

Феноменология эволюции генных сетей онтогенеза многоклеточных организмов

Введение: “парадокс самообращения” фон Неймана	2
Эволюционное нарастание сложности генных сетей онтогенеза многоклеточных эукариот.....	2
I. Каскадное нарастание морфологической сложности многоклеточных эукариот в ходе эволюции	2
II. Генно-сетевые основы морфофизиологического прогресса	3
II. Гомеобокс-гены и морфофизиологический прогресс	4
1. Эволюция онтогенеза животных.....	4
1. Эволюция онтогенеза растений	5
II. Разнонаправленность путей морфофизиологического прогресса на уровне эволюции генных сетей.....	5
Эволюционные следствия нарастание морфологической сложности многоклеточных эукариот в ходе эволюции.....	6
Системная концепция эволюции	7
Заключение.	8
Приложения	9

Введение: “парадокс самообращения” фон Неймана

Титов Игорь Иванович вам отдельно читает курс лекций "Эволюция сложных систем" в котором большая часть времени отведена математическому обоснованию некоторых особенностей эволюции биологических систем. В курсе "Теория эволюции" Павла Михайловича Бородина, аспект делается на морфофизиологические особенности эволюции. Единого курса в котором дается информация об особенностях эволюции генных сетей, лежащих в основе как жизнедеятельности, так и эволюционных возможностей организмов нет. Часть информации можно почерпнуть из курсов “Генные сети” и “Математическое моделирование молекулярно-генетических систем” прочитанных в прошлом году, часть информации дается в читаемом сейчас курсе. Информация о эволюции генных сетей детерминирующих онтогенеза до сегодняшнего дня не фигурировала в курсах КИБ. Сегодня, как вы уже догадались, будет прочитана лекция о трендах эволюции генных сетей детерминирующих онтогенеза.

Прежде чем приступить изучению предмета лекции, хотелось бы обосновать необходимость постановки задачи изучения эволюции генных сетей развития в терминах формальной логики. Для того чтобы воспроизвести себя система должна знать о собственном устройстве, но для того чтобы это узнать система должна себя воспроизвести. Решение парадокса самообращения предложенное самим фон Нейманом гласит, что автомат E (самовоспроизводящаяся система) должна состоять как минимум из 3 автоматов: автомат A, считывающий информацию; автомат B, копирующий информацию; автомат C, определяющий порядок работы автоматов A и B (слайд 1). Следовательно уже само по себе решение парадокса накладывает на систему структурно-информационное ограничение - в структуре не должно содержаться информации о том как она устроена. Однако, решение парадокса далеко не идеально - в любой реальной ситуации важно то что, кроме того, что живая система существует в некой среде, эта система эволюционирует при изменении условий внешней среды. В тоже время если автоматы A, B, и C взаимозависимы в реализации самих себя то изменение любого из этих автоматов влечет к гибели системы!

На следующем слайде показан рост потенциального разнообразия различных графов при увеличении в них количества генетических элементов (под генетическим элементом понимается ген, мРНК и белок, учитывается разнообразие воспроизведенных с гена различных мРНК и белков). Рост потенциального разнообразия различных графов гипотетических генных сетей может объяснить феноменологию эволюции генных онтогенеза сетей многоклеточных организмов – об этом поведает вам в следующей лекции Виталий Александрович Лихошвай.

Эволюционное нарастание сложности генных сетей онтогенеза многоклеточных эукариот.

1. Каскадное нарастание морфологической сложности многоклеточных эукариот в ходе эволюции

В ходе эволюции многоклеточных организмов наблюдается каскадное нарастание морфологической сложности. Все особенности (морфологические, физиологические) структур многоклеточного организма определяются набором специфических типов клеток, их количеством, активностью. В тоже время, чем больше различных групп функции закодированных в геноме, тем выше вероятность специализации клетки или

группы клеток в многоклеточном организме на выполнении определенной функции¹ (слайд 3). Однако чем больше различных типов клеток, тем сложнее регуляция жизнедеятельности организма. Единственное ограничение на рост сложности регуляции организма в данном случае может накладываться только внешней средой, а именно рациональностью морфологического и физиологического устройства в конкретных условиях среды.

С другой стороны (слайд 4) морфология, физиология, биохимия, генетика многоклеточного организма обязательно ограничивает (канализирует) диапазон мутационных изменений, не разрушающих функциональной целостности организма, т.е. совместимых с жизнедеятельностью (эпигенетический ландшафт Уаддингтона). Важно, что в конкретных условиях среды конечные стадии развития (на эпигенетическом ландшафте обозначенные как долины, разделенные низкими хребтами) организма канализированы, если продукт развития адаптивен и наоборот – дестабилизированы, если продукт развития не адаптивен. Процессам стабилизации-дестабилизации без ущерба для жизнедеятельности организма могут быть подвержены лишь конечные стадии. Почему? Чем больше взаимосвязей в развитии отдельной морфологической структуры с иными структурами в процессе развития, тем меньше вероятность фиксации мутации затрагивающей развитие этой структуры (слайд 5).

II. Генно-сетевые основы морфофизиологического прогресса

Итак, морфологическая сложность многоклеточных эукариот в ходе эволюции нарастает. Каким образом происходит усложнение генных сетей обуславливающих этот рост морфологической сложности. Все достаточно просто. Характеристиками роста сложности генных сетей, связанными с морфофизиологическим прогрессом являются рост (слайд 6): 1) количества элементов системы и количества связей между ними; 2) количества элементов и связей, работающих в единицу времени и/или в единице объема; 3) разнообразия режимов поведения.

Однако что же принципиально новое появляется в процессе нарастания морфологической сложности многоклеточных. Несомненно, это появление огромного количества уровней иерархии функционирования генных сетей. Генные сети-интеграторы, руководящие работой других генных сетей, доселе единичные, уникальные, у одноклеточных организмов становятся обычным явлением у многоклеточных (слайд 7). Более того, максимальный уровень иерархии генных сетей-интеграторов неуклонно растет с ростом морфологической сложности многоклеточных (сравните, например, безусловные инстинкты насекомых и условные инстинкты млекопитающих).

Интересно то, что количество генов с ростом морфологической сложности практически не растет. Чем можно объяснить данное обстоятельство? Дело в том, что абсолютно не обязательно организму иметь вагон генов – вполне достаточно и малой группы, если каждый ген из этой группы работает в огромном разнообразии процессов (слайд 8), производя несколько различных вариантов белков (за счет, например, альтернативного сплайсинга, РНК-редактирования и т.д.). Какие изменения происходят в структуре генных сетей онтогенеза? Во-первых, уже на уровне рецепторов и лигандов наблюдается рост количества вариантов запуска определенных путей передачи сигналов за счет простой комбинаторики рецепторов и лигандов (слайд 9). Во-вторых, увеличивается сложность самих каскадов передачи сигналов за счет увеличения в них количества участвующих элементов (слайд 10). В-третьих, наблюдается мощное усложнение регуляции на уровне

¹ мегагеном – совокупность геномов всех типов клеток организма, геном одного конкретного типа клеток в многоклеточном организме, как правило, содержит генетические и эпигенетические изменения, тем самым, отличаясь от генома генеративной сомы

транскрипции генов (слайд 11). И наконец в-четвертых становится распространенным кассетное регулирование экспрессии генов (слайд 12).

II. Гомеобокс-гены и морфофизиологический прогресс

1. Эволюция онтогенеза животных

Генные сети онтогенеза – являются генными сетями- интеграторами. Интересно, что генные сети как ранних, так и поздних этапов развития многоклеточных животных широко варьируют по составу генов, а гены этих генных сетей были заимствованы из каких-то других генных сетей. Эволюционная лабильность генных сетей ранних стадий эмбриогенеза филогенетически далеких билатерий диктуется различиями механизмов оогенеза и условий существования яйца во внешней или внутренней (для живородящих таксонов) среде. Лабильность же генных сетей поздних этапов развития продиктована различными условиями обитания организмов. Однако на стадии морфофункциональной спецификации сегментов тела работает всего лишь универсального аппарата спецификации сегментов - Нох-гены (слайд 13). Таким образом, Нох-гены являются узким местом молекулярной машины онтогенеза. В чем причина такой консервативности?

Гомеобокс-содержащие гены кодируют транскрипционные факторы. Они, как правило, имеют высокую степень как структурной так и функциональной гомологии у организмов, принадлежащих к определенному таксономическому классу. Наиболее популярны исследования НОМ/Нох-генов - группы гомеобокс-содержащих генов, продукты которых участвуют в морфофункциональной спецификации сегментов тела. Причина этого в том, что, как правило, домены активности определенных Нох-генов в эмбрионе и, даже иногда, время активации их экспрессии (например, у позвоночных) коррелирует с порядком их расположения в кластере. Еще один немаловажный фактор - это наличие Нох-кластера у всех билатеральных организмов.

Исследование филогении группы типов билатеральных животных с помощью 18S рибосомной РНК свидетельствуют о 3 больших эволюционных ветвях - вторичноротые, первичноротые экдизои (Ecdyzoa) и первичноротые лофотрохозои (Lophotrochozoa). Достоверность этой классификацию подтверждают результаты исследований строения Нох-кластера (слайд 14). Как выяснилось Нох-гены не всегда располагаются в один кластер. Например, исследования организации Нох-кластера у дрозофил выявили как минимум 3 разделения единого кластера на 2 части. Количество полных Нох-кластеров может варьировать также как и количество частей одного Нох-кластера. Например, в течение эволюции хордовых вследствие, по крайней мере, двух раундов частичной или полной дупликации генома образовалось 4 Нох-кластера тетрапод, у некоторых рыб (*Danio rerio* имеет 7 Нох-кластеров) помимо этого, произошла еще одна дупликация Нох-кластера. Дупликация может затрагивать как целый так Нох-кластер так и отдельных генов входящих в него. Яркий пример этому - факт того, что ген *bcd* наряду с *z2* появился совсем недавно у высших двукрылых в результате дупликации Нох3. И все-таки, не смотря на различия в строении Нох-кластера, показано, что по количеству Нох-генов в кластере предки билатеральных животных должны были характеризоваться таким же сложным геномом, как и у их современных сородичей, исключая, быть может, только позвоночных.

Контроль эмбриогенеза первыми Нох-генами, вероятно, явился эволюционным приобретением широкого профиля так как создал предпосылки для комбинаторного усложнения генетических программ морфогенеза билатерий как засчет дупликаций Нох-генов, так и засчет усложнения функций контролируемых ими генных сетей. Формирование генной сети эмбриогенеза, характерного для современных животных,

вероятно, шло постепенно на протяжении ~ 100 млн. лет в ходе докембрийской эволюции Eumetazoa и включало следующие ароморфозы (слайд 15): 1) возникновение генной сети клеточной дифференцировки, 2) возникновение генной сети эмбриогенеза с детерминацией бластомеров сразу после оплодотворения (тип 1 эмбриогенеза, характерный для личинок примитивных первично- и вторичноротых), 3) интеграцию генных сетей пролиферации и дифференцировки, и, как следствие, появление клеток, способных к дифференциации в ткани и органы после завершения примитивного эмбриогенеза и, наконец, 4) появление генных сетей-интеграторов морфогенеза - единого молекулярного механизма специализации таких клеток (например, Нох-гены).

Почему так важно появление современного типа эмбриогенеза? В эмбриональном развитии примитивных животных (тип 1 эмбриогенеза) процессы индукции предшествуют процессам морфогенеза (морфостатический процесс). Дело в том, что изменение параметров роста ткани при морфостатическом процессе практически не влияет на процессы индукции и формирования паттернов морфогенов. Напротив, при наличии морфодинамических процессов развития образованных сложно переплетающейся сетью процессов эмбриональной индукции и дифференцировки даже малые изменения параметров роста могут приводить к индукции роста новых территорий и полному изменению паттернов морфогенов (гиперманифестации признаков) (слайд 16). Следовательно, морфодинамические процессы развития, наблюдающиеся в современном эмбриогенезе, эволюционно способны к генерации значительно большего разнообразия форм (слайд 16, 17).

1. Эволюция онтогенеза растений

В ходе эволюции высших растений также наблюдается качественный скачок от морфостатических преобразований к морфодинамическим. Более того, также как и у животных, скачок в механизмах развития коррелирует с появлением и дупликацией специфической группы генов кодирующих транскрипционные факторы – MADS-генов. В эволюционной предыстории цветковых растений можно выделить минимум 3 этапа, связанных с формированием принципиально новых механизмов развития (слайд 18): 1) генной сети клеточной дифференцировки и связанной с ней генной сети меристемы, 2) генных сетей развития многоклеточного спорофита и генных сетей эмбриогенеза, и, наконец, 3) генных сетей развития стробила и цветка. Также как и у животных у цветковых растений морфодинамические процессы развития являются важнейшим механизмом генерации морфологической изменчивости, что показано на слайде (слайд 19).

II. Разнонаправленность путей морфофизиологического прогресса на уровне эволюции генных сетей

Однонаправленной эволюции нет и не должно быть. В некоторых случаях в ходе эволюции многоклеточных организмов можно наблюдать каскадное нарастание сложности генных сетей, в других же случаях сложность генных сетей подвергается редукции. На следующих 3-х слайдах вы можете отметить это обстоятельство. Например, необходимо различать как минимум 2 различные функции Нох-генов – морфофункциональную спецификацию целых сегментов тела и локальную дифференцировку отдельных клеток, тканей и органов внутри сегмента. В ходе эволюции отношение двух основных функций Нох-генов изменялось. Яркими примерами утери роли морфофункциональной спецификации сегментов тела Нох-генами являются *ftz* и *Nox3* у насекомых и эволюция Нох-генов нематод (в связи с жестким механизмом

установления судьбы каждой клетки в организме нематод). Паттерны экспрессии Нох-генов являются маркерами их функциональной специализации. Наиболее показателен факт сокращения ширины распространения паттернов экспрессии генов *lab*, *pb*, *Dfd* и *Scr* в головных сегментах тела от паукообразных к ракообразным и насекомым коррелирующий с образованием специфических тагм (слайд 20). Таким образом, в ходе эволюции, вероятно, общая генная сеть морфогенеза сегментов с большим количеством различных путей достижения единого результата должна была распасться на множество подсетей ответственных за формирование отдельных, специфических сегментов и их групп и, таким образом дать толчок мозаичной эволюции различных сегментов и органов организма. Еще одним удивительным примером редукционной эволюции является регрессивная эволюция крыльев *Diptera* (слайд 21). Известны мутанты *Drosophila melanogaster*, жилкование крыла которых сходно с жилкованием древних насекомых, то есть, вероятно, генная сеть предкового жилкования сохраняется. Следовательно, жилкообразование у насекомых, имеющих в норме меньшее количество жилок в отличие от древних насекомых должно было ингибироваться в определенных местах крыла, а некоторые границы паттернов морфогенов на которых проходило жилкообразование должны были быть слиты.

Гораздо интереснее случай появления крылатых и бескрылых рас у муравьев (слайд 22). Воспроизводство крылатых особей показывает, что генная сеть крыла сохраняется, но не функционирует у бескрылых рас. В разных филумах муравьев прерывание работы генной сети формирования крыла возникло независимо и происходит на разных этапах развития. Замечательно, что муравьи “научились” в ходе эволюции управлять своей генной сетью, регулируя соотношение крылатых и бескрылых форм в зависимости от ситуации в муравейнике (подобная регуляция онтогенеза блестящий пример генной сети-интегратора высокого иерархического уровня).

Эволюционные следствия нарастание морфологической сложности многоклеточных эукариот в ходе эволюции.

Позволю вам напомнить, что существуют следующие эволюционные стратегии выживания популяций в изменяющихся условиях среды в зависимости от уровня организации (слайд 23): 1) стратегия пассивного ожидания (примитивные одноклеточные организмы, огромный объем популяции, высокая скорость мутирования, малый размер генома); 2) стратегия активного реагирования (высшие многоклеточные организмы, малый объем популяции, повышение темпов изменчивости при неблагоприятных условиях) связанная с 3) автономизацией жизнедеятельности организма от повреждающих источников окружающей среды (возникновение механизмов гомеостаза в ходе стабилизирующего отбора).

Рост морфологической сложности многоклеточных организмов привел к появлению эмбриогенеза - сжатого во времени этапа онтогенеза, отмеченного резкими изменениями в организации тела – от одной клетки (зиготы) до тела личинки или взрослой особи (слайд 24). Однако другой стороной медали эмбриогенеза явилось уменьшение репродуктивного потенциала популяции, компенсирующееся автономизацией репродукции и жизнедеятельности организмов от повреждающего влияния внешней среды.

Автономизация базируется на увеличении количества и роли отрицательных обратных связей в процессе жизнедеятельности организма. Однако при функционировании отрицательных обратных связей любое отклонение от нормы компенсируется путем изменения скорости биосинтеза белка и или распада какого-либо из компонентов генной сети. Следовательно, отрицательные обратные связи минимизируют фенотипическое проявление мутаций, обнейтраливают их, выводя из-под действия отбора (слайд 25). Стабилизирующий отбор благоприятствует в популяции особям с отрицательными

обратными связями, что ведет к росту иерархии регуляторных систем. При этом на нижних уровнях иерархии накапливаются мутации, эволюционирующие в нейтральном режиме. Однако при движущем или дизруптивном отборе, происходит ослабление или полное разрушение отрицательных обратных связей иерархически высокого уровня, что обеспечивает вскрытие (гиперманифестацию) ранее замаскированной фенотипической изменчивости (слайд 26). Получается так, что система начинает эволюционировать попеременно накапливая или разрушая спектр отрицательных обратных связей высокого иерархического уровня (находящихся в генных сетях-интеграторах). Это в свою очередь ускоряет эволюционные преобразования генных сетей-интеграторов которыми являются генные сети онтогенеза. По-видимому, именно это очень важное обстоятельство позволило появиться нашим предкам в далеком докембрии.

Можно пофантазировать что же могло тогда произойти (слайд 27). “Кембрийский взрыв” билатерий можно объяснить следующим образом. Разбалансировка вендской биоты могла быть инициирована потеплением климата и появлением эффективных организмов-фильтраторов, а также хищников (почему эти организмы появились именно тогда правдоподобных объяснений нет). Потепление вызвало таяние ледников, освободивших шельф. На шельфе развились теплые моря. Появление в них эффективных фильтраторов, с одной стороны, очистило океан от взвеси, расширило зону активного фотосинтеза океана и сформировало детрит современного типа, что способствовало росту продуктивности экосистем. С другой стороны, фильтраторы и хищники кардинально изменили структуру пищевых потоков в море. В итоге начался кризис вендской биоты и резкое снижение биоразнообразия. В результате на границе венда и кембрия, возможно, наблюдалось снижение как абиотического (потепление), так и биотического (вымирание вендобиионтов) пресса отбора при наличии незанятого пространства (эпиконтинентальные моря) и ресурсов (планктон, водоросли, органика в пеллетах и др.). В этих условиях стабилизирующий отбор должен сменяться движущим, создалась идеальная ситуация для гиперманифестации изменчивости, накопленной организмами. При этом сложность генных сетей эмбриогенеза современного типа должны были способствовать генерации новых морфотипов, которые эволюционировали в нейтральных условиях.

Примечательно, что прослеживается некоторая аналогия в появлении предков современных многоклеточных животных и появлении млекопитающих (слайд 28).

Системная концепция эволюции

Постепенно начинает заниматься заря и яркий диск солнца переливаясь всеми невозможными оттенками начинает свое восхождение из-за горизонта. Да, здесь именно необходимо такое, поэтическое сравнение! Эволюция высших многоклеточных организмов – это преобразование организации живых систем целиком, а не отдельных генов или признаков. Взаимосвязанность компонентов в сложноорганизованной системе приводит к необходимости скоординированных преобразований различных подсистем организма (морфофункциональные переадаптации). Более того, темпы эволюционных преобразований интегрированных систем становятся гораздо выше за счет комбинирования различных вариантов отдельных функций и/или компонентов (комплексные преобразования) (слайд 29). Комплексные преобразования большей частью диктуются динамическими системными мутациями в результате которых появление новой регуляторной связи может приводить к качественному усложнению динамики генной сети (слайд 30). Разве этого не достаточно для того чтобы сам механизм эволюции многоклеточных претерпел коренные преобразования в сравнении с “эволюцией генов и метаболических путей” одноклеточных?

На современном этапе эволюции именно генные сети морфогенеза и дифференцировки 1) обеспечивают возникновение различных типов клеток и тканей и, таким образом,

разнообразие состояний клеток многоклеточного организма (концепция мегагенома), тем самым, приводя к; 2) необходимому разнообразию генных сетей контролирующих иные физиологические процессы, функционирование которых разнесено во времени и пространстве (слайд 31). Неудивительно, что корреляция между количеством генов в гаплоидном геноме и сложностью закодированных в нем программ функционирования организма у многоклеточных организмов исчезает.

Как эволюционирует сложный многоклеточный организм? На этот вопрос попытался ответить академик Воронцов некоторое время работавший в ИЦиГ. В природе нет: двух видов приспособленных к одинаковым условиям среды с одинаковым комплексом специализаций органов системы, а также двух видов с одинаковым уровнем специализации разных органов. Органы (функции) одного организма находятся на совершенно различных уровнях специализации. Адаптивные ряды построенные на основании изучения одного органа (функции) не соответствуют рядам построенным на основании иного органа. Более того, разный уровень специализации компонентов системы имеет универсальный характер в эволюции (слайд 32). Следовательно, специализация одних органов (функций) в связи с новыми требованиями среды компенсирует длительное отставание темпов эволюции других органов (функций). Неравномерность темпов эволюционного преобразования признаков одной системы и компенсация функций обеспечивает: 1) быструю и экономичную приспособляемость; 2) пути для деспециализации вида (слайд 33).

Интересно проверить эти предположения теоретическими расчетами. Именно такая возможность вскоре появится в Лаборатории теоретической генетики. Сергеем Александровичем Лашиным разрабатывается так называемый эволюционный конструктор позволяющий моделировать эволюцию сложных генных сетей.

Заключение.

- Так как фенотипические признаки организмов кодируются их геномами, ожидалось, что в разных таксонах геномы сильно различаются по числу генов. Но расшифровка геномов выявила, что у эукариот отсутствует связь между биологической сложностью, размерами геномов и числом генов. Глобальный тренд усложнения биологической организации связан с качественным усложнением механизмов регуляции экспрессии генов, важнейшую роль в которых играет появление генных сетей-интеграторов высокого иерархического уровня (слайд 35).
- Трудности изучения биологической сложности обусловлены тем, что классические определения сложности слишком формальны (слайд 36). По Колмогорову сложность генетического текста есть оценка наименьшего числа генерирующих его операций (дупликаций, делеций, замен символов). По Кауфману сложность определяется количеством конфликтующих параметров системы (например, конкурирующих транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию гена). Истина же лежит где-то посередине.

Приложения

Приложение 1 – статьи “Генетические механизмы морфологической эволюции, часть 1 и часть 2”.

Приложение 2 – статья “Молекулярная эволюция генетических систем”.

Приложение 3 – статья “The evolution of signalling pathways in animal development”.

Приложение 4 – статья “Mechanisms of pattern formation in development and evolution”.

Приложение 5 – статьи “Early animal evolution: emerging views from comparative biology and geology; The last common bilaterian ancestor; Antiquity and evolution of the MADS-box gene family controlling flower development in plants”.