

# №6 1998 год ДИМИНУЦИЯ ХРОМАТИНА — ФЕНОМЕН, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ РЯДА КЛЮЧЕВЫХ ВОПРОСОВ ГЕНЕТИКИ

Обращали ли вы внимание, читатель, на то, что в природе существуют явления, как бы специально предназначенные для того, чтобы дать более или менее четкие ответы на вопросы, которые бессильны решить даже современные эксперименты? Приведем лишь один пример, бесспорно, известный каждому генетику: вспомним, как на заре XX века возникла хромосомная теория наследственности. Первоначальная гипотеза о том, что гены, факторы наследственности, были локализованы в структурах клеточного ядра, видимых в митозе и мейозе, хромосомах, была строго доказана при сравнительном изучении поведения генов и хромосом. Фактически основы хромосомной теории заложил еще Г. Мендель в 1865 г., однако тогда хромосомы не были известны. Тем не менее второй и третий законы Менделя в действительности отражают особенности поведения гомологичных и негомологичных хромосом в мейозе.

Обратим внимание на следующий факт: один из главных краеугольных камней хромосомной теории наследственности – число групп сцепления – строго соответствует гаплоидному набору хромосом. Отсюда следуют два предсказания. Первое может сделать генетик. Определив генетическим методом число групп сцепления, он, не глядя в микроскоп, скажет, каким числом хромосом обладает данный объект, и в известных пределах даже охарактеризует их сравнительные размеры. Предсказание о числе групп сцепления может сделать и цитолог, определив под микроскопом (не проводя генетического анализа) число и размеры хромосом какого-либо вида.

Представим себе парадоксальную ситуацию: часть хромосом данного вида находится за пределами разрешения светового микроскопа. Если бы так было у гороха, дрозофилы, известных водяных клопов и других объектов, которыми пользовались генетики и цитологи в начале XX века, то очевидно, что хромосомная теория наследственности оформилась бы на несколько десятилетий позже. Когда один из нас (А.П. Акифьев) высказал эту мысль на лабораторном семинаре, то активный участник дискуссии А.И. Потапенко заметил, что «Бог специально создал такие хромосомы, чтобы цитогенетики могли наблюдать их в световом микроскопе». Шутка А.И. Потапенко вскоре оказалась своего рода парадигмой, стимулировавшей одно из направлений в исследовании диминуции хроматина (ДХ) у Сорепрода. С позиций замечания А.И. Потапенко рассмотрим, для чего предназначена сама ДХ. ДХ – это процесс программированного исключения большей или меньшей части генома *germ line* из зародышевых соматических клеток некоторых видов аскарид и циклопов. Сходное явление наблюдается в ходе созревания макронуклеусов (Ма) некоторых инфузорий, особенно ярко у родов *Stylonichia*, *Oxytricha*, *Euplotes*. Геном последних содержит иногда всего лишь 2–4% последовательностей ДНК, присутствующих в макронуклеусе (Ми) – герминативном ядре. Хромосомные структуры как таковые отсутствуют, они распадаются на фрагменты ДНК, содержащие один структурный ген и минимальное число регуляторных последовательностей. Эти индивидуальные гены защищены теломерами, однако центромерные районы у них отсутствуют, и Ма делится амитозом (Prescott, 1992). Среди многоклеточных животных на сегодняшний день рекордсменом по доле генома, элиминируемой при ДХ, является *Cyclops kolensis*. В работе авторов, выполненной совместно с В.Я. Бродским (Гришанин и др., 1994; Гришанин и др., 1996), было установлено, что в ядрах соматических клеток этого циклопа после ДХ сохраняется всего лишь 6% генома *germ line*. Этих 6% достаточно для того, чтобы образовались все типы тканевых клеток *C. kolensis*. При ДХ у *C. kolensis* размеры хромосом клеток соматической линии уменьшаются более чем в 3 раза, но число хромосом остается таким же, как и до ДХ.

Итак, к решению каких вопросов позволит приблизиться исследование ДХ? Первый и главный из них касается проблемы избыточной ДНК, волнующий генетиков вот уже более 30 лет. Речь идет о том, что у высших эукариот количество ядерной ДНК превосходит иногда на 10–15%, а нередко и в сотни раз то, которое необходимо для кодирования структурных генов и регуляторных последовательностей, или «базигенома» (Акифьев, 1993). У человека базигеном едва ли превышает 7–10% его хромосомной ДНК; у лилии и саламандры базигеном составляет и вовсе менее 1% геномов этих видов.

По поводу биологической роли избыточной ДНК высказывали точки зрения многие выдающиеся ученые. Однако любая из них могла быть опровергнута, образно говоря, за чашкой кофе, в том числе и та, которую один из авторов настоящей статьи (А.П. Акифьев) предложил в 1974 г. Особенно невнятную и в экспериментальном отношении совершенно неконструктивную идею предложил соавтор модели двойной спирали Ф. Крик. Тем не менее авторитет этого ученого был так высок, что его статья по поводу обсуждаемой проблемы в течение нескольких лет имела фантастический индекс цитирования.

Ни один из авторов гипотез о роли избыточной ДНК не обратил внимания на явление ДХ. Это было не случайно: во-первых, потому, что поиск функций избыточной ДНК был резко направлен в сторону ее роли в генетической регуляции в связи с дифференцировкой, а во-вторых, ДХ, поскольку она была известна у ничтожного числа видов эукариот, представлялась неким маргинальным явлением, которым лучше пренебречь при построении теорий, претендующих на общепризнанную значимость. Тем не менее ДХ однозначно свидетельствует о том, что у тех видов, у которых она известна, вся или почти вся избыточная ДНК может быть физически исключена из соматических геномов. Следовательно, либо законы функционирования и в целом генетическая регуляция, скажем, у циклопов, имеющих ДХ в онтогенезе и не имеющих таковой, основаны на совершенно разных принципах, либо избыточная ДНК не важна для соматической регуляции. Из первого предположения следует, что виды циклопов, имеющих ДХ, в эволюционном отношении крайне далеки от видов, у которых ДХ не содержится в генетической программе. Такому предположению противоречат многочисленные факты, показывающие чрезвычайно малые морфологические различия, отличимые лишь очень высококвалифицированным специалистом-морфологом. Можно констатировать, что ДХ на уровне хромосомного фенотипа – бесспорно, макромутация, на морфологические признаки оказывает ничтожное влияние. Все эти соображения, однако, в контексте истинной биологической роли избыточной ДНК выглядят как негативные: да, прежние гипотезы неверны, но им нет альтернативы. На сегодняшний день это уже не совсем так. Обратимся к одному достаточно известному факту. Эукариоты можно разделить на две группы. У первой из них, к которой относятся все

многоклеточные и многие простейшие, нет хромосом, не видимых в световом микроскопе. С другой стороны, хромосомы дрожжей и ультрамалых водорослей имеют такие размеры хромосомной ДНК (0,2–1,25 мегаоснований), которые просто не позволяют наблюдать их при разрешении светового микроскопа. Самое важное тут, однако, другое: нет таких эукариот, геномы которых состояли бы из смеси видимых и невидимых в световом микроскопе хромосом. Явление ДХ у циклопов наглядно показывает, как жестко выдерживается это правило. Сколь бы не велики были потери ДНК в процессе ДХ, даже 94% у *C.kolensis*, ни одна из хромосом не переходит в невидимое состояние. Более того, можно видеть, что размер всех хромосом соматических клеток уменьшается более или менее равномерно в ходе ДХ. И еще один важный факт, который, правда, нуждается в дальнейшем обосновании. Чем меньше исходный геном (т.е. геном germ line), тем меньше вероятность того, чтобы у данного вида существовала ДХ. Кроме того, есть промежуточные по размерам генома виды, у них ДХ меньше по объему, чем у *C.kolensis*. Таким образом, помимо базигенома, в хромосомах высших эукариот присутствует некоторое количество ДНК, выполняющее роль своего рода наполнителя, необходимого для создания критической массы того минимума ДНК, которое делает компактизованные в митозе и мейозе хромосомы видимыми в световом микроскопе.

ДХ «предназначена» также и для анализа организации кодирующих и не кодирующих последовательностей (т.е. элиминируемой ДНК) в геноме. Очевидно, что, по крайней мере, у циклопов нет хромосом, состоящих целиком из тех либо из других последовательностей. Скорее всего, кодирующие и не кодирующие последовательности чередуются друг с другом, и эта закономерность молекулярной организации ДНК отнюдь не случайна.

<С нашей точки зрения, другое главное «предназначение» ДХ – это недвусмысленное указание на то, что функции избыточной ДНК следует искать в клетках germ line. Безусловно, они далеко не будут ограничены собственно процессами созревания половых клеток; последние протекают совершенно сходно у видов, имеющих и не имеющих ДХ, в том числе и тех, геном которых по размерам близок к таковому в соматических клетках *C.kolensis*, т.е. последиминиционному.

ДХ, как процесс физического исключения избыточной части генома, как уже отмечалось, – явление крайне редкое. Но у других эукариот, например у млекопитающих, существует, видимо, несколько способов инактивации избытка генетического материала. Назовем лишь два наиболее яркие из них – это гетерохроматинизация и внутриядерный распад большей части первичных транскриптов. В этом контексте «предназначенность» ДХ и как механизма инактивации избыточной ДНК в соматических клетках, и как указателя на направление поиска ее функций в germ line вполне очевидна.

И еще два замечания. Вся макроэволюция основывается на одновременном включении многих генов как бы «втайне», т.е. без проверки отбором, подготовленных к каким-то новым функциям (допустим, к тому, чтобы «птица выплупилась из яйца рептилии»). Сходный уровень сложности имеют и процессы ДХ. Например, у простейших в ходе ДХ в некоторых генах наблюдаются сложнейшие, многочисленные перестановки последовательностей, остающихся в соматических клетках с одной стороны, и подлежащих элиминации с другой. Судя по всему, сам процесс ДХ, как и ансамбль генов его обслуживающих, возникают в течение чрезвычайно короткого эволюционного срока. В таком случае, если считать, что мутационный процесс поставляет эволюции сырой материал, то возникновение ДХ есть результат не стохастического, бесконечного во времени результата проб и ошибок, а канализованного процесса, цель которого известна заранее.

И наконец. В программы по проектам «Геном человека» сейчас на полных правах включаются объекты с малыми геномами, имеющими, на первый взгляд, отдаленное отношение к человеку, например *Fugu rubripes* – рыба-собака, принадлежащая к семейству иглобрюхов. Для генотерапии и других задач геномной инженерии весьма желательны конструировать донорный генетический материал, имеющий все необходимые структурные и регуляторные элементы и, к тому же, обладающий минимальными размерами. Не предназначен ли процесс ДХ у *C.kolensis* для того, чтобы генные инженеры могли успешно решить эти задачи?

#### Литература

1. Акифьев А.П. Докл. РАН. 1993. Т. 332. С. 96.
2. Гришанин А.К., Бродский В.Я., Акифьев А.П. Докл. РАН. 1994. Т. 338. С. 708.
3. Гришанин А.К., Худолий Г.А., Шайхаев Г.О. и др. Генетика. 1996. Т. 32. С. 492.
4. Prescott D.M. Trends Genet. 1992. V. 8. P. 439.

*А.П.Акифьев*, д.б.н.,  
главный научный сотрудник,  
Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва

*А.К.Гришанин*, к.б.н., с.н.с.,  
Институт биологии внутренних вод РАН, Москва