространстве изменяемых параметров модели.

Оказалось, что учет наиболее общих закономерностей организации одноклеточных организмов (наличие аппарата трансляции, матричный принцип синтеза белков, размножение путем деления) приводит к формированию сложных нелинейных связей между разными частями клетки и клетки с внешней средой. Это обеспечивает существование области значений параметров, в которой клетка может иметь несколько альтернативных состояний гомеостаза, причем данная область параметров является областью эволюционного притяжения.

Расчеты показывают, что в процессе эволюции системы в этой области происходит увеличение вероятности спонтанного перехода клетки от оптимального фенотипа к «латентному». Это приводит к тому, что со временем эволюционное значение латентного фенотипа повышается. Поскольку количественные параметры функционирования латентного фенотипа отличаются от аналогичных параметров оптимального фенотипа, то клетки, пребывающие в разных состояниях, будут эволюционировать по-разному, что является дополнительным источником усложнения системы.

Следует заметить, что наличие двух отличающихся фенотипов, соответствующих одному генотипу, может существенно снижать приспособленность популяции при постоянных условиях среды. Мы предполагаем, что в этом случае за счет появления регуляторных контуров иерархически высокого уровня с отрицательными обратными связями система в ходе эволюции находит такой вариант молекулярно-генетической организации, при котором доминирующим в популяции становится один фенотип, наиболее приспособленный к существующим условиям среды. Это обеспечивает, с одной стороны, повышение приспособленности популяции к данным условиям среды, а с другой стороны, потенциально сохраняет возможность проявления

замаскированного латентного фенотипа в тех случаях, когда указанный выше регуляторный контур будет разрушен. Это означает, что наличие латентного фенотипа значительно повышает эволюционную устойчивость системы.

Как уже отмечалось выше, резкое изменение условий окружающей среды должно приводить к разрушению некоторых регуляторных контуров с отрицательными обратными связями. Это может привести к такому изменению параметров взаимоотношений клеток со средой, при котором латентный фенотип может стать более приспособленным к измененным условиям обитания. В этом случае произойдет скачкообразная смена преобладающего фенотипа в популяции. Однако, если после этого условия внешней среды не будут изменяться достаточно долго, то к нему неизбежно присоединяется новый латентный фенотип, который вновь создаст резерв скрытой изменчивости.

#### **Регуляторные системы с отрицательной обратной связью: дестабилизирующий отбор**

Дестабилизирующий отбор — это не просто особая форма движущего отбора, характеризующаяся выраженной интенсивностью. Принципиально важно то, что отбор ведется по некоторому жизненно важному признаку, связанному с регуляторными системами иерархически высокого уровня [2, 3]. Не останавливаясь на описании деталей экспериментальных исследований Д.К.Беляева, которые привели к формированию концепции дестабилизирующего отбора, отметим, что дестабилизирующий отбор сопровождается существенной перестройкой нейроэндокринного статуса организма, то есть затрагивает иерархически наиболее высокие уровни управления функционированием и воспроизведением организма [2, 3].

С учетом этого можно предполагать, что пусковым событием дестабилизирующего отбора, происходящим в результате селекции по поведению, является разрушение регуляторных контуров иерархически высокого уровня с отрицательными обратными связями. Следствием этого является прекращение эффекта обнейтраливания по ряду локусов и фенотипическое проявление скрытой ранее генотипической изменчивости. Следует также ожидать активацию ряда регуляторных контуров с положительными обратными связями, функция которых ранее подавлялась отрицательными обратными связями. В силу этого может происходить дополнительная актуализация скрытого ранее проявления мутаций, многократно усиливаемая действием положительных обратных связей.

В связи с нарушением функции регуляторных контуров иерархически высокого уровня может иметь место неустойчивое управление функционированием и воспроизведением организма, а также становится возможной конкуренция нескольких управляющих систем за один уровень управления. В свою очередь неустойчивость функционирования управляющих подсистем, многократно усиливаясь на иерархически более низких уровнях, может приводить к неустойчивости процессов онтогенеза и переключению с одного латентного фенотипа на другой. Подобная неустойчивость процессов индивидуального развития (особенно на их ранних этапах) к малым отклонениям управляющих параметров, являющаяся следствием принципиальной нелинейности механизмов развития, может быть наиболее существенным источником выраженных морфологических и физиологических отклонений, наблюдающихся при дестабилизирующем отборе.

#### **Заключение. Регуляторные контуры самовоспроизводящихся систем**

Способность к самовоспроизведению — фундаментальное свойство биологических систем. Самовоспроизводящаяся система (СВС) — это любая система, способная к воспроизведению своих копий на основе содержащейся в ней наследственной информации. Простейшие СВС — вирусы и фаги, воспроизводящиеся на основе информации, записанной в их геномах с использованием молекулярно-генетического аппарата клетки-хозяина. СВС минимального уровня сложности, способные к автономному воспроизведению, — одноклеточные организмы. Для животных и растений с половым процессом минимальная единица воспроизведения — пара разнополых особей. Популяция — СВС более высокого иерархического уровня. СВС еще более высокого ранга иерархии — биогеоценоз — совокупность популяций, существующих на определенной территории, принадлежащих различным биологическим видам и объединенных иерархией трофических связей. Биосфера Земли — глобальная СВС иерархически еще более высокого уровня. СВС — открытые неравновесные системы, функционирующие и воспроизводящиеся на основе обмена с окружающей средой потоками вещества, энергии и информации.

Все СВС имеют ряд инвариантных подсистем, абсолютно необходимых для их жизнедеятельности. К их числу относятся следующие. Наследственная память, содержащая генетическую информацию, обеспечивающую воспроизведение и функционирование СВС и их адаптацию к изменяющимся условиям среды. Материальный носитель генетической наследственной памяти (ГНП) — нуклеиновые кислоты. По мере повышения ранга СВС наряду с ГНП все большую роль играют различные виды динамической наследственной памяти, которая, согласно М.Е.Лоба-шову, впервые рассмотревшему этот вопрос, может быть названа сигнальной наследственностью. Материальные носители сигнальной наследственности зависят от свойств СВС различных иерархических уровней. Считывающее устройство — совокупность механизмов, структур и процессов, ответственных за считывание информации из наследственной памяти СВС. Модуль репарации исправляет дефекты наследственной памяти, возникающие при воспроизведении СВС и их функционировании. Модуль безопасности предотвращает проникновение в СВС чужеродной наследственной информации, подавляет воспроизведение и функционирование в пределах СВС паразитических и эгоистических подсистем. Модуль рецепции оценивает величины параметров внешней и внутренней среды, значимые для функционирования и воспроизведения СВС. Исполняющая подсистема — совокупность механизмов, структур и процессов, обеспечивающих жизнедеятельность СВС. Модуль самовоспроизведения — совокупность механизмов, структур и процессов, обеспечивающих воспроизведение копий СВС. Функционирование всех этих подсистем инструктируется информацией, содержащейся в наследственной памяти СВС.

В контексте рассматриваемого нами вопроса принципиально важно следующее. Обязательными компонентами любой самовоспроизводящейся системы являются регуляторные контуры с положительными и отрицательными обратными связями, управляющие как функцией всех перечисленных выше подсистем, так и их координированным взаимодействием.

С учетом того, что рассматриваемые выше математические модели эволюции регуляторных систем носили весьма общий характер и в них не учитывалась специфика конкретных регуляторных механизмов, мы предполагаем, что выявленные закономерности эволюции регуляторных контуров генетических систем легко могут переноситься на любые типы самовоспроизводящихся систем.

Это означает, что для них должны быть характерны эффекты обнейтрализации мутационных спектров, формирование новых регуляторных контуров с отрицательными обратными связями при стабилизирующем отборе и их разрушение — при движущем. Для них также должно быть свойственно наличие латентных фенотипов и, кроме того, должны существовать режимы эволюции, аналогичные тому, который наблюдается у млекопитающих при дестабилизирующем отборе.

Работа поддержана интеграционным проектом СО РАН «Фундаментальные проблемы биоразнообразия и динамики экосистем».

#### Литература

1. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. М.: Наука, 1968. 451 с.
2. Беляев Д.К. Проблемы и перспективы исследований по генетике животных // Генетика. 1987. Т. 23, № 6. С. 937-947.
3. Трут Л.Н. Некоторые аспекты генетики пегостей серебристо-черных лисиц (*Vulpes vulpes* L.) и взаимоотношения вектора отбора и направления изменчивости // Проблемы генетики и теории эволюции / Отв. ред. В.К.Шумный, А.О.Рувинский. Новосибирск: Наука, 1991. С. 67-84.
4. Kolchanov N.A., Ananko Ye.A., Kolpakov F.A. et al. Gene networks // Mol. Biol. 2000. V. 34, № 4. P. 449-460.
5. Колчанов Н.А., Матушкин Ю.Г. Биологические самовоспроизводящиеся системы: принципы организации и закономерности эволюции // Генетика. 1997. Т. 33, № 8. С. 1050-1054.
6. Колчанов Н.А., Шиндялов И.Н. Теоретическое исследование эволюции регуляторных контуров // Проблемы генетики и теории эволюции / Отв. ред. В.К.Шумный, А.О.Рувинский. Новосибирск: Наука, 1991. С. 268-280.
7. Kolchanov N.A., Lim H.A. Computer Analysis of Genetic Macromolecules. Structure, Function and Evolution. World Sci. Publ. 1994. 556 p.
8. Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности. М.: Мир, 1985. 498 с.
9. Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.A. Latent phenotype as an adaptation reserve, a simplest model of cell evolution: First Intern. Conf. on bioinformatics of genome regulation and structure. August 7-11, Novosibirsk, ICG // Proc. of the II Intern. Conf. BGRS' 2000. Novosibirsk: ICG, 2000. V. 1. P. 195-198.

*Н.А.Колчанов, Ю.Г.Матушкин, В.А.Лихошвай*, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск