

ЭВОЛЮЦИЯ НА ДВУХ УРОВНЯХ. О ГЕНАХ И ФОРМАХ

С.Б. Кэрролл

Медицинский институт Говарда Хьюза, Лаборатория молекулярной биологии,
Университет штата Висконсин, Мэдисон, США, e-mail: sbcarroll@wisc.edu

Перевод статьи Carroll SB (2005) Evolution at Two Levels: On Genes and Form. PLoS Biol 3(7): e245 doi:10.1371 публикуется с любезного согласия автора в переводе Г.Б. Чириковой.

Эта статья основана на курсе лекций памяти Аллана Уилсона, прочитанных в Университете штата Калифорния, Беркли, США, в октябре 2004 г. В классической работе «Эволюция на двух уровнях у людей и шимпанзе», опубликованной 30 лет назад, Мэри-Клер Кинг и Алан Уилсон описали огромное сходство между многими белками человека и шимпанзе (King, Wilson, 1975). Их вывод гласил, что столь малая степень молекулярной дивергенции не может являться причиной анатомических или поведенческих различий между шимпанзе и людьми. Они предположили, что эволюционные изменения анатомии и образа жизни чаще основываются на изменениях в экспрессии генов, а не на изменениях в последовательностях белков.

Эта статья была ключевым событием в трех аспектах. Во-первых, в ней впервые было проведено сравнение большой выборки белков близкородственных видов, и, таким образом, ее можно считать одним из первых вкладов в «сравнительную геномику» (хотя это направление появилось только лишь два десятка лет спустя). Во-вторых, поскольку на основании экстраполяции молекулярных данных авторы делали выводы об эволюции морфологических признаков, эта работа также может считаться пионерским исследованием в области эволюционной биологии развития. В-третьих, акцент на эволюцию человека и его способностей в сравнении с нашим ближайшим ныне живущим родственником стимулировал поиск генетических основ происхождения отличительных признаков человека. Как и большинство работ Уилсона и его коллег, эта статья оказала огром-

ное влияние как на палеоантропологов, так и на молекулярных биологов.

Юбилей статьи М.-К. Кинг и А. Уилсона совпал с моментом, когда сравнительная геномика, эволюционная биология развития и эволюционная генетика располагают беспрецедентными объемами новых данных, а полный геном шимпанзе доступен для изучения. Таким образом, пришло время для того, чтобы рассмотреть то, что уже сделано, и то, что делается сейчас для выявления взаимосвязи эволюционных процессов, происходящих на двух уровнях – молекулярном и организменном, а также оценить статус гипотезы Кинг и Уилсона о доминирующей роли регуляторных мутаций в эволюции организмов.

Кинг и Уилсон предположили, что эволюция и анатомии, и физиологии, и поведения направлялась изменениями в регуляции экспрессии генов. Прежде всего, надо четко различать эволюцию анатомии и эволюцию физиологии. Изменения таких физических признаков организма, как размер, форма, число или цветовой узор, коренным образом отличаются от изменений, присущих химическим и физиологическим процессам. Многочисленные свидетельства, полученные при изучении эволюции белков, участвующих в восприятии зрительной информации (Yokoyama, 2002), в дыхательных процессах (Jessen *et al.*, 1991), в пищеварительном метаболизме (Zhang *et al.*, 2002) и защите организма-хозяина (Hughes, 2002), говорят о том, что эволюция кодирующих последовательностей играет ключевую роль в формировании некоторых (однако отнюдь не всех) важных физиологических различий между

видами. Напротив, вопрос об относительном вкладе эволюции кодирующих и регуляторных последовательностей в эволюцию анатомии все еще остается открытым, чему я и собираюсь уделить основное внимание.

Объем имеющихся в настоящее время прямых доказательств достаточно скромнен и включает примеры того вклада, который вносят как кодирующие, так и некодирующие регуляторные последовательности в эволюцию морфологии. Тем не менее я собираюсь представить систему доказательств, основанных как на теоретических рассуждениях, так и на эмпирических исследованиях, объем которых растет очень быстро, того, что эволюция регуляторных последовательностей должна вносить основной вклад в эволюцию формы.

Проверка этого вывода методами сравнительной геномики сопряжена с серьезными трудностями. Зная первичную структуру кодирующей последовательности, мы можем достаточно просто определить ее функцию. В то же время мы, как правило, не способны расшифровать функциональные свойства некодирующих последовательностей на основе простого изучения их первичной структуры. Это привело к смещению исследований в сравнительной геномике и эволюционной генетике в сторону анализа и описания легко выявляемых событий, происходящих в кодирующих районах, таких, как дубликации генов и эволюция белковых последовательностей, в то время как некодирующие регуляторные последовательности часто просто игнорируются. Однако некодирующие последовательности составляют не менее двух третей всех последовательностей нашего генома, которые находятся под воздействием стабилизирующего отбора (Waterston *et al.*, 2002). Одним из последствий недостаточного внимания к некодирующим регуляторным последовательностям является возникновение неоправданных надежд на то, что мы можем понять генетические основы морфологического разнообразия на базе простого сравнения геномных последовательностей. Видимое разнообразие любой группы не отражается наиболее легко заметными компонентами геномного разнообразия, т. е. разнообразием числа генов или их кодирующих последовательностей. Для того чтобы понять эволюцию анатомии,

мы должны исследовать и осмыслить регуляторные последовательности, а также и те белки, которые участвуют в объединении этих последовательностей в регуляторные контуры, управляющие развитием. Я начну с некоторых исторических и теоретических рассуждений об эволюции регуляторных и кодирующих последовательностей, затем перейду к соображениям, которые возникают при использовании конкретных экспериментальных моделей эволюции анатомии, и, наконец, возвращаясь к исходной точке зрения Кинг и Уилсона, мы обсудим, какое отношение имеет наше понимание морфологической эволюции к современным попыткам понять эволюцию человека.

Развитие представлений о роли регуляторных последовательностей в эволюции

Полвека назад определение первых последовательностей ряда белков, принадлежащих различным видам, быстро привело к признанию потенциальной значимости макромолекул для понимания эволюционных процессов (Crick, 1958). Значительное сходство гомологичных белков различных видов было отмечено практически сразу (Zuckerlandl, Pauling, 1965) и вызвало вопрос, в какой мере наблюдаемые различия последовательностей являются функционально значимыми (Kimura, 1969). С появлением модели оперонной регуляции генов (Jacob, Monod, 1961) ряд биологов, например Эмиль Цукеркандль, стали рассматривать возможную роль «генов-контролеров» в эволюции, в том числе и в происхождении человека от обезьяны (Zuckerlandl, 1964). Среди теоретических достижений этого периода следует отметить модели регуляции генов у высших организмов, предложенные Роем Бриттенем и Эриком Дэвидсоном, которые абсолютно определенно подчеркивали важность регуляции генов для процесса эволюции (Britten, Davidson, 1969, 1971).

Однако наибольшее влияние в этот период оказала одна публикация – книга Сусуму Оно «Evolution by gene duplication» (Эволюция посредством дубликации генов) (Ohno, 1970)¹.

¹ В русском переводе эта книга называется «Генетические механизмы прогрессивной эволюции», М.: Мир, 1973. 227 с.

С. Оно обратил особое внимание на то, что избыточность генов открывает возможность для появления прежде «запрещенных» мутаций, которые способны наделять белки новыми функциями. Отправной девиз С. Оно – «естественный отбор всего лишь модифицировал, тогда как избыточность создавала» – отражает представление о естественном отборе как о процессе в значительной степени стабилизирующем, консервативном. С. Оно утверждал, что «аллельные мутации уже существующих генных локусов не могут вызывать крупных эволюционных изменений». Он предположил, что дупликация регуляторных генов и их контролирующих районов несомненно внесла значительный вклад в эволюцию позвоночных. Однако эта книга была сфокусирована исключительно на эволюции новых белков и не рассматривала созидательный потенциал некодирующих регуляторных последовательностей в создании эволюционной дивергенции (см. Ohno, 1972).

На фоне этих идей и взглядов Алан Уилсон и его коллеги начали серию исследований взаимоотношений между эволюцией хромосом, эволюцией белков и морфологической эволюцией у птиц (Prager, Wilson, 1975), млекопитающих (Wilson *et al.*, 1974a), лягушек (Wilson *et al.*, 1974b) и человекообразных обезьян (King, Wilson, 1975). Несоответствие между эволюцией белков и морфологическими преобразованиями, обнаруженное во всех четырех исследованиях, привело к выводу, что основой морфологической эволюции были эволюционные изменения в «регуляторных системах». Подобным же образом Франсуа Жакоб предположил, что дивергенция и специализация – это скорее всего результат мутаций, изменяющих «регуляторные контуры», а не химические структуры (Jacob, 1977).

Относительный вклад различных механизмов в морфологическую эволюцию зависит как от того, что является возможным с генетической точки зрения, так и от того, что разрешено с точки зрения естественного отбора. Прежде чем перейти к подробному разбору данных, непосредственно относящихся к эволюции анатомии и к вопросу о том, насколько они соответствуют изначальным ожиданиям Кинг и Уилсона, мне кажется полезным рассмотреть в свете нашего

сегодняшнего понимания функционирования генов в многоклеточных организмах вопрос о том, какие существуют механизмы и какие факторы определяют их использование в эволюции.

Плейотропия и генная архитектура многоклеточных организмов

Одним из критических факторов, который определяет относительный вклад различных генетических механизмов в изменчивость по морфологическим признакам, является плейотропия (Stern, 2000). Принято считать, что мутации с большими плейотропными эффектами более вредны по их воздействию на приспособленность организмов, являясь соответственно менее общеупотребительным источником изменчивости формы по сравнению с мутациями, которые имеют меньший спектр плейотропии.

За последние 30 лет был выяснен целый ряд ключевых свойств структуры, функционирования и регуляции генов в многоклеточных организмах, которые управляют плейотропностью мутаций и тем самым формируют способность видов порождать морфологическую изменчивость и эволюционировать (см. окно 1). Благодаря этим свойствам мутации в различных генах и различных частях генов (т. е. в некодирующих и кодирующих последовательностях) могут разительно отличаться по степени их плейотропии. Например, мутация в кодирующей области транскрипционного фактора, который функционирует во многих тканях, может непосредственно воздействовать на все гены, регулируемые данным белком. Напротив, мутация в одном цис-регуляторном элементе будет влиять на экспрессию гена только в том домене, который регулируется этим элементом.

Джон Герхарт и Марк Киршнер (Gerhart, Kirschner, 1997; Kirschner, Gerhart, 1998) детально обсудили, каким образом определенные свойства генетических регуляторных систем животных влияют на «способность к эволюции» – способность генерировать «совместимую с жизнью» наследуемую изменчивость. Например, избыточность уменьшает ограничение на изменения, позволяя обойти или свести к минимуму потенциально пагубное влияние некоторых мутаций. Компартиментализация так-

Окно 1. Ключевые генетические свойства многоклеточных организмов

Индивидуальные регуляторные белки функционируют во многих различных контекстах. Сигнальные белки, их рецепторы, передатчики сигналов и большинство транскрипционных факторов используются во многих тканях, органах и частях тела. Функционирование каждого из регуляторных белков зависит от контекста, причем в различных тканях используются разные генетические мишени и получаются разные морфогенетические результаты.

Экспрессия индивидуальных генов регулируется множественными модульными цис-регуляторными элементами. Тканеспецифический и временной контроль экспрессии генов, в особенности генов, которые кодируют регуляторные белки, обеспечивающие формирование паттернов и клеточную дифференцировку у животных, как правило, находятся под управлением наборов дискретных регуляторных элементов, встроенных в районы, фланкирующие кодирующие районы и расположенные внутри интронов (Davidson, 2001).

Многие регуляторные белки являются членами больших семейств и могут иметь перекрывающиеся функции. Более 20 % генов человека и еще большая часть генов растений принадлежат к семействам (Lockton, Gaut, 2005), каждое из которых является продуктом дубликации и последующей эволюционной дивергенции предковых генов.

Множественные формы белков могут кодироваться одним и тем же генетическим локусом. Благодаря альтернативным промоторам и сайтам сплайсинга РНК, множественные молекулы РНК, кодирующие различные белковые продукты, часто транскрибируются с одного и того же локуса. Альтернативные формы белков (изоформы) могут функционировать в разных контекстах и/или иметь активности различного типа.

же способствует изменениям; при разобщении изменений, возникающих в одном процессе, и изменений, возникающих в другом, плейотропия уменьшается.

Целый ряд генетических свойств вносит вклад в избыточность и компартиментализацию. Например, дубликация генов создает изначально избыточные паралоги. Соответственно мутации, которые могли бы быть губительными, произойди они в предковом гене, становятся разрешенными и позволяют тем самым осуществить «исследование» нового варианта вне зависимости, находится ли он в кодирующем или регуляторном районе или же в обоих (рис. 1а). Подобным же образом увеличенное число и разнообразие цис-регуляторных элементов создает компартиментализацию, делая возможным независимый контроль транскрипции гена в разных частях тела (рис. 1б). Использование альтернативных промоторов и сайтов сплайсинга РНК также способствует компартиментализации, обеспечивая возможность тканеспецифической продукции альтернативных форм белка и продукции альтерна-

тивных форм белка отдельными типами клеток (рис. 1в). Изменчивость может возникать либо в регуляторных последовательностях, которые управляют использованием промоторов или выбором сайтов сплайсинга, либо в кодирующих последовательностях экзонов. Три механизма: 1) дубликация генов; 2) экспансия регуляторных последовательностей и их диверсификация и 3) экспрессия альтернативных изоформ белков – приводят к одному и тому же общему результату, а именно: они обогащают источники изменчивости и минимизируют плейотропию, связанную с эволюцией кодирующих последовательностей. Тогда глобальный вопрос о генетической основе морфологической эволюции сводится к вопросу об относительном вкладе, который вносят дубликация генов, изменение регуляторных последовательностей и изменение кодирующих последовательностей за время эволюции. Рассмотрим вначале, что нам известно о роли регуляторных последовательностей, а затем перейдем к обсуждению вклада кодирующих последовательностей и дубликации генов в эволюцию морфологических признаков.

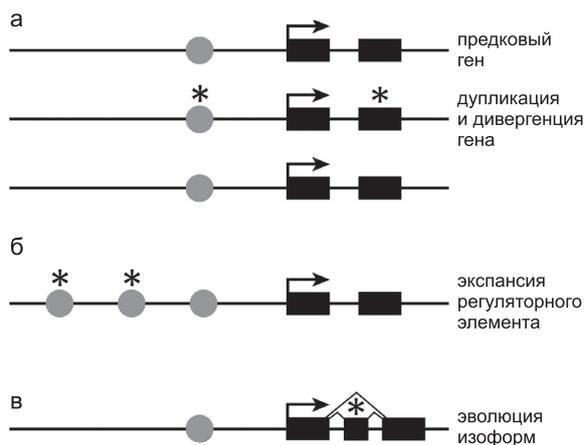


Рис. 1. Различные формы эволюции увеличивают разнообразие функционирования генов и минимизируют плейотропность.

Функция предкового гена с простой структурой, состоящей из цис-регуляторного элемента (кружки) и двух экзонов (прямоугольники), может быть расширена и модифицирована несколькими путями. а – дупликация гена с последующими мутациями (звездочки) в кодирующих или регуляторных последовательностях изначально идентичных паралогах приводит к возникновению генов, которые могут экспрессироваться разными способами, или белков с различными функциями при сохранении исходной функции; б – увеличение числа цис-регуляторных элементов любым из возможных способов (транспозиция, перестройка, дупликация, точечная мутация) может привести к расширению набора тканей, в которых данный ген будет активен при сохранении исходной функции; в – эволюция нового экзона и сайтов сплайсинга создает потенциальную возможность появления альтернативных форм белка. Мутации в альтернативных экзонах (звездочки) могут и не затрагивать исходную функцию белка.

Регуляторные последовательности и эволюция анатомии

За последнее десятилетие сравнительное изучение экспрессии генов различных животных и растений, относящихся ко всем таксономическим уровням, выявило общую связь между приобретением, потерей и модификацией морфологических признаков с одной стороны, и изменением регуляции генов в процессе развития – с другой (Davidson, 2001; Carroll *et al.*, 2005). Изменения экспрессии индивидуального гена могут развиваться через изменения в цис-регуляторных последовательностях или в спектре активности транскрипционных факторов, которые контролируют экспрессию этого гена, или же в результате обоих процессов.

Чтобы пролить свет на механизмы, которые управляют эволюцией специфических признаков и генов, необходимо было исследовать модели, на которых с использованием генетических и молекулярных методов можно идентифицировать и анализировать функциональные различия между популяциями или видами. Такой детальный анализ был возможен для: волосков (Stern, 1998; Sucena, Stern, 2000; Sucena *et al.*, 2003), щетинок (Genissel *et al.*, 2004) и характера пигментации (Kopp *et al.*, 2000) у плодовых мушек; окраски цветков (Durbin *et al.*, 2003), архитектуры (Yoon, Baum, 2004) и типа ветвления у растений (Wang *et al.*, 1999); разнообразия конечностей (Shapiro *et al.*, 2004) и осей тела у позвоночных (Belting *et al.*, 1998).

В небольшом числе работ было генетически продемонстрировано, что эволюция определенных локусов повлияла на приобретение (Wang *et al.*, 1999), потерю (Sucena, Stern, 2000; Sucena *et al.*, 2003; Shapiro *et al.*, 2004) или модификацию (Stern, 1998) морфологических признаков. Результаты этих исследований, приведенные ниже, позволяют категорически исключить изменения кодирующих последовательностей из круга возможных причин этих изменений и, таким образом, указывают на эволюцию регуляторных последовательностей в локусах, кодирующих плейотропные транскрипционные факторы. В нескольких случаях были получены прямые доказательства функциональных изменений цис-регуляторных элементов (Belting *et al.*, 1998; Wittkopp *et al.*, 2002; Gompel *et al.*, 2005).

У плодовых мушек обнаружено множество четко различающихся паттернов черной пигментации на голове, груди, брюшке и крыльях. Эти паттерны регулируются посредством разнообразных весьма консервативных сигнальных путей и транскрипционных факторов, которые контролируют пространственную экспрессию ферментов, стимулирующих или ингибирующих формирование пигмента меланина (Wittkopp *et al.*, 2003). У представителей рода, к которому относится *Drosophila melanogaster*, структурные гены, такие, как *yellow*, регулируются совокупностью цис-регуляторных элементов, которые управляют экспрессией гена в различных частях тела, например, в крыле и на брюшке (Wittkopp *et al.*, 2002), а также в щетин-

ках и ротовом аппарате личинок. Такая модульная организация цис-регуляторных элементов предполагает, что экспрессия гена и паттерн пигментации в различных частях тела эволюционируют независимо, посредством изменений индивидуальных цис-регуляторных элементов. Недавние работы показали, что это предположение совершенно справедливо (Wittkopp *et al.*, 2002; Gompel *et al.*, 2005) (рис. 2а).

Существует целый ряд четко выраженных общих черт эволюции паттерна пигментации у плодовых мушек. Многие или даже все структурные гены, вовлеченные в контроль этого признака, являются плеiotропными; они работают в различных частях тела и участвуют в различных физиологических процессах (например, в синтезе нейротрансмиттеров и в контроле

поведения). Более того, они регулируются, по крайней мере, частично, широко используемыми, высококонсервативными плеiotропными регуляторными белками, некоторые из которых и сами регулируются высококонсервативными и эволюционно стабильными глобальными регуляторами, которые обеспечивают формирование структуры тела (Kopp *et al.*, 2000). Таким образом, в то время как изменения кодирующих последовательностей структурных и регуляторных белков сдерживаются плеiotропией, модульные цис-регуляторные районы обеспечивают возможность появления огромного разнообразия вариантов через изменения регуляторных контуров посредством создания новых комбинаций сайтов для регуляторных белков в цис-регуляторных элементах (Gompel

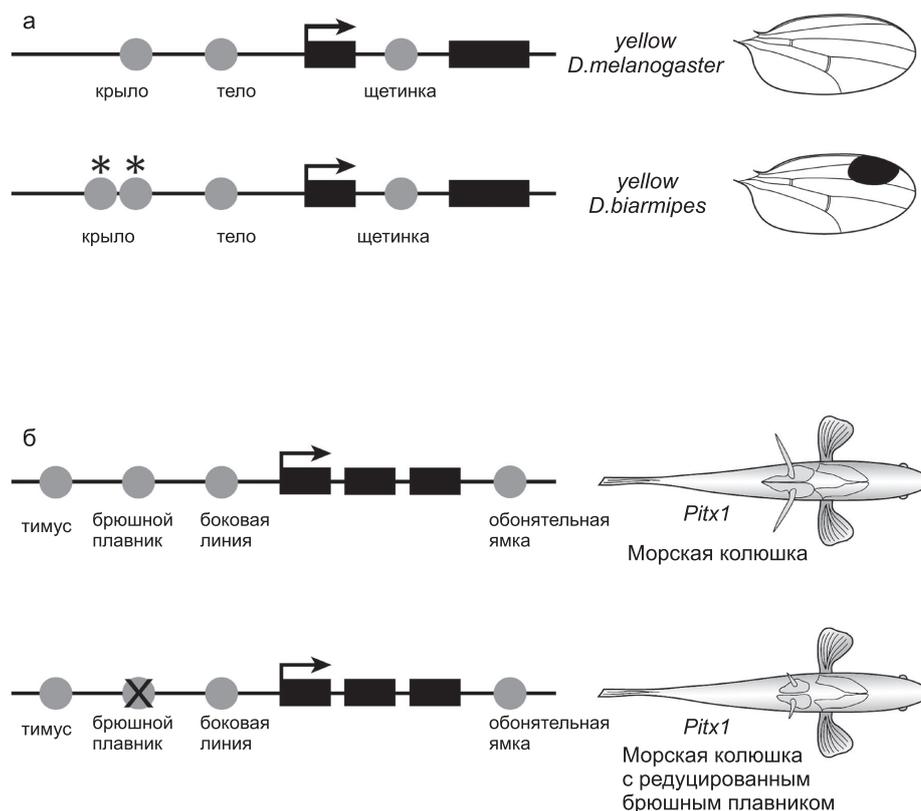


Рис. 2. Модульная архитектура цис-регуляторных районов плеiotропных генов обеспечивает независимую эволюцию проявления гена в разных частях тела.

а – экспрессия гена пигментации *yellow* у дрозофилы контролируется несколькими различными цис-регуляторными элементами (кружки). Отличия в активности отдельных элементов лежат в основе межвидовых различий паттерна пигментации (рисунок составлен по Gompel *et al.* (2005)); б – считается, что экспрессия гена *Pitx1* позвоночных контролируется множественными элементами (кружки). У колюшки с редуцированными брюшными плавниками этот ген не экспрессируется в брюшной области. Предполагается, что это происходит за счет избирательной потери активности одного из регуляторных элементов (перечеркнутый кружок; рисунок составлен по Shapiro *et al.* (2004)).

et al., 2005). Это разнообразие создается за счет «попыток подправить» регуляцию с помощью имеющихся компонентов, как это и предугадал Жакоб (Jacob, 1977).

Можно ли считать, что то, что справедливо по отношению к окраске, также справедливо и в случае более сложных признаков? Поскольку характер окраски тела столь важен для адаптации, то генетические системы, которые за него отвечают, могут быть более лабильными по сравнению с системами, которые регулируют более сложные признаки, такие, как организация тела, формирование конечностей и другие, более медленно эволюционирующие признаки. Однако имеющиеся доказательства говорят о том, что возникновение разнообразия других признаков, которые контролируются высокоплейотропными и в значительной мере консервативными белками, также может быть результатом эволюции регуляторных последовательностей.

Например, смещение ростокаудальных границ экспрессии гена *Hox* приводит к значительным различиям в формировании осей у позвоночных, членистоногих и кольчатых червей (Carroll *et al.*, 2005). В одном случае, а именно для гена *Hoxc8* курицы и мыши, было показано, что отличия в функционировании одного цис-регуляторного элемента приводили к различиям границ экспрессии этого гена в нервной трубке и параксиальной мезодерме (Belting *et al.*, 1998).

В то время как различия в осевой морфологии эволюционируют медленно и относительно редко, некоторые характеристики скелета позвоночных, например брюшной плавник рыбы колюшки, изменяются быстро (Bell *et al.*, 1985) и неоднократно (Shapiro *et al.*, 2004). Редукция брюшного плавника, гомолога задней конечности четвероногих, происходит из-за изменений в локусе *Pitx1* (Shapiro *et al.*, 2004). Белок *Pitx1* является плейотропным транскрипционным фактором, который участвует в развитии многих тканей у рыб, включая и задние конечности мышей. Экспрессия гена *Pitx1* в структурах, предшествующих брюшному плавнику, у колюшек с редуцированным брюшным плавником оказалась утеряна при сохранении кодирующей области этого гена в совершенно интактном состоянии, подчеркнем, без каких бы то ни было изменений в кодирующей последовательности по сравнению с популяциями, имеющими пол-

ностью сформированные брюшные плавники. Существует только одно объяснение, которое не противоречит этим наблюдениям, а именно, что регуляторные мутации в цис-элементах, регулирующих экспрессию в структурах, предшествующих брюшному плавнику, избирательно отключили экспрессию *Pitx1* именно в этой части развивающегося организма, в то время как экспрессия гена во всех остальных частях тела оказалась незатронутой (рис. 2б).

Ключевым выводом, который следует из примеров эволюции генов *Pitx1*, *yellow* и *Hoxc8*, является то, что регуляторные мутации – это механизм, который обеспечивает изменение одного признака, не затрагивая роль этих плейотропных генов в других процессах. Это, по-видимому, самый важный, самый фундаментальный вывод эволюционной биологии развития. В то время как функциональные мутации в кодирующих районах обычно недопустимы и элиминируются стабилизирующим отбором, в регуляторных элементах разрешены даже те мутации, которые вызывают полную потерю его функции, поскольку компартиментализация, создаваемая модульностью цис-регуляторных элементов, лимитирует влияние мутаций на отдельные части тела.

Означает ли это, что кодирующие последовательности не способны вносить какой-либо вклад в эволюцию морфологии? Ни в коей мере. Существует целый ряд ярких примеров функциональных изменений последовательностей белков, которые оказывают влияние на форму, и далее я на них остановлюсь. Необходимо не забывать о следующих ключевых вопросах: как часто и при каких условиях эволюция затрагивает функцию кодирующих последовательностей регуляторных молекул?

Кодирующие последовательности и эволюция анатомии

Общее строение тела членистоногих и четвероногих эволюционировало с использованием довольно стабильного набора генов *Hox* для каждого типа (Carroll, 1995; Carroll *et al.*, 2005). Постоянство числа генов *Hox* и сохранение ортологичных последовательностей и функции *Hox* раньше интерпретировали как свидетельство того, что белки *Hox* не подверглись значительной функциональной дивергенции.

Однако сейчас стало понятно, что у целого ряда Нох-белков членистоногих произошло изменение формы или механизмов развития, включая такие белки, как *Hox3*, *Fushi tarazu*, *Ultrabithorax* (*Ubx*) и *Antennapedia* (Shiga *et al.*, 2002). В случае белков *Hox3* и *Fushi tarazu* функция Нох в некоторых видах была утеряна, но были приобретены новые функции. В последовательности белка *Fushi tarazu* у некоторых видов насекомых был утерян мотив, который участвует в реализации функции Нох, однако появился мотив, участвующий в реализации новой для него функции – сегментации (Alonso *et al.*, 2001; Löhr *et al.*, 2001). Сходным образом белок *Hox3* потерял свойственную ему функцию, приобретя новую – функцию, связанную с формированием дорзовентральной оси. Впоследствии он подвергся дупликации, которая привела к образованию двух дивергировавших генов, участвующих в ранних стадиях формирования двух осей тела в одном таксоне мух (Damen, Tautz, 1998; Telford, Thomas, 1998; Stauber *et al.*, 2002).

В белке *Ubx* функциональные мотивы эволюционировали при сохранении функции Нох. Сравнительные и функциональные исследования показали, что С-конец белка *Ubx* у ракообразных удлинён и играет роль домена, модулирующего активность (Ronshaugen *et al.*, 2002). У насекомых этот домен заменён коротким глутамин/аланин-богатым мотивом, который сохранялся неизменным на протяжении более чем 300 миллионов лет эволюции насекомых (Galant, Carroll, 2002).

На примере Нох-белков членистоногих видно, что некоторые, даже наиболее консервативные, белки способны при определенных обстоятельствах эволюционировать с появлением новых функций, отличных от прежних. По-видимому, в рассмотренных примерах отбор против изменений в кодирующих последовательностях был ослаблен вследствие избыточности паралогов генов *Hox*. Однако такие события происходили на протяжении долгой истории этих таксонов достаточно редко по сравнению с огромным многообразием форм тела членистоногих. Необходимо также подчеркнуть, что гены *ftz* и *Hox3* (а также их производные *zen* и *bcd*) приобрели абсолютно новые регуляторные элементы, которые осуществляют контроль

их экспрессии в новых доменах и структурах. Более того, механизмы регуляции гена *Ubx* у членистоногих чрезвычайно разнообразны (Carroll *et al.*, 2005), что в равной степени относится и к насекомым (Warren *et al.*, 1994; Palopoli, Patel, 1998; Mahfooz *et al.*, 2004). Таким образом, несмотря на немногочисленность примеров очевидной эволюции кодирующих последовательностей регуляторных белков, эволюция регуляторных последовательностей, тем не менее, является решающим компонентом функциональной эволюции и дальнейшего формирования разнообразия функций генов.

Существуют ли более общие и быстрые пути эволюции морфологического разнообразия с помощью мутаций в кодирующих последовательностях? Несомненно, существуют. Одним из примеров является рецептор меланокортина-1 (*MC1R*), который модулирует уровень и тип синтеза меланина в меланоцитах. Мутации в гене *MC1R* приводят к изменению окраски чешуи, меха и оперения и формируют разнообразие этих признаков у широкого круга видов (Majerus, Mundy, 2003). Поскольку существование альтернативных фенотипов имеет большое экологическое значение, можно предположить, что ген *MC1R* эволюционировал под действием естественного и полового отбора. В связи с очевидностью примера, который предоставляет эволюция гена *MC1R*, возникает вопрос, почему же эволюция кодирующих последовательностей преобладает в случае создания разнообразия окрасок у позвоночных, тогда как эволюция регуляции генов играет главную роль в пигментации плодовых мушек и цветков растений?

Возможно, существуют какие-то свойства *MC1R*, которые дают ему возможность играть такую выдающуюся роль. *MC1R* является членом семейства, состоящего из пяти родственных рецепторов, и единственным из них, который участвует в регуляции синтеза пигментов (Catania *et al.*, 2004). Таким образом, структурное и регуляторное многообразие этого семейства рецепторов (т. е. эволюция экспрессии *MC1R* в меланоцитах) привело к возникновению белка, обладающего гораздо большей степенью эволюционной свободы, чем рецепторы с более широким спектром плейотропии. Необходимо отметить, что мутации в кодирующей области гена *MC1R* влияют на

пигментацию на уровне всего тела, а не на появление или изменение пятнышек, полосок или других узоров. Тем не менее вероятно, что эволюция пространственных особенностей пигментации у позвоночных включает эволюцию регуляции экспрессии белков, участвующих в формировании пигментации, или эволюцию регуляторов рецепторной активности (Millar *et al.*, 1995) посредством механизмов, сходных с теми механизмами, которые обеспечивают эволюцию типа окраски насекомых.

По-видимому, широкое участие изменения кодирующей области гена *MC1R* в видимом разнообразии позвоночных является относительно частным случаем, связанным с вовлеченностью *MC1R* в пигментацию и его минимальной плейотропностью. Что же касается других белков – белков с более широким плейотропным действием, то можно ожидать, что изменчивость их последовательностей ограничена и, соответственно, ограничен и их вклад в морфологическую изменчивость. Тем не менее недавно показано, что морфологическая изменчивость у пород собак связана с изменениями длины повторяющихся аминокислотных последовательностей в кодирующих областях целого ряда транскрипционных факторов, играющих важную роль в процессе развития (Fondon, Garner, 2004). Эти повторы кодируются последовательностями микросателлитов и обладают способностью либо быстро удлиняться, либо укорачиваться; и спонтанные или индуцированные мутации этих сайтов влияют на видимые признаки. Исключительная вариабельность повторов по длине и их потенциальное влияние на морфологию увеличивает вероятность того, что эти повторы являются источником изменчивости природных популяций. Однако такая изменчивость может сопровождаться вредными плейотропными эффектами, которыми можно управлять в случае доместикации, но которые в условиях естественного отбора будут ограничивать вклад данных повторов в эволюцию.

Дупликация генов и эволюция анатомии

История *Hox*-генов и *MC1R*-гена является отражением того, что одним из условий, необходимых для участия в потенциальной эволюции кодирующих последовательностей, является ге-

нерация новых генов посредством дупликации. Широко распространена точка зрения, согласно которой дупликация генов является главной движущей силой эволюции (Ohno, 1970; Taylor, Raes, 2004). Однако эмпирические данные свидетельствуют о том, что на фоне несомненного вклада дупликации генов в эволюцию формы частота дупликаций была явно недостаточна для объяснения постоянной диверсификации таксонов. Этот вывод основан в первую очередь на двух группах наблюдений.

Во-первых, скорость дупликации генов составляет примерно одно событие на ген за 100 млн лет (Lynch, Conery, 2000). Эта цифра говорит о том, что дупликация генов способна вносить вклад в эволюцию в случае более протяженных периодов эволюционного времени (например, на протяжении периодов, превосходящих 50 млн лет). Однако такая скорость совершенно недостаточна для объяснения популяционной изменчивости (например, изменчивости количественных признаков) или дивергенции близких видов, таких, как 300 тыс. известных видов жуков или 10 тыс. видов птиц.

Во-вторых, относительно невысокая частота дупликации генов отражена в реальной истории семейств ключевых регуляторных генов, участвующих в процессах развития. Например, хотя совершенно ясно, что в процессе ранней эволюции животных произошло увеличение числа генов *Hox*, а во время ранней эволюции позвоночных произошло увеличение числа кластеров генов *Hox*, число и количество вариантов этих генов у таких различных таксонов, как членистоногие и четвероногие, оставалось весьма постоянным на протяжении длительного периода (около 500 млн лет). Другие семейства генов, как, например, семейства сигнальных лигандов *Wnt*, также характеризуются очень древним разнообразием. Из 12 подсемейств *Wnt*, известных для позвоночных, 11 были идентифицированы у кишечнополостных (Kusserow *et al.*, 2005). Столь древнее разнообразие намного превосходит тот уровень, который можно было бы ожидать на основании гипотезы о появлении разнообразия непосредственно в результате образования новых генов (Carroll, 1995). Аналогично, несмотря на широко распространенное представление о том, что число генов в геноме человека значительно больше, чем у других ви-

дов, это отнюдь не так, подавляющее большинство генов человека имеют синтенные ортологи в геноме мыши (Waterston *et al.*, 2002).

Более того, вклад дубликации генов в эволюцию формы, возможно, определяется в первую очередь дивергенцией регуляции дублицированных генов, а не новыми функциями, которые приобретаются за счет мутаций в кодирующих областях. Как теоретические рассуждения, так и эмпирические данные говорят о том, что разделение функций прародительского гена может чаще всего происходить посредством регуляторных мутаций или же за счет разделения регуляторных последовательностей во вновь возникшей дубликации (Lynch, Katju, 2004).

Относительный вклад регуляторных и кодирующих последовательностей в эволюцию анатомии

Вышеописанные примеры показывают, что и регуляторные, и кодирующие области генома могут вносить и действительно вносили вклад в эволюцию морфологических признаков. Более субъективным является вопрос о том, можно ли на основании столь небольшой выборки конкретных примеров, рассмотренных в этой статье и имеющих в литературе, делать утверждения (и отставлять их) об относительном вкладе изменения регуляторных и кодирующих последовательностей в эволюцию анатомии. Но нам сейчас сделать это легче, чем Кинг и Уилсону 30 лет назад.

Хотя агностическая позиция «поживем – увидим» может показаться более осмотрительной, она ни в коей мере не будет соответствовать смелости ума тех пионеров, которые впервые задались вопросом, поставленным в заголовок этого раздела. Более того, я осмелюсь утверждать, что такая тенденция очевидна и что она должна пройти красной нитью как в уже ведущихся работах, так и в будущих исследованиях. На основании: 1) эмпирических исследований эволюции признаков и регуляции генов в процессе развития; 2) скорости дубликации генов и частной истории семейств генов, играющих важную роль в процессе развития; 3) того факта, что регуляторные белки являются наиболее медленно эволюционирующими классами белков и 4) теоретических рассуждений, связанных с плейотропностью мутаций, я берусь утверж-

дать, что у нас есть все основания сделать вывод о том, что эволюция анатомии происходит в первую очередь за счет изменений в регуляторных последовательностях.

Это не удивительно, принимая во внимание, что гипотеза Кинг и Уилсона, а также других исследователей сформировалась уже несколько десятилетий назад. Действительно, большинство приверженцев эволюционной биологии развития не найдут здесь ничего нового. Я, однако, не убежден в том, что все то, что мы узнали об эволюции формы, рассматривается адекватным образом в области сравнительной геномики и популяционной генетики, где потенциальная роль эволюции регуляторных последовательностей либо рассматривается как вторичное явление, либо игнорируется вовсе. Это пренебрежение оказывает фундаментальное влияние на проблему, которая возбудила интерес Кинг и Уилсона, а именно на происхождение различий между шимпанзе и человеком.

Шимпанзе и люди: возвращение к проблеме

Морфологические различия между современным человеком, его предками и человекообразными обезьянами являются результатом эволюционных изменений процесса развития. Выше я уже приводил аргументы в пользу того, что эволюция таких сложных признаков, как размер мозга, черепно-лицевая морфология, области коры головного мозга, отвечающие за речь и язык, форма руки и пальцев, расположение зубов и морфология скелета имеет высокополигенную и в значительной степени регуляторную основу (Carroll, 2003). Теперь, когда нам стали известны последовательности геномов человека, шимпанзе и других млекопитающих, мы можем соотнести изменения в генах с изменениями в признаках. Это огромная и трудная задача. Для решения этой проблемы использовались разные подходы, которые привели к открытию интригующих связей между генами-кандидатами и эволюцией определенных признаков, например, между геном *FOXP2* и эволюцией речи (Enard *et al.*, 2002), между псевдогеном миозина *MYH16*, специфичным для мышц, и эволюционной редукцией жевательного аппарата (Stedman *et al.*, 2004). В

данном случае меня не интересует, играли ли эти связи какую-либо роль в эволюции человека, меня тревожит исключительный акцент на эволюции кодирующих последовательностей, сделанный по выбору или по необходимости в большинстве обзоров по этой проблеме (Dogus *et al.*, 2004).

Существует некоторая нестыковка между теми факторами, которые недооцениваются при изучении модельных видов, – способностью или достаточностью регуляторных последовательностей для объяснения эволюции морфологических признаков, с одной стороны, и тем, какие модели эволюции явно или неявно проверяются, когда все внимание сосредоточено исключительно на дивергенции кодирующих последовательностей. Два сюжета о гене *FOXP2* иллюстрируют как разительно отличающиеся выводы в зависимости от используемой методологии и принятых допущений.

Ген *FOXP2* человека кодирует транскрипционный фактор. Установлено, что мутации в этом локусе связаны с расстройствами речи (Lai *et al.*, 2001). Белок *FOXP2* человека отличается от соответствующего белка гориллы и шимпанзе всего лишь двумя аминокислотными остатками, что позволяет предположить, что две замены, произошедшие у человека, могли быть значимыми для эволюции речи. Более того, популяционно-генетический анализ показывает, что локус *FOXP2* за последние 200 тыс. лет эволюции человека подвергался значительной «чистке» со стороны отбора (Enard *et al.*, 2002). Конечно, было бы удобно считать, что эти две замены в белке *FOXP2* являются функциональными, но нужно рассмотреть и альтернативную гипотезу о том, что в локусе *FOXP2* могли произойти и функциональные регуляторные изменения. Рассматривая альтернативные гипотезы потенциального участия генов *FOXP2* или любых других генов в эволюции формы (или компонентов нервной системы), необходимо задать следующими вопросами: 1) используется ли продукт рассматриваемого гена во многих тканях? 2) дают ли (или могут давать) мутации этого гена плейотропные эффекты? 3) содержит ли соответствующий локус множественные цис-регуляторные элементы?

Если ответ на все эти вопросы положительный, то можно считать, что более вероятная

эволюция признака обусловлена эволюцией регуляторных последовательностей, а не изменением кодирующих последовательностей. *FOXP2* является примером именно такого случая. *FOXP2* экспрессируется в различных органах – не только в мозге, но также и в легких, и в сердце, и в кишечнике (Lai *et al.*, 2001; Shu *et al.*, 2001). Пациенты с мутациями в гене *FOXP2* страдают множественными (плейотропными) нарушениями нервной системы (Vargha-Khadem *et al.*, 2005). И наконец, поскольку *FOXP2* экспрессируется в различных органах и различных отделах мозга, этот ген, несомненно, имеет множественные регуляторные элементы. Более того, это гигантский, сложный локус размером около 267 т.п.н. Мы знаем, что средняя оценка дивергенции пар оснований по всему геному между шимпанзе и человеком составляет 1,2%. Тогда по одному этому конкретному району шимпанзе должен отличаться от человека на более чем две тысячи нуклеотидов. Поскольку возможности функциональной дивергенции некодирующих последовательностей значительно выше, то и в случае *FOXP2* нет никаких причин для предпочтения дивергенции кодирующих последовательностей, а не регуляторных последовательностей.

Открытие *FOXP2* и его связи с речью человека дало толчок к рассмотрению возможной роли *FOXP2* в эволюции звуковой коммуникации у животных, и именно здесь проверка различных гипотез и использование различной методологии привели к поразительно отличающимся выводам. Способность к обучению пению появилась в процессе эволюции у трех отрядов птиц. Между пением птиц и речью человека существует определенное поведенческое и нейро-физиологическое сходство в том смысле, что обучение пению и речи происходит в критический период развития и в этих процессах участвуют слуховые и моторные центры, а также специальные центры мозга. Стандартный сравнительный анализ кодирующих последовательностей *FOXP2* людей и птиц, как обучающихся петь, так и не способных к обучению пению, не выявил, с одной стороны, никаких общих аминокислотных замен у человека и птиц, обучающихся пению, а с другой – никаких закрепленных различий между птицами, обучающимися и не способными к обучению

петь. Вывод, сделанный в этой работе, звучит: «нет никаких доказательств о его [*FOXP2*] роли в процессе эволюции обучения звуковой коммуникации у животных» (Webb, Zhang, 2005).

Однако данные, полученные при исследовании мРНК *FOXP2* и экспрессии соответствующего белка в развивающемся и взрослом мозге целого ряда птиц, обучающихся и не способных к обучению пению, представляли разительный контраст, поскольку в зоне X, т. е. в центре, необходимом для обучения пению, было обнаружено удивительное увеличение экспрессии *FOXP2*, отсутствующее у птиц, которые не способны обучаться пению (Haesler *et al.*, 2004) (рис. 3а–в). Это увеличение наблюдалось у зебровых амадин в течение периода развития, когда происходит обучение пению. Более того, у взрослых канареек наблюдались сезонные изменения экспрессии *FOXP2* в зоне X, которые были связаны со стабильностью песен этих птиц (рис. 3г–е). Таким образом, с развитием и эволюцией обучения пению у птиц коррелируют впечатляющие изменения в регуляции *FOXP2*, а вовсе не в последовательности соответствующего белка. Эти изменения могли возникнуть посредством эволюции цис-регуляторных последовательностей самого *FOXP2* или же кодирующих последовательностей

транскрипционных факторов, которые контролируют экспрессию *FOXP2*.

Контраст между отрицательными выводами, сделанными на основании анализа кодирующих последовательностей, и замечательная корреляция, которая обнаруживается при сравнительном изучении регуляции гена *in vivo*, ярко показывает, какие несоответствия и потенциальные ошибки могут возникнуть при анализе роли кодирующих районов в эволюции морфологических и поведенческих признаков. Неадекватность этого подхода проявляется не только при анализе эволюции форм. Применение стандартного популяционно-генетического анализа к изучению последовательностей белков человека (Clark *et al.*, 2003; Dorus *et al.*, 2004) позволило выявить несколько примеров позитивной селекции по цис-регуляторным последовательностям генов физиологических признаков (Rockman *et al.*, 2003, 2004; Hahn *et al.*, 2004). Один из них – абсолютно четкий случай эритроид-специфичной утраты экспрессии рецептора хемокинов – антигена Duffy – в популяциях, устойчивых к заболеванию малярией, которую вызывает *Plasmodium vivax* (Livingstone, 1984). В данном случае потеря экспрессии связана с регуляторной мутацией, которая влияет на эритроидную цис-регуляторную последователь-

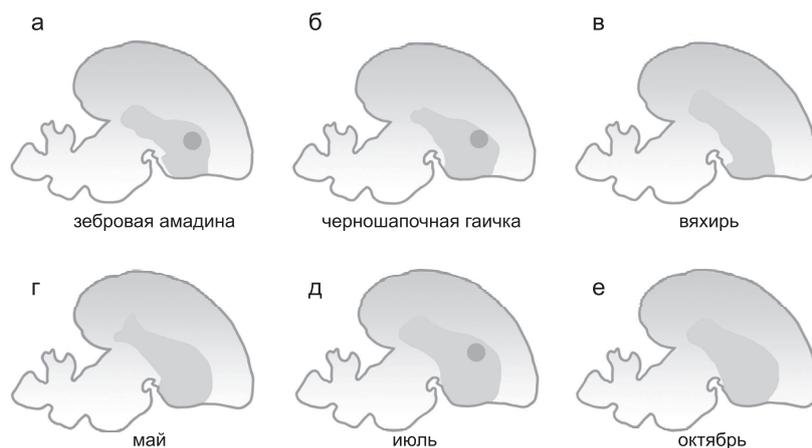


Рис. 3. Эволюция регуляции *FOXP2* и происхождение способности к обучению пению у птиц.

а–в – паттерны экспрессии *FOXP2*, показанные на срезах мозга. Темно-серым цветом отмечен стриатум. Экспрессия *FOXP2* увеличена в центре, отвечающем за вокализацию, который носит название зоны X (черная точка) у видов, способных обучаться пению, таких, как зебровая амадина (а) и черношапочная гаичка (б), но не у вида, который не способен обучаться пению, – вяхиря (в).

г–е – у канареек экспрессия *FOXP2* в зоне X меняется в зависимости от времени года: повышенная экспрессия наблюдается в периоды, когда песня птицы становится пластичной (темная точка). (Рисунок составлен по Haesler *et al.*, 2004).

ность и не оказывает какого-либо воздействия на экспрессию данного рецептора во всех остальных тканях (Tournamille *et al.*, 1995).

Таким образом, всё это делает необходимым критически оценивать любые утверждения или заявления по поводу генетических изменений, которые «превращают нас в человека», с точки зрения возможностей и ограничений применяемой методологии и границ проверяемых гипотез. Вполне понятно, что некоторые биологи поддаются искушению воспользоваться тем, что просто само идет в руки, а именно изменениями в кодирующих последовательностях, но, тем не менее, разгадка головоломки регуляторных последовательностей еще ждет нас впереди.

Выводы

Гипотеза об эволюции регуляторных последовательностей, сформулированная Кинг и Уилсоном 30 лет назад, полностью основывалась на негативных результатах, т. е. на том, что дивергенция кодирующих последовательностей явно недостаточна для объяснения имеющихся существенных различий между организмами. Потребовалось несколько десятилетий, чтобы получить доказательства того, что регуляторные последовательности столь часто являются основой для эволюции форм, чтобы убедиться в том, что гипотеза об эволюции регуляторных последовательностей должна стоять на первом месте при рассмотрении эволюции анатомии (включая компоненты нервной системы). Особая сложность анализа эволюции регуляторных последовательностей заключается в том, что с помощью простого сравнения невозможно с первого взгляда отличить бессмысленные изменения от функциональных. Однако, что касается моделей, не включающих человека, для которых применим широкий набор экспериментальных методов, в этом случае у нас есть повод для реальной надежды на то, что в ближайшее время вклад регуляторных последовательностей в эволюцию будет становиться все более и более ясным. Для того же, чтобы приблизиться к пониманию происхождения признаков, отличающих человека, необходимо уделить значительно большее внимание сравнительному изучению экспрессии, регуляции и развития генов у человекообразных обезьян

и других приматов. Именно это и предсказали Кинг и Уилсон 30 лет назад (King, Wilson, 1975), но только сейчас у нас появилась реальная возможность воплотить это в жизнь.

Благодарности

Я признателен М.-К. Кинг за комментарии по поводу статьи, которую она написала в 1975 г. совместно с А. Уилсоном, Л. Олдсу, за подготовку иллюстраций, а также А. Рокасу, Б. Уилльямсу, К. Хиттингеру, Б. Хершу, П. Кэрроллу и С. Пэддоку за полезные замечания. Работа в моей лаборатории проводилась при поддержке Медицинского института Говарда Хьюза (Howard Hughes Medical Institute).

Литература

- Alonso C., Maxton-Kuechenmeister J., Akam M. Evolution of Ftz protein function in insects // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. 1473–1478.
- Bell M.A., Baumgartner J.V., Olson E.C. Patterns of temporal change in single morphological characters of a Miocene stickleback fish // *Paleobiology.* 1985. V. 11. P. 258–271.
- Belting H.G., Shashikant C.S., Ruddle F.H. Modification of expression and cis-regulation of Hoxc8 in the evolution of diverged axial morphology // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. P. 2355–2360.
- Britten R.J., Davidson E.H. Gene regulation for higher cells: A theory // *Science.* 1969. V. 165. P. 349–357.
- Britten R.J., Davidson E.H. Repetitive and non-repetitive RNA sequences and a speculation on the origins of evolutionary novelty // *Quart. Rev. Biol.* 1971. V. 46. P. 111–138.
- Carroll S.B. Homeotic genes and the evolution of arthropods and chordates // *Nature.* 1995. V. 376. P. 479–485.
- Carroll S.B. Genetics and the making of *Homo sapiens* // *Nature.* 2003. V. 422. P. 849–857.
- Carroll S.B., Grenier J.K., Weatherbee S.D. // *From DNA to Diversity: Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design.* 2nd ed. Malden: Blackwell Scientific, 2005. 258 p.
- Catania A., Gatti S., Lipton J.M. Targeting melanocortin receptors as a novel strategy to control inflammation // *Pharmacol. Rev.* 2004. V. 56. P. 1–29.
- Clark A.G., Glanoski S., Nielsen R. *et al.* Inferring nonneutral evolution from human-chimp-mouse orthologous gene trios // *Science.* 2003. V. 302. P. 1876–1877.

- Crick F.H.C. On protein synthesis // Symp. Soc. Exp. Biol. 1958. V. 12. P. 138–163.
- Damen W.G.M., Tautz D.A. Hox class 3 orthologue from the spider *Cupiennius salei* is expressed in a Hox-gene-like fashion // Dev. Genes Evol. 1998. V. 208. P. 586–590.
- Davidson E.H. Genomic Regulatory Systems: Development and Evolution. San Diego: Academic Press, 2001. 261 p.
- Dorus S., Vallender E.J., Evans P.D. *et al.* Accelerated evolution of nervous system genes in the origin of *Homo sapiens* // Cell. 2004. V. 119. P. 1027–1040.
- Durbin M.L., Lundy K.E., Morrell P.L. *et al.* Genes that determine flower color: The role of regulatory changes in the evolution of phenotypic adaptations // Mol. Phylogenet. Evol. 2003. V. 29. P. 507–518.
- Enard W., Przeworski M., Fisher S.E. *et al.* Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language // Nature. 2002. V. 428. P. 869–872.
- Fondon J.W., Garner H.R. Molecular origins of rapid and continuous morphological evolution // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 18058–18063.
- Galant R., Carroll S.B. Evolution of a novel transcriptional repression domain in the Ultrabithorax Hox protein in insects // Nature. 2002. V. 415. P. 848–849.
- Genissel A., Pastinen T., Dowell A. *et al.* No evidence for an association between common nonsynonymous polymorphisms in delta and bristle number variation in natural and laboratory populations of *Drosophila melanogaster* // Genetics. 2004. V. 166. P. 291–306.
- Gerhart J., Kirschner M. Cells, Embryos, and Evolution. Malden: Blackwell Science, 1997. 642 p.
- Gompel N., Prud'homme B., Wittkopp P.J. *et al.* Chance caught on the wing: Cis-regulatory evolution and the origin of pigment patterns in *Drosophila* // Nature. 2005. V. 433. P. 481–487.
- Haesler S., Wada K., Nshdejan A. *et al.* *FoxP2* expression in avian vocal learners and non-learners // J. Neurosci. 2004. V. 24. P. 3164–3175.
- Hahn M.W., Rockman M.V., Soranzo N. *et al.* Population genetic and phylogenetic evidence for positive selection on regulatory mutations at the factor VII locus in humans // Genetics. 2004. V. 167. P. 867–877.
- Hughes A.L. Natural selection and the diversification of vertebrate immune effectors // Immunol. Rev. 2002. V. 190. P. 161–168.
- Jacob F. Evolution and tinkering // Science. 1977. V. 196. P. 1161–1166.
- Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of protein // J. Mol. Biol. 1961. V. 8. P. 318–356.
- Jessen T.H., Weber R.E., Fermi G. *et al.* Adaptation of bird hemoglobins to high altitudes: Demonstration of molecular mechanism by protein engineering // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. P. 6519–6522.
- Kimura M. The rate of molecular evolution considered from the standpoint of population genetics // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1969. V. 63. P. 1182–1188.
- King M.C., Wilson A.C. Evolution at two levels in humans and chimpanzees // Science. 1975. V. 188. P. 107–116.
- Kirschner M., Gerhart J. Evolvability // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 8420–8427.
- Kopp A., Duncan I., Godt D., Carroll S.B. Genetic control and evolution of sexually dimorphic characters in *Drosophila* // Nature. 2000. V. 408. P. 533–559.
- Kusserow A., Pang K., Sturm C. *et al.* Unexpected complexity of the Wnt gene family in a sea anemone // Nature. 2005. V. 433. P. 156–160.
- Lai C.S.L., Fisher S.E., Hurst J.A. *et al.* A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder // Nature. 2001. V. 413. P. 519–523.
- Livingstone F.B. The Duffy blood groups, vivax malaria, and malaria selection in human populations: A review // Hum. Biol. 1984. V. 56. P. 413–425.
- Lockton S., Gaut B.S. Plant conserved non-coding sequences and paralogue evolution // Trends Genet. 2005. V. 21. P. 60–65.
- Löhr U., Yussa M., Pick L. *Drosophila fushi tarazu*: A gene on the border of homeotic function // Curr. Biol. 2001. V. 11. P. 1403–1412.
- Lynch M., Conery J.S. The evolutionary fate and consequences of duplicate genes // Science. 2000. V. 290. P. 1151–1155.
- Lynch M., Katju V. The altered evolutionary trajectories of gene duplicates // Trends Genet. 2004. V. 20. P. 544–549.
- Mahfooz N.S., Li H., Popadic A. Differential expression patterns of the hox gene are associated with differential growth of insect hind legs // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 4877–4882.
- Majerus M.E.N., Mundy N.I. Mammalian melanism: Natural selection in black and white // Trends Genet. 2003. V. 19. P. 585–588.
- Millar S.F., Miller M.W., Stevens M.E., Barsh G.S. Expression and transgenic studies of the mouse *agouti* gene provide insight into the mechanisms by which mammalian coat color patterns are generated // Development. 1995. V. 121. P. 3223–3232.
- Ohno S. An argument for the genetic simplicity of man and other animals // J. Hum. Evol. 1972. V. 1. P. 651–662.
- Ohno S. Evolution by Gene Duplication. N.Y.: Springer-Verlag, 1970. 160 p. (Русский перевод: Оно С. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М.: Мир, 1973. 227 с.)
- Palopoli M.F., Patel N.H. Evolution of the interaction between *Hox* genes and a downstream target // Curr.

- Biol. 1998. V. 8. P. 587–590.
- Prager E.M., Wilson A.C. Slow evolutionary loss of the potential for interspecific hybridization in birds // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1975. V. 72. P. 200–204.
- Rockman M.V., Hahn M.W., Soranzo N. *et al.* Positive selection on a human-specific transcription factor binding site regulating IL4 expression // Curr. Biol. 2003. V. 13. P. 2118–2123.
- Rockman M.V., Hahn M.W., Soranzo N. *et al.* Positive selection on MMP3 regulation has shaped heart disease risk // Curr. Biol. 2004. V. 14. P. 1531–1539.
- Ronshaugen M., McGinnis N., McGinnis W. Hox protein mutation and macroevolution of the insect body plan // Nature. 2002. V. 415. P. 914–917.
- Shapiro M.D., Marks M.E., Peichel C.L. *et al.* Genetic and developmental basis of evolutionary pelvic reduction in threespine sticklebacks // Nature. 2004. V. 428. P. 717–723.
- Shiga Y., Yasumoto R., Yamagata H., Hayashi S. Evolving role of Antennapedia protein in arthropod limb patterning // Development. 2002. V. 129. P. 3555–3561.
- Shu W., Yang H., Zhang L. *et al.* Characterization of a new subfamily of winged-helix/forkedhead (*Fox*) genes that are expressed in the lung and act as transcriptional repressors // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. P. 27488–27497.
- Stauber M., Prell A., Schmidt-Ott U. A single *Hox3* gene with composite *bicoid* and *zerknüllt* expression characteristics in non-Cyclorrhaphan flies // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 274–279.
- Stedman H.H., Kozyak B.W., Nelson A. *et al.* Myosin gene mutation correlates with anatomical changes in the human lineage // Nature. 2004. V. 428. P. 415–418.
- Stern D.L. A role of Ultrabithorax in morphological differences between *Drosophila* species // Nature. 1998. V. 396. P. 463–466.
- Stern D.L. Perspective: Evolutionary developmental biology and the problem of variation // Evolution. 2000. V. 54. P. 1079–1091.
- Sucena E., Delon I., Jones I. *et al.* Regulatory evolution of shavenbaby/ovo underlies multiple cases of morphological parallelism // Nature. 2003. V. 424. P. 935–938.
- Sucena E., Stern D.L. Divergence of larval morphology between *Drosophila sechelia* and its sibling species caused by cis-regulatory evolution of ovo/shavenbaby // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 4530–4534.
- Taylor J.S., Raes J. Duplication and divergence: The evolution of new genes and old ideas // Annu. Rev. Genet. 2004. V. 38. P. 615–643.
- Telford M.J., Thomas R. Of mites and zen: Expression studies in a chelicerate arthropod confirm zen is a divergent *Hox* gene // Dev. Genes Evol. 1998. V. 208. P. 591–594.
- Tournamille C., Colin Y., Cartron J.P., Le Van Kim C. Disruption of a GATA motif in the Duffy gene promoter abolishes erythroid gene expression in Duffy-negative individuals // Nat. Genet. 1995. V. 10. P. 224–228.
- Vargha-Khadem F., Gadian D.G., Copp A., Mishkin M. FOXP2 and the neuroanatomy of speech and language // Nat. Rev. Neurosci. 2005. V. 6. P. 131–138.
- Wang R.L., Stec A., Hey J. *et al.* The limits of selection during maize domestication // Nature. 1999. V. 398. P. 236–239.
- Warren R., Nagy L., Selegue J. *et al.* Evolution of homeotic gene regulation and function in flies and butterflies // Nature. 1994. 372. P. 458–461.
- Waterston R.H., Lindblad-Toh K., Birney E. *et al.* Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome // Nature. 2002. V. 420. P. 560–562.
- Webb D.M., Zhang J. FoxP2 in song-learning birds and vocal-learning mammals // J. Hered. 2005. V. 96. P. 1–5.
- Wilson A.C., Maxson L.R., Sarich V.M. Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1974a. V. 71. P. 2843–2847.
- Wilson A.C., Sarich V.M., Maxson L.R. The importance of gene rearrangement in evolution // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1974b. V. 71. P. 3028–3030.
- Wittkopp P.J., Kopp A., Carroll S.B. Evolution in black and white: Genetic control of pigment patterns in *Drosophila* // Trends Genet. 2003. V. 19. P. 495–504.
- Wittkopp P.J., Vaccaro K., Carroll S.B. Evolution of yellow gene regulation and pigmentation in *Drosophila* // Curr. Biol. 2002. V. 12. P. 1547–1556.
- Yokoyama S. Molecular evolution of color vision in vertebrates // Gene. 2002. V. 300. P. 69–78.
- Yoon H.S., Baum D.A. Transgenic study of parallelism in plant morphological evolution // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2004. 101. V. 6524–6529.
- Zhang J., Zhang Y.P., Rosenberg H.F. Adaptive evolution of a duplicated pancreatic ribonuclease gene in a leaf-eating monkey // Nat. Genet. 2002. V. 30. P. 411–415.
- Zuckerkindl E. Controller-gene diseases: The operon model as applied to beta-thalassemia, familial fetal hemoglobinemia and the normal switch from the production of fetal hemoglobin to that of adult hemoglobin // J. Mol. Biol. 1964. V. 8. P. 128–147.
- Zuckerkindl E., Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins // Evolving Genes and Proteins / Eds V. Bryson, H.J. Vogel. N.Y.: Academic Press, 1965. P. 97–166.