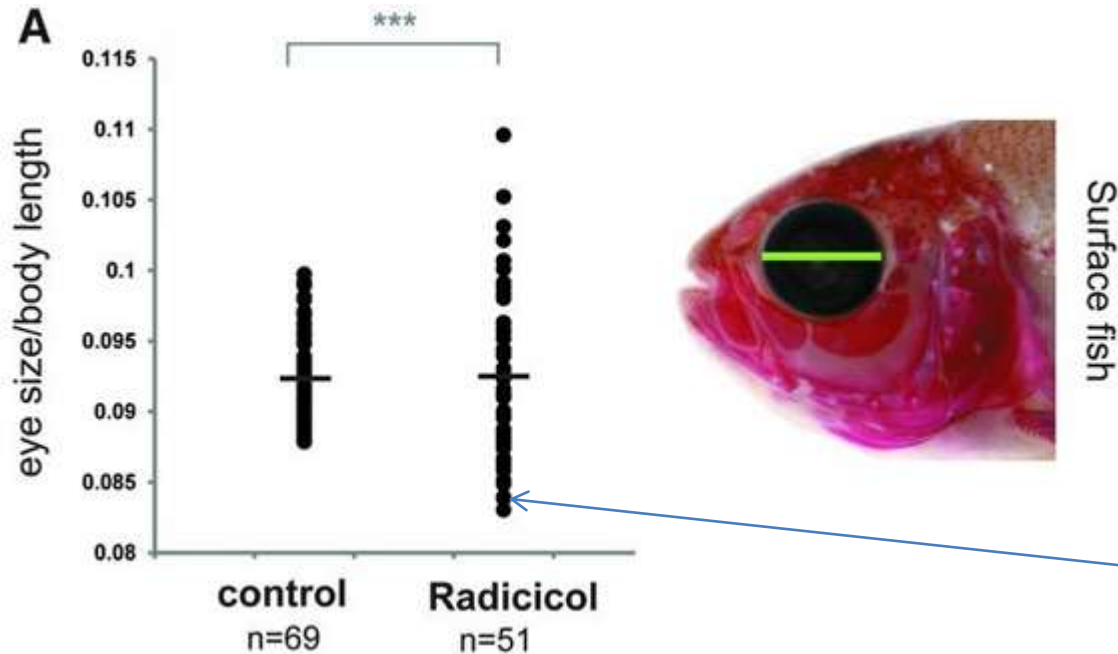


Теория эволюции
(введение в эволюционную
биологию)
Лекция №4

Глаза пещерных рыб

Мексиканская тетра (*Astyanax mexicanus*). Есть зрячие формы (живут в ручьях) и слепые (в пещерах). Слепые имеют в пещерных условиях повышенную выживаемость по сравнению со зрячими.



потомство таких рыб имеет уменьшенные глаза даже без радицикола

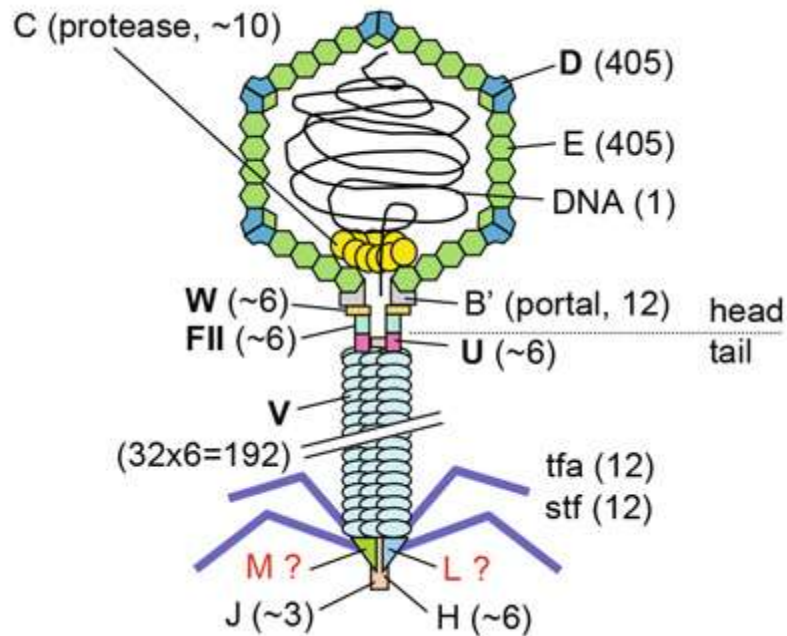
Радицикол (ингибитор Hsp90). Воздействие на эмбрион ведет к проявлению скрытой наследственной изменчивости. В данном случае это не столько «шум» и «дестабилизация онтогенеза», сколько проявление скрытой генетической вариабельности (не проявляющейся в фенотипе при работающем Hsp90).

Пересадка в пещерную воду вызывает у поверхностных рыб нарушение экспрессии Hsp90.

Rohner et al., 2013. Cryptic Variation in Morphological Evolution: HSP90 as a Capacitor for Loss of Eyes in Cavefish // *Science*. V. 342. P. 1372.

Еще один пример появления новой функции через промежуточный этап дестабилизации

- Адаптация жертвы (пониж. экспрессия LamB)
- Отбор поддерживает у вирусов такие мутации J, кот. усиливают связывание с LamB.
- Побочн. эффект – дестабилизация J.
- После закрепления 4 мутаций, каждая из кот. усиливала связывание с LamB, J приобрел альтернативный вар-т сворачивания, кот. позволяет связываться с др. рецептором – OmpF, в то время как др. обладатели того же генотипа связывались с LamB. Генерализация на уровне популяции (не индивида).
- Вирусы генералисты м. снова специализироваться, если будет доступ к жертвам, имеющим только LamB или только OmpF. При специализации закрепляются мутации, повыш. вер. того, что белок свернется выгодным в данной ситуации образом.
- В итоге J снова стабилизируется.



Фаг лямбда. Подписаны белки; в скобках - число молекул в вирусной частице. За связывание с рецептором — поверхностным белком LamB *E. coli* — отвечает белок J на конце ножки

K.L. Petrie et al., 2018. Destabilizing mutations encode nongenetic variation that drives evolutionary innovation // *Science*.

Мы обсуждали два сценария возникновения эволюционных новшеств

Простейший классический (начинается с изменения генотипа)

- мутация
- изменение фенотипа
- если полезно, частота встречаемости нового аллеля растет (отбор поддерживает)
- новая норма

«эпигенетический» (начинается с изменения фенотипа)

- «приобретенный признак» (морфоз, рез-т упражнения, выученное поведение...)
- если полезно, отбор поддерживает мутации, повышающие вероятность приобретения данного признака
- генетическая ассимиляция (признак «записывается в геном»)

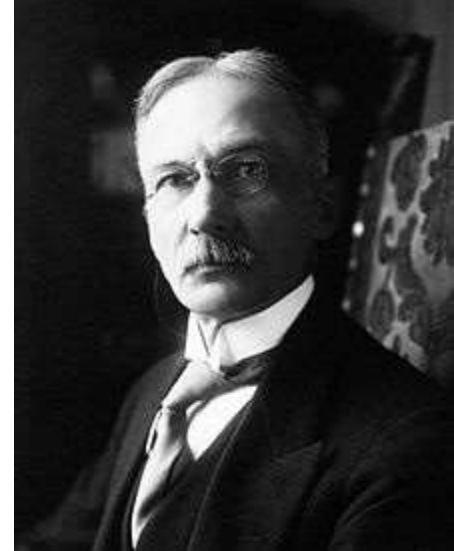
Эффект Болдуина: «приобретенные признаки» направляют эволюцию



James Mark Baldwin
1861-1934
Амер. философ и
психолог

- Если ненаследственное изменение (напр., изм. поведения в рез-те обучения) оказывается полезным, то больше потомства будут оставлять особи с лучшей наследственной предрасположенностью к такому изменению (способные быстрее и лучше научиться такому поведению).
- Пример с новым хищником и залезанием на дерево. Могут выработаться: а) врожденное умение (инстинкт): навык «записывается» в геном, б) морфологические адаптации, облегчающие данное поведение.
- Пример с молоком и толерантностью к лактозе. Обратная связь.

Эффект Болдуина



James Mark Baldwin
1861-1934
Амер. философ и
психолог

- Эффект Болдуина поверхностно схож с «наследованием результатов упражнения органов» (ламаркизм), но это не «ламарковский» механизм. Он действует через изменение направленности отбора, через отбор случайных наследственных отклонений, т.е. «по Дарвину», а не «по Ламарку».
- Происходит не прямое наследование признака, приобретенного в течение жизни, а **отбор на способность быстрее (или с большей вероятностью) его приобретать**. А также отбор на выработку дополнительных адаптаций, повышающих приспособленность при наличии данного признака.



Микробы, живущие в кишечнике японцев, производят особые ферменты для расщепления порфирана. Этот углевод содержится в красных водорослях, которые в Японии издавна составляют важную часть рациона. Гены ферментов-порфираназ были заимствованы японскими кишечными микробами у морских бактерий путем ГПГ. Бактерии из кишечника американцев таких генов не имеют.

(Hehemann J.-H., Correc G., Barbeyron T., Helbert W., Czjzek M., Michel G. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota // Nature. 2010. V. 464. P. 908–912.)

Эффект Болдуина может быть важен для понимания эволюции. Напр., из него следует, что по мере роста способности к обучению эволюция будет выглядеть всё более «целенаправленной» и «осмысленной».

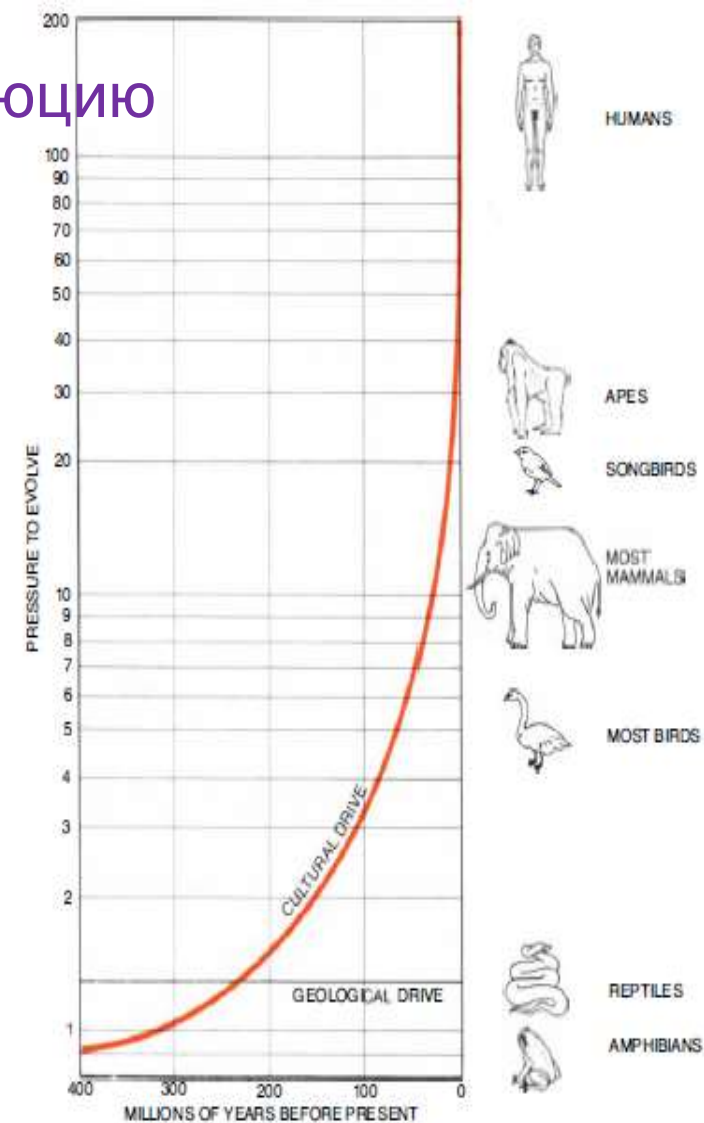
И будет идти быстрее (“cultural drive”)

Cultural drive: культура ускоряет эволюцию

(Allan Wilson, 1985. The Molecular Basis of Evolution)

Рост мозга и когнитивных способностей → чаще изобретается новое полезное поведение → ускоряется эволюция.

Появление нового поведения, передаваемого путем имитации («культурной традиции»), меняет направленность отбора и способствует «подгонке» организма под новое поведение (эффект Болдуина). Чем чаще появляются новые культурные адаптации, тем быстрее биологическая эволюция.



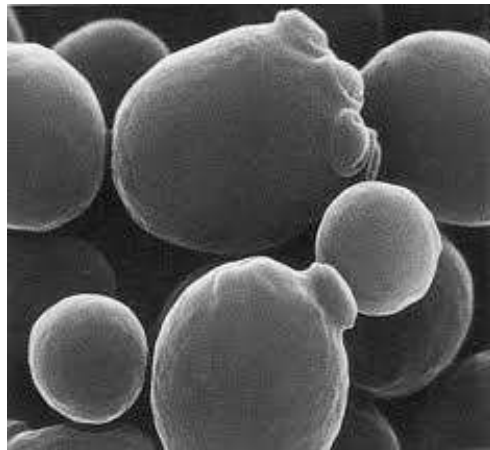
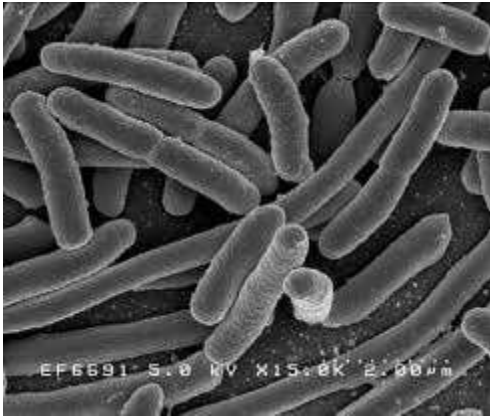
INCREASE IN BRAIN SIZE with respect to body size supports the theory that high selection pressure for mammals comes from the brain. A dramatic rise in the pressure to evolve at the organismal level is postulated to have occurred in the lineages leading from early amphibians to present-day species of birds and mammals. The vertical axis represents a measure of pressure to evolve. The curve for cultural drive was determined by dividing the mass of a species' brain (in grams) by the total mass of its body (in kilograms) raised to the two-thirds power. The level of the line plotting geologic drive is based on the assumption that pressure coming from geologic change has not undergone a net increase in the past 400 million years. Because humans, apes and songbirds have relatively large brains, they are under higher pressure to evolve than most mammals, birds, reptiles and amphibians.

Экспериментальное изучение ЭВОЛЮЦИИ





Такие объекты не годятся для эволюционных экспериментов



А такие – годятся

(правда, типичные, т.е. изнурительно медленные изменения напрямую изучать все равно невозможно)

Одомашнивание животных и растений – великий эволюционный эксперимент человечества





Камеры для выращивания грибов в гнезде термитов *Macrotermes*.

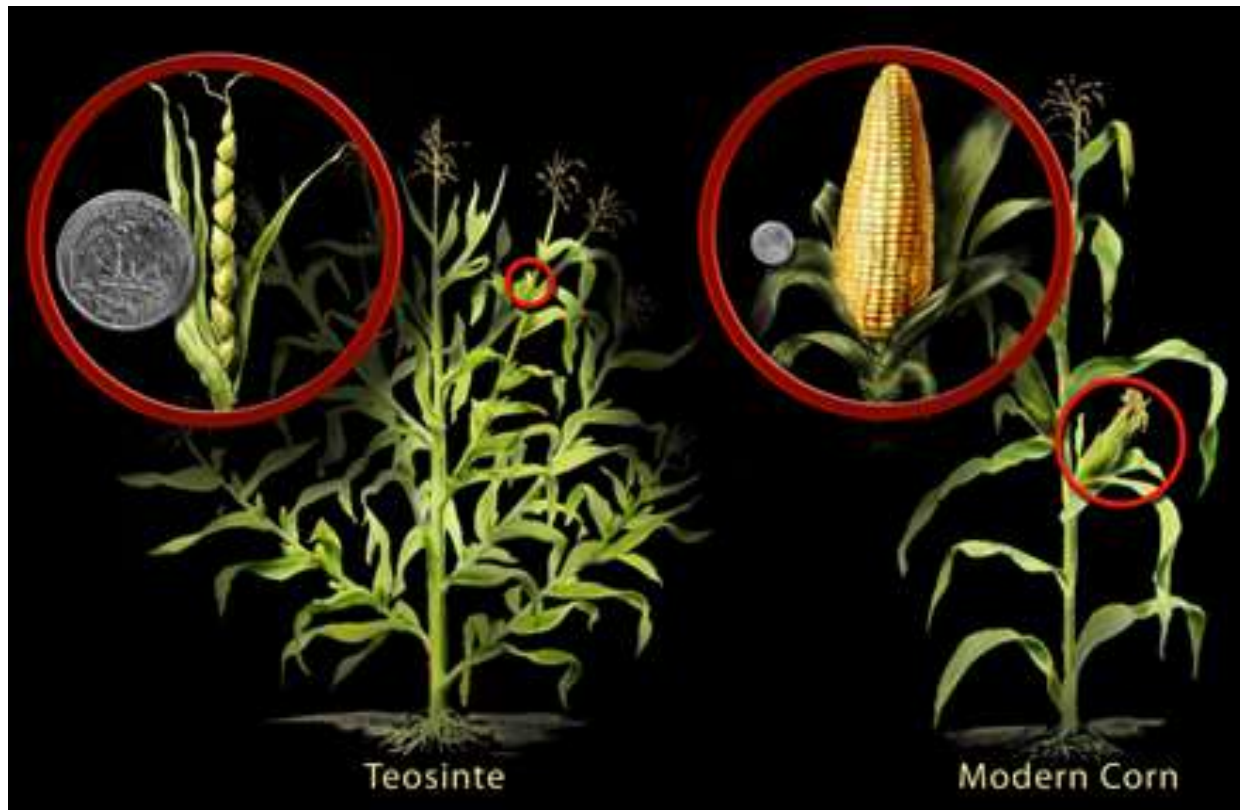
Термитам понадобилось 30 млн лет, чтобы вывести новый род грибов!

Aanen et al., 2009. High Symbiont Relatedness Stabilizes Mutualistic Cooperation in Fungus-Growing Termites.

Сельское хозяйство у насекомых



Термит-грибовод *Macrotermes* и его урожай — плодовые тела грибов *Termitomyces*.



Кукуруза и ее дикий предок теосинте традиционно относились ботаниками не только к разным видам, но и к разным родам (*Zea* и *Euchlaena*)

http://nrm101-summer2010.community.uaf.edu/files/2010/07/corn-and-teosinte_h1.jpg

Опыты Д.К.Беляева по одомашниванию лисиц

Отбирались щенки, наиболее дружелюбные (неагрессивные) по отношению к человеку

ИЗГНАНИЕ ЗВЕРЯ

За 50 лет животные растеряли большинство диких признаков



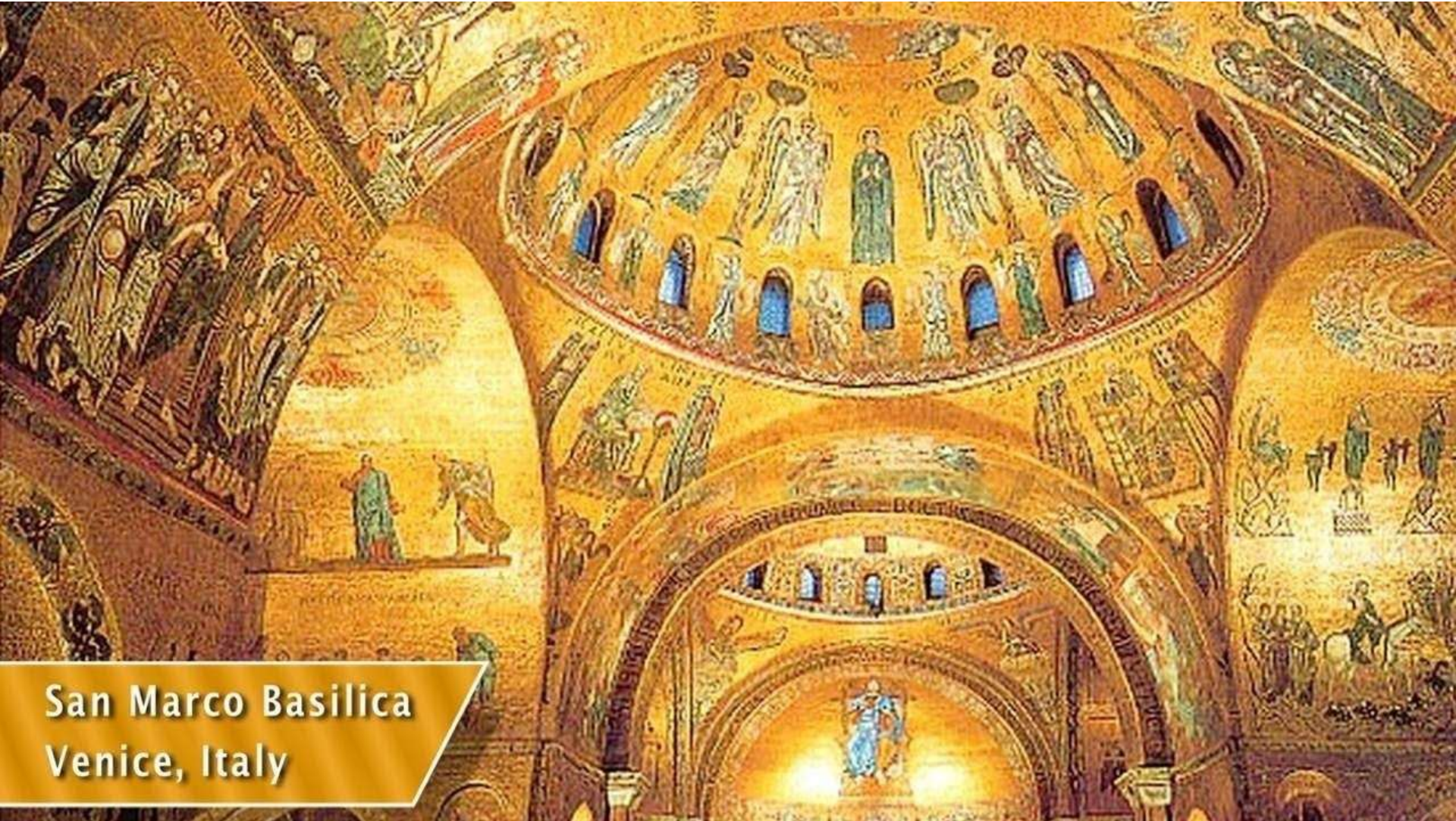
- Уже после шести поколений стали появляться особи, своим поведением и даже внешними признаками (окраска, вислоухость, хвост бубликом и др.) напоминающие домашних собак.
- Отбор по одному признаку (пониженная агрессивность к человеку) привел к множеству побочных эффектов, в т.ч. произошла «ювенилизация» ряда признаков (эти признаки связаны друг с другом через гормональную регуляцию и через онтогенетические механизмы, связанные с нервным гребнем)
- У волков произошли аналогичные изменения в ходе одомашнивания.

Фото: ИЦиГ, лаборатория Эволюционной генетики животных



- Аналогичные результаты получены на американских норках.
- В обоих случаях один из самых ярких эффектов отбора на низкую агрессивность – рост изменчивости многих признаков.
- Т.е., по-видимому, происходит дестабилизация онтогенеза. Беляев назвал это «дестабилизирующим отбором».
- Это вообще характерно для процесса доместикации. Возможно, ведя селекцию по каким-то редким, абберантным признакам, мы с большой вероятностью при этом неосознанно будем вести отбор на ослабление каких-то механизмов стабилизации развития. И с большой вероятностью эти механизмы стабилизируют не только интересующий нас признак, но и другие признаки.

THE SPANDRELS OF SAN MARCO



San Marco Basilica
Venice, Italy

GOULD, S. J. AND LEWONTIN, R. C., "THE SPANDRELS OF SAN MARCO AND THE PANGLOSSIAN PARADIGM: A CRITIQUE OF THE ADAPTATIONIST PROGRAMME," PROCEEDINGS OF THE ROYAL SOCIETY OF LONDON, SERIES B, VOL. 205, NO. 1161 (1979), PP. 581-598. («Паруса»)

Долгосрочный эволюционный эксперимент Р. Ленски

- Начат в 1988 г.
- 12 популяций *E. coli*.
- За сутки сменяется 6-7 поколений.
- Единственная пища – глюкоза.
- Каждые сутки пересаживают в свежую питательную среду.
- В течение каждого суточного цикла начальный период изобилия сменяется периодом голода.
- Часть каждой популяции периодически замораживают для последующего изучения.



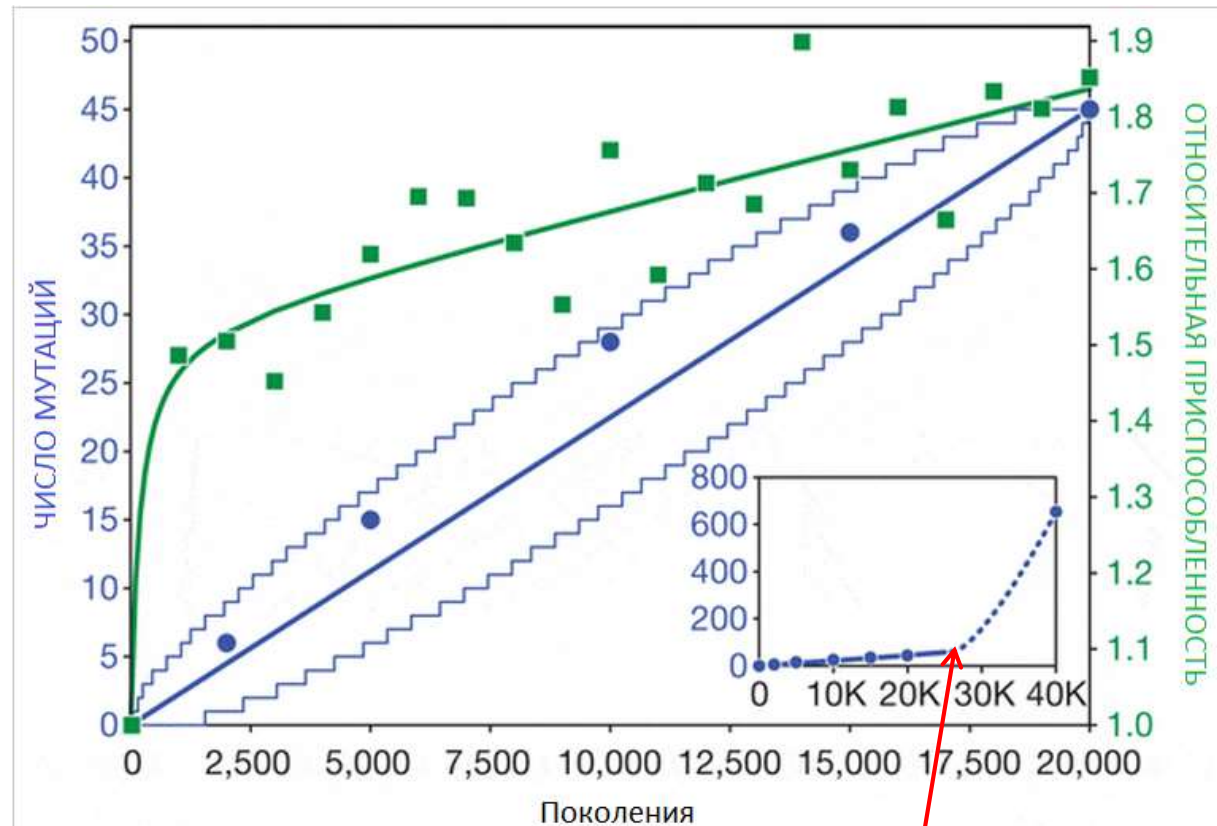
Колбы с 12 подопытными популяциями



Ричард Ленски (второй справа в заднем ряду) и его коллеги отмечают пятидесятитысячное поколение долгосрочного эволюционного эксперимента. Февраль 2010 года. Фото с сайта muko.css.msu.edu

Накопление полезных мутаций и рост приспособленности в подопытной популяции Ara-1

- За первые 20000 поколений закрепилось 45 мутаций.
- Большинство из них – полезные (повысили приспособленность)
- Число закрепившихся мутаций росло линейно
- Приспособленность росла с замедлением
- После 26000 поколений скорость мутирования резко выросла.

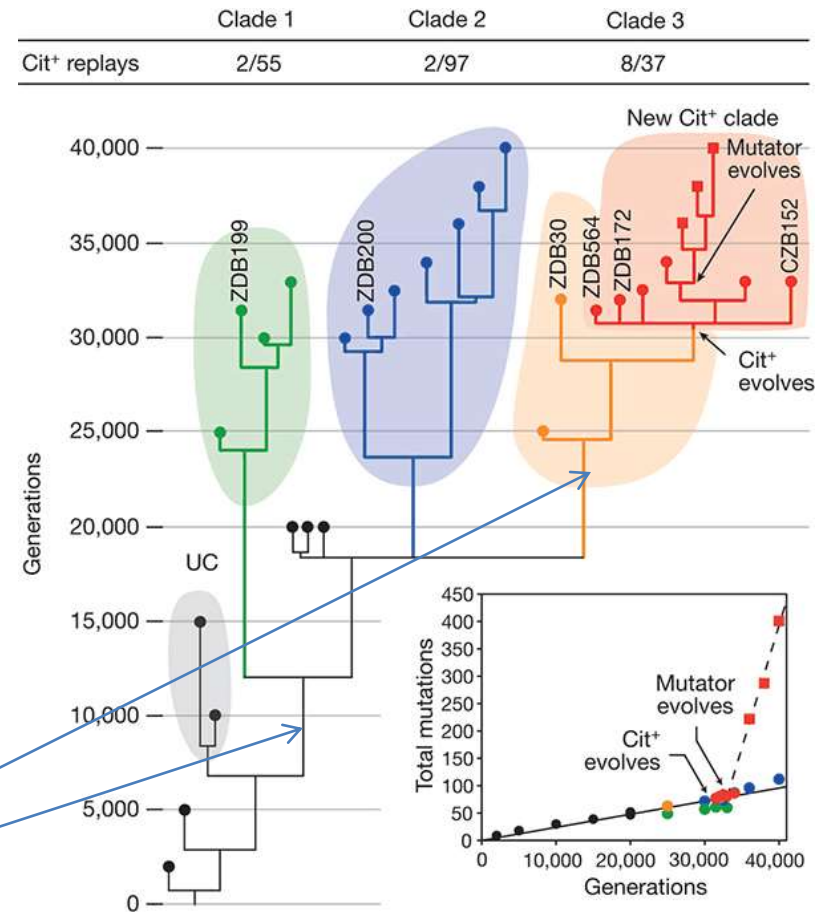


Появление «мутатора»

Поэтапное формирование эволюционного новшества

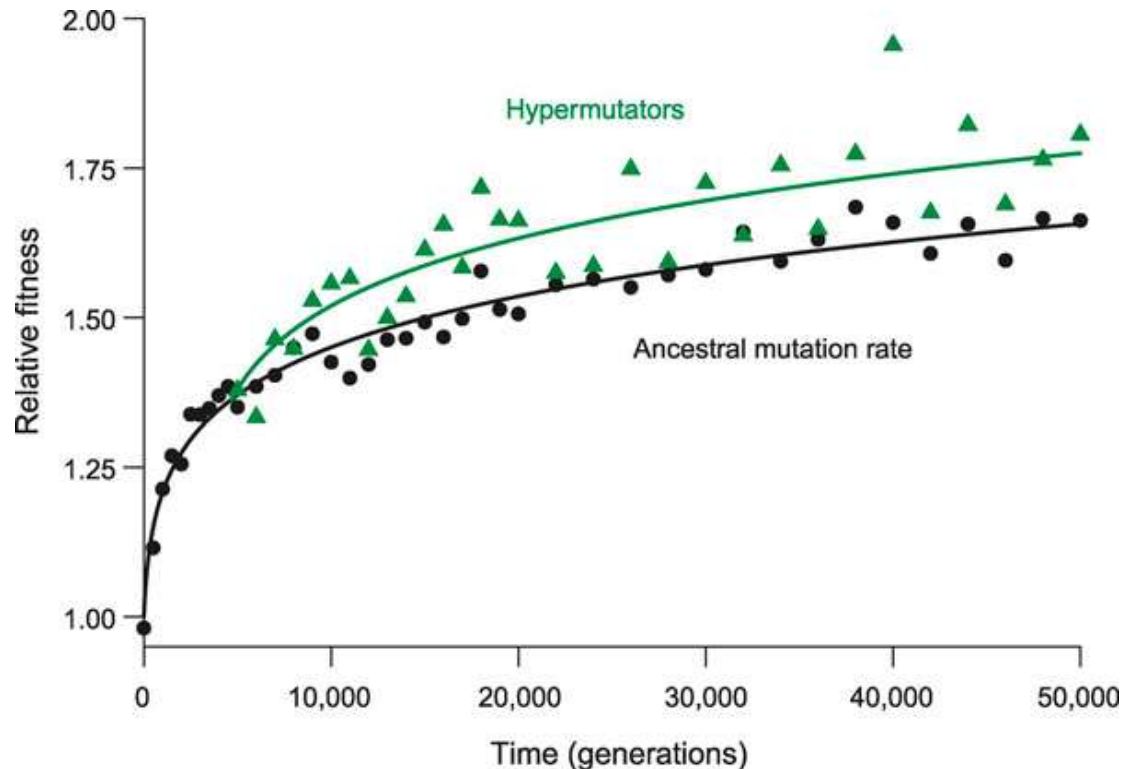
- После 31000 поколений в одной из популяций (Ara-3) бактерии научились питаться цитратом.
- Изучение геномов и повторные эксперименты показали, что развитие эволюционного новшества шло в три этапа:
 - 1)потенцирование,
 - 2)актуализация,
 - 3)усовершенствование

Схема эволюции популяции Ara-3



Blount et al., 2012. Genomic analysis of a key innovation in an experimental *Escherichia coli* population

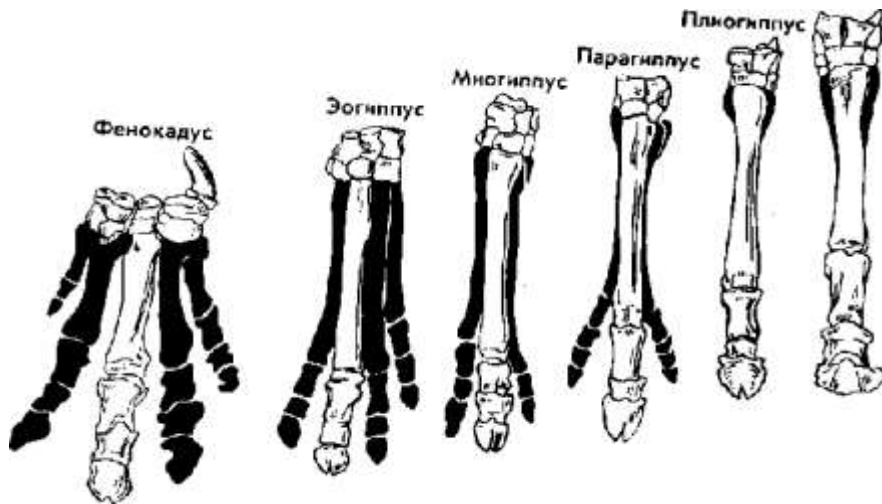
По прошествии 50 000 поколений (февраль 2010) бактерии всё еще продолжают накапливать полезные мутации, повышая свою приспособленность. Рост приспособленности постепенно замедляется, но не собирается выходить на плато. Причины: 1) эпистаз, 2) медленность фиксации слабополезных.



Повышение темпа мутагенеза ускоряет адаптацию. *Черные точки* — усредненные данные по шести популяциям, в которых темп мутагенеза остался на исходном низком уровне. *Зеленые треугольники* — усредненные данные по трем популяциям, в которых на ранних этапах ДЭЭ (в первые 20 000 поколений) закрепились аллели-мутаторы.

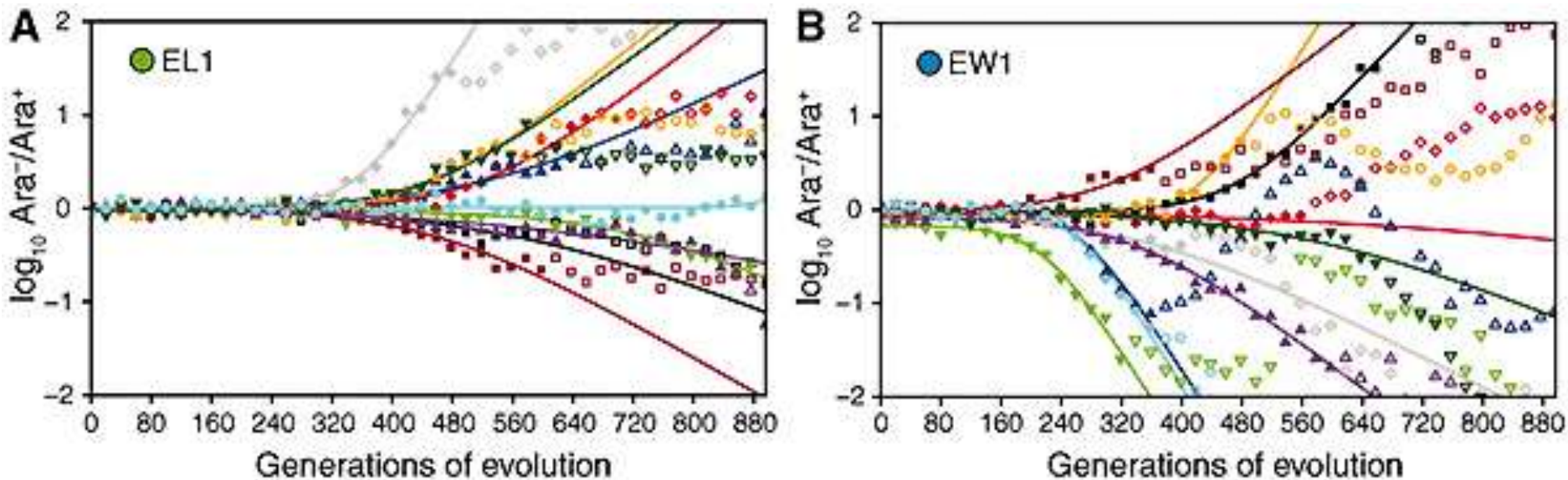
Отбор на «эволюционную перспективность»

- Из данных палеонтологии известно, что группы, быстро выработавшие поверхностные, односторонние адаптации к какому-то образу жизни, впоследствии нередко вытесняются группами, эволюционировавшими медленнее, но выработавшими более комплексные, «сбалансированные» адаптации (копытные, хищные). Такая же последовательность событий была выявлена и в одной из популяций кишечной палочки в эксперименте Ленски (Woods et al., 2011).



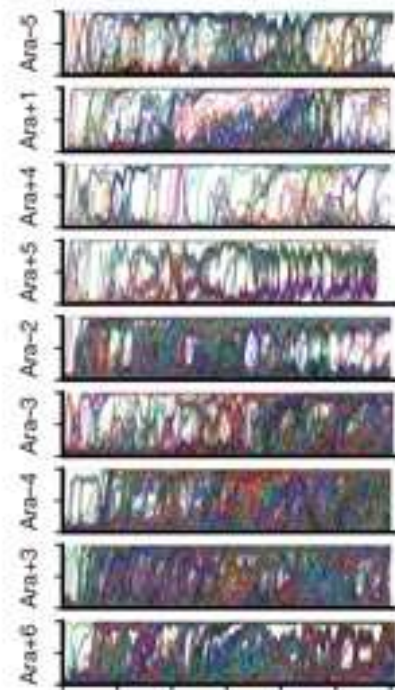
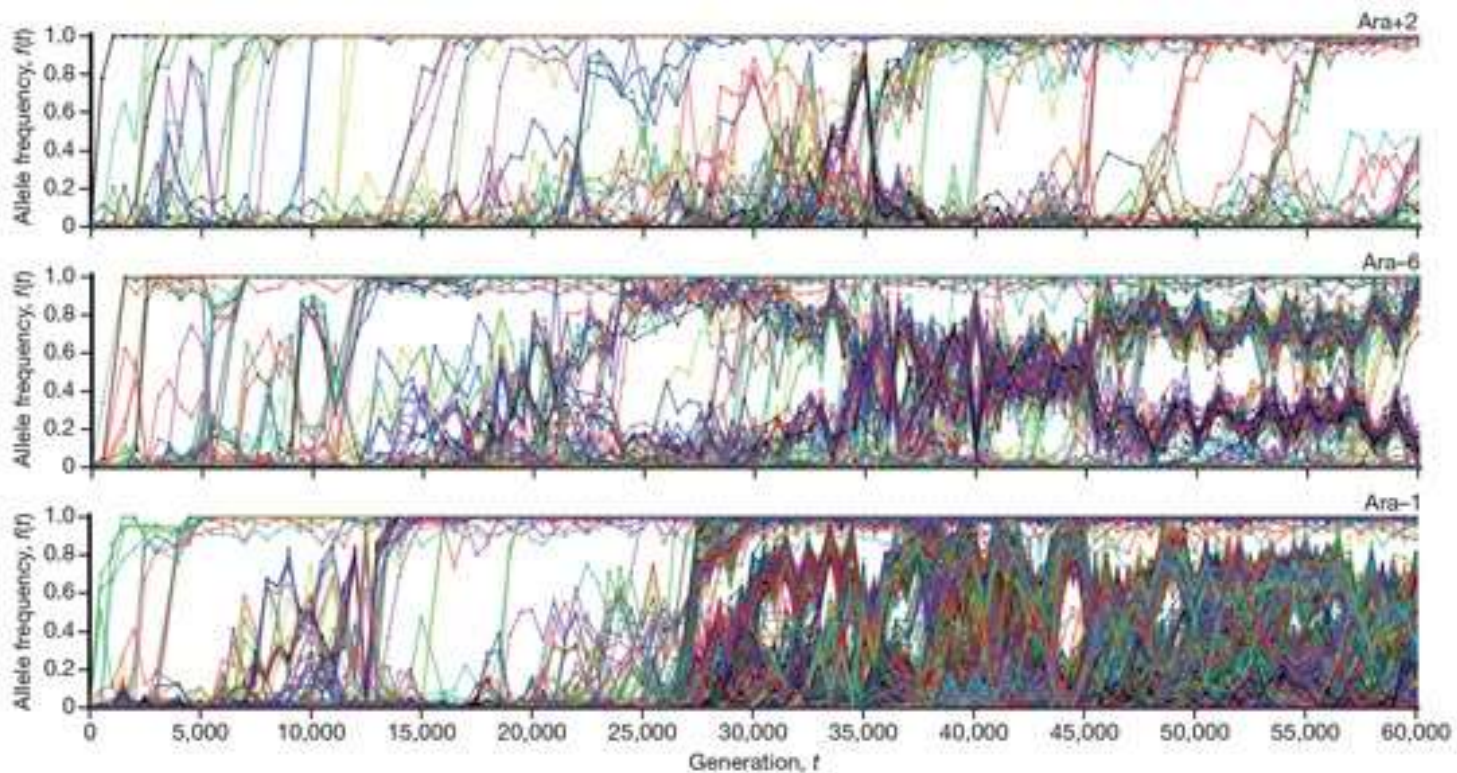
В.О.Ковалевский (1842 – 1883)

Оценка «эволюционной перспективности» (адаптивного потенциала) бактерий по скорости аллельного замещения



Результаты опытов, в которых определялась средняя степень полезности первой полезной мутации, возникающей в штаммах EL (слева) и EW (справа). Показаны результаты 10 опытов для каждого штамма. По горизонтальной оси — число поколений, по вертикальной — логарифм соотношения $\text{Ara}^- / \text{Ara}^+$. Чем быстрее убегает линия вверх или вниз от исходного (нулевого) уровня, тем полезнее мутация. Видно, что у штамма EW средняя полезность мутаций выше, чем у EL (линии разбегаются быстрее).

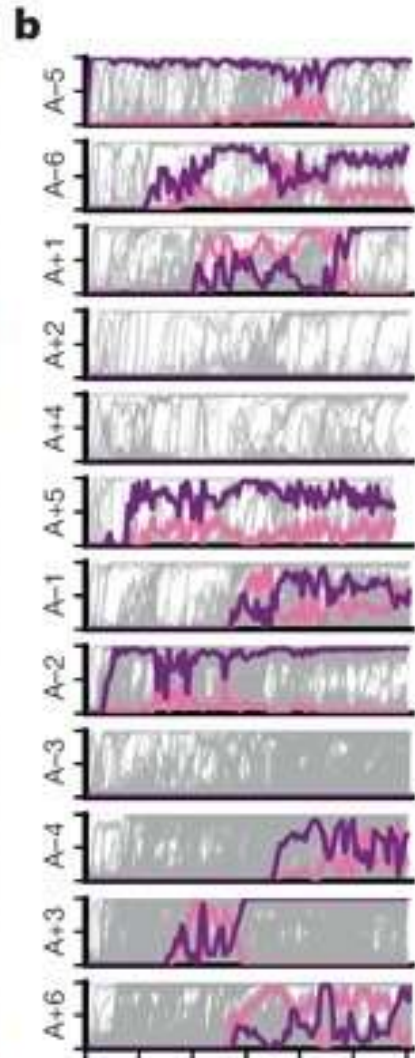
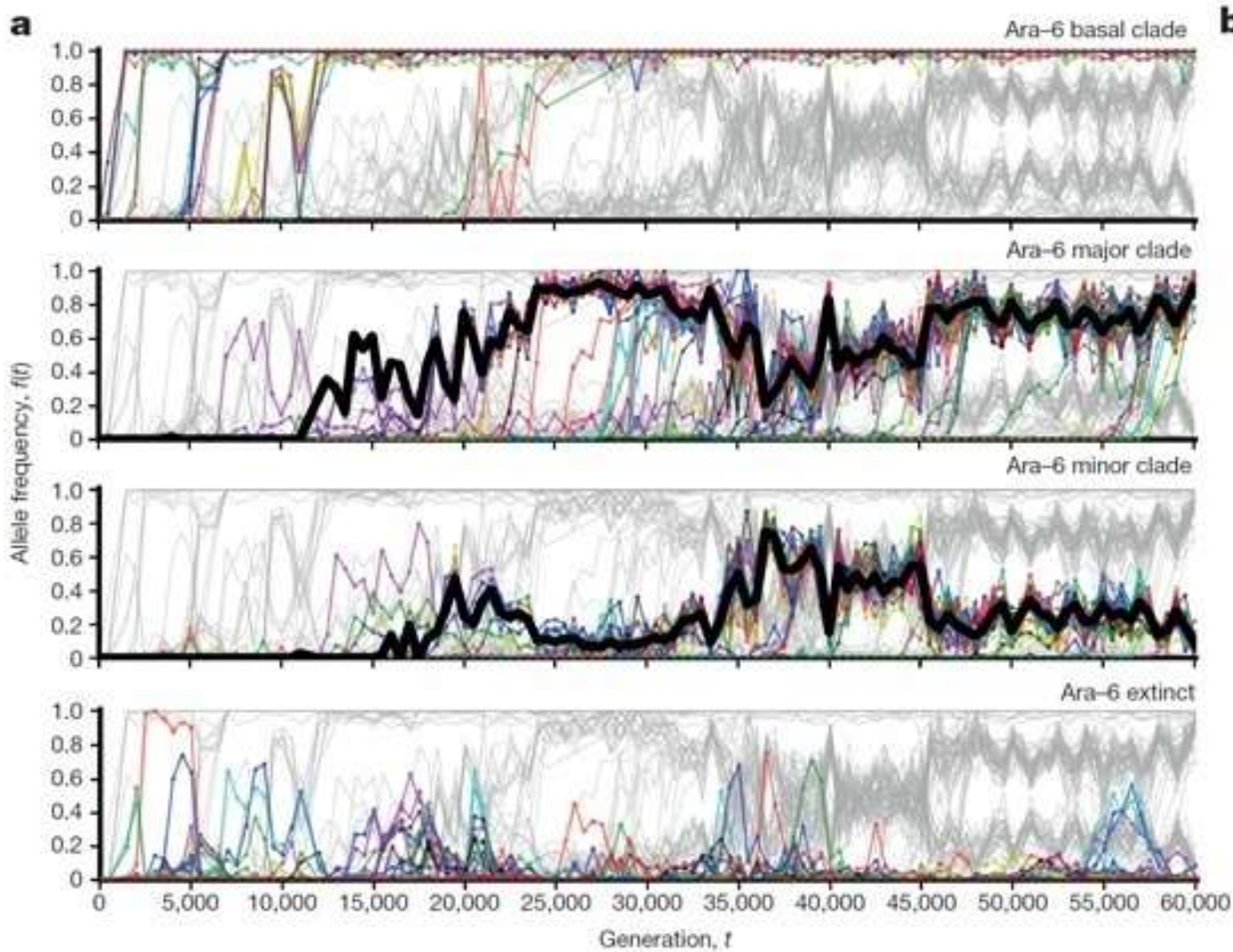
R.J.Woods, J.E.Barrick, T.F.Cooper, U.Shrestha, M.R.Kauth, R.E.Lenski. **Second-Order Selection for Evolvability** in a Large *Escherichia coli* Population // Science. 2011. V. 331. P. 1433–1436.



2017: метагеномный анализ всей замороженной «ископаемой летописи» (60000 поколений / 500 = 120 проб на каждую из 12 популяций).

Оказалось, что как минимум в 9 из 12 популяций произошло разделение ниш: монокультура превратилась в сообщество. Эволюция «перехитрила» исследователей, надеявшихся изучать мутации и отбор в простейшей искусственной системе

V.H. Good, M.J. McDonald, J.E. Barrick, R.E. Lenski & M.M. Desai. The dynamics of molecular evolution over 60,000 generations // Nature. 18 October 2017.



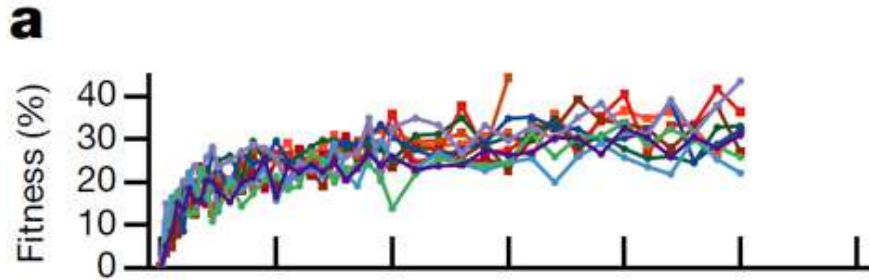
Сосуществование клад



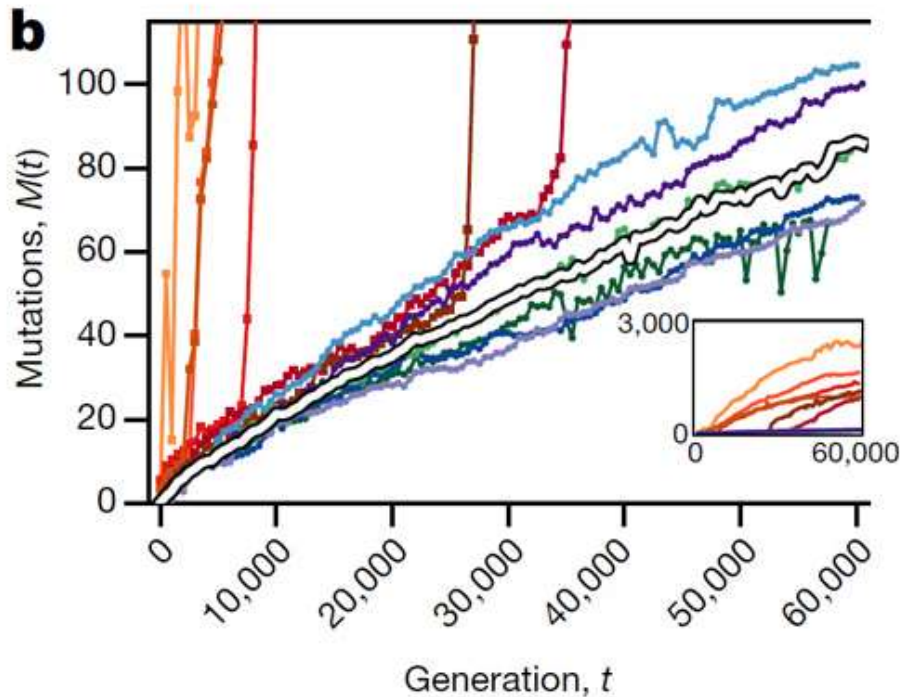
Evolution is smarter than you are.

— *Leslie Orgel* —

AZ QUOTES



приспособленность, оцениваемая по скорости размножения бактерий по сравнению с исходным предковым штаммом

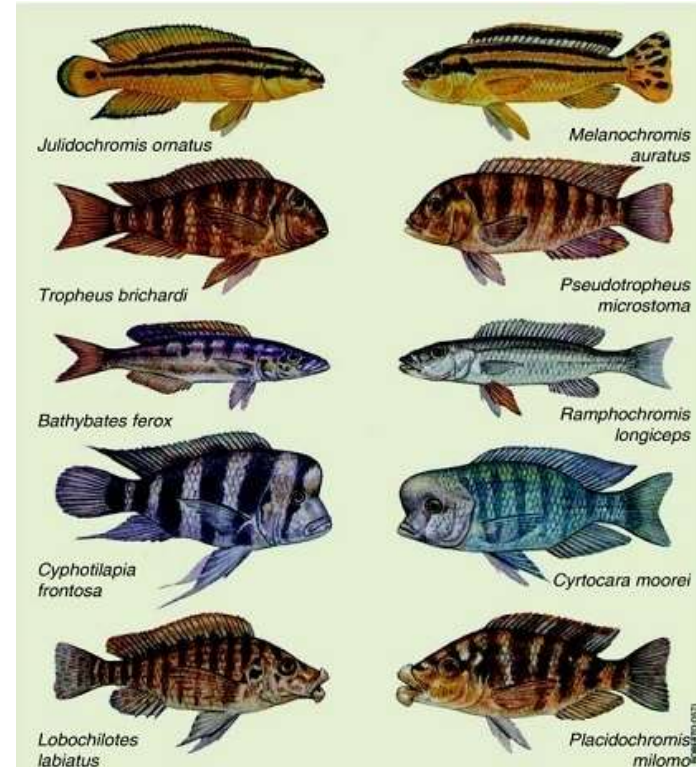


Число накопленных мутаций. Графики, резко уходящие вверх – популяции, в которых зафиксировались аллели-«мутаторы». На врезке – динамика накопления мутаций в шести популяциях с мутаторами. Белая линия – усредненная динамика для популяций, в которых мутаторы не зафиксировались.

Параллельная эволюция: к одной цели ведет много путей

Эволюционные эксперименты на бактериях подтвердили, что:

- Эволюция отчасти предсказуема, хотя в ее основе лежат случайные мутации
- Число возможных эволюционных траекторий ограничено, так как ограничено число жизнеспособных комбинаций мутационных изменений (отсюда параллелизмы).
- Сильный «специфический эпистаз»: полезность конкретных мутаций сильно зависит от того, какие мутации закрепились ранее.
- Сходные приспособления могут появляться в результате: 1) параллельного образования одинаковых мутаций в одном и том же гене (реже), 2) разных наборов мутаций в одном и том же комплексе генов (чаще);
- Параллельные приспособления появляются чаще в результате изменений в регуляторных, а не белок-кодирующих участках генов (Tenaillon et al., 2012 и мн. др.)



Параллельное видообразование у цихлид в озерах Танганьика (слева) и Малави (из Stiassny & Meyer, 1999. Cichlids of the rift lakes)

Эволюционный эксперимент на дрожжах: Предсказуемый рост приспособленности достигается непредсказуемыми путями

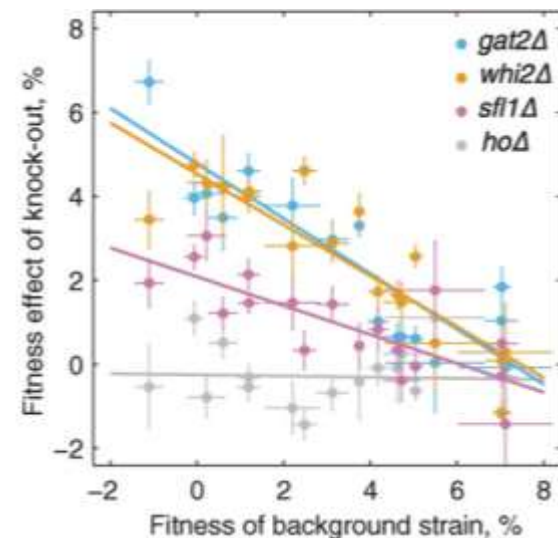
640 линий дрожжей, происходящих от 64 генетически различающихся клеток-основателей, приспособлялись к одним и тем же условиям в течение 500 поколений.

Рост приспособленности шел тем быстрее, чем ниже была исходная приспособленность основателя. В результате исходные различия по приспособленности между линиями сгладились.

Наборы полезных мутаций, закрепившиеся в разных линиях, не зависели от исходного генотипа и оказались разными на нуклеотидном уровне, хотя многие из них затронули одни и те же гены.

Исследование не выявило специфических взаимодействий между мутациями, но показало, что полезность одной и той же мутации убывает с ростом общей приспособленности генотипа. В этом отличие от бактерий: у тех силен «специфический эпистаз», а у дрожжей – «глобальный эпистаз».

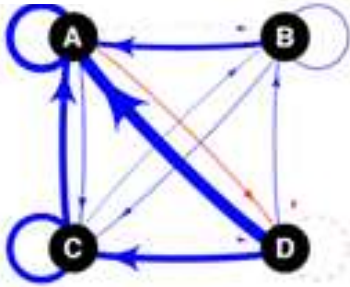
Возможная причина этого отличия: у эукариот из-за 1) более сильного дрейфа и 2) полового размножения гены не так сильно «притираются» друг к другу; локусам приходится оставаться более функционально независимыми друг от друга (аллель не будет «полезным», если он хорош только в немногих генетических контекстах).



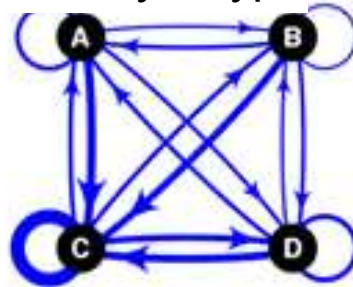
полезность одной и той же мутации тем ниже, чем выше приспособленность штамма, в котором она возникла

Эксперименты по эволюции бактериальных сообществ

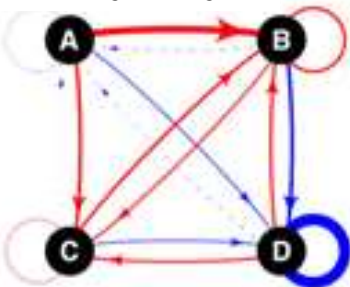
предки



монокультура



поликкультура



после 70 поколений

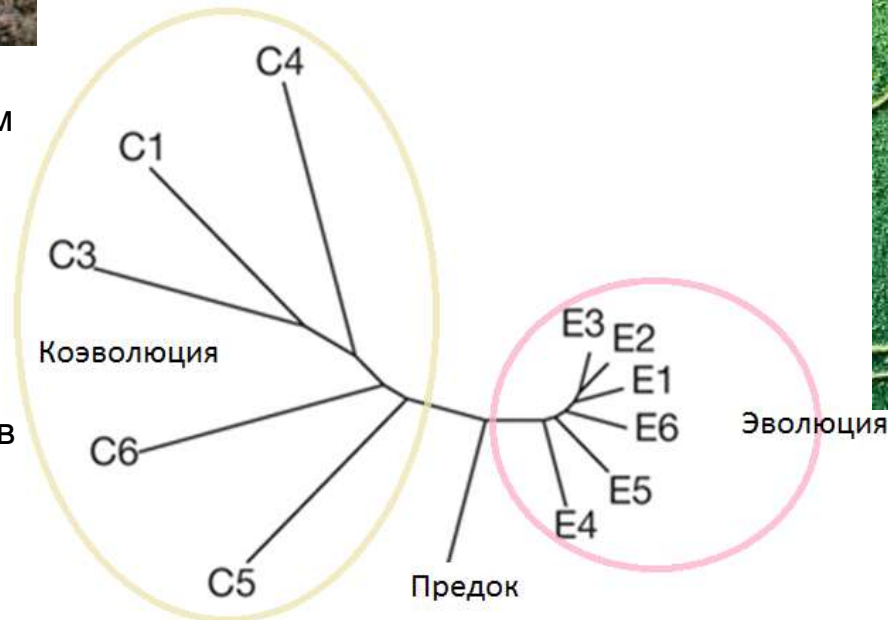
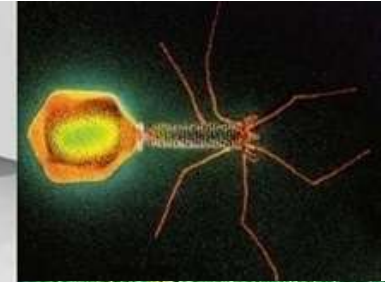
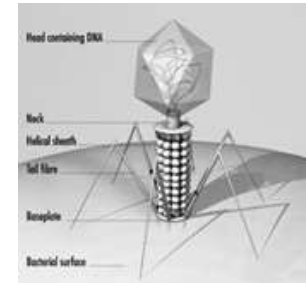
- В сообществе бактерии эволюционируют иначе, чем в монокультуре.
- При совместной эволюции бактерии приспосабливаются друг к другу, делят ниши и начинают использовать продукты жизнедеятельности друг друга, формируя замкнутые биохимические циклы
- Взаимосвязанное микробное сообщество – первый шаг на пути становления живых систем более высокого уровня (таких как эукариотическая клетка)

Взаимовлияние четырех видов бактерий (A, B, C, D). Синие стрелки — отрицательное влияние (вид, на который указывает стрелка, лучше растет в неиспользованной среде, чем в той, где раньше жил другой вид), красные — положительное (вид, на который указывает стрелка, быстрее размножается в среде, где есть продукты жизнедеятельности другого вида). Предки — предковые штаммы; Монокультура — штаммы, эволюционировавшие в монокультуре; Поликультура — штаммы, эволюционировавшие в смешанной культуре.

Эволюционная «гонка вооружений»



- 6 популяций вирусов приспособлялись к одним и тем же (не эволюционирующим) бактериям (Е, «Эволюция»)
- 6 других популяций коэволюционировали с бактериями (С, «Козэволюция»)
- Вирусы С накопили больше генетических отличий (мутаций), в т.ч. отличий друг от друга.
- Вирусы С стали сильно отличаться друг от друга по «спектру инфекционности» (видообразование).
- Вирусы Е не смогли заразить ни один из штаммов бактерий, к которым приспособились вирусы С (т.е. Е «отстали» в гонке).

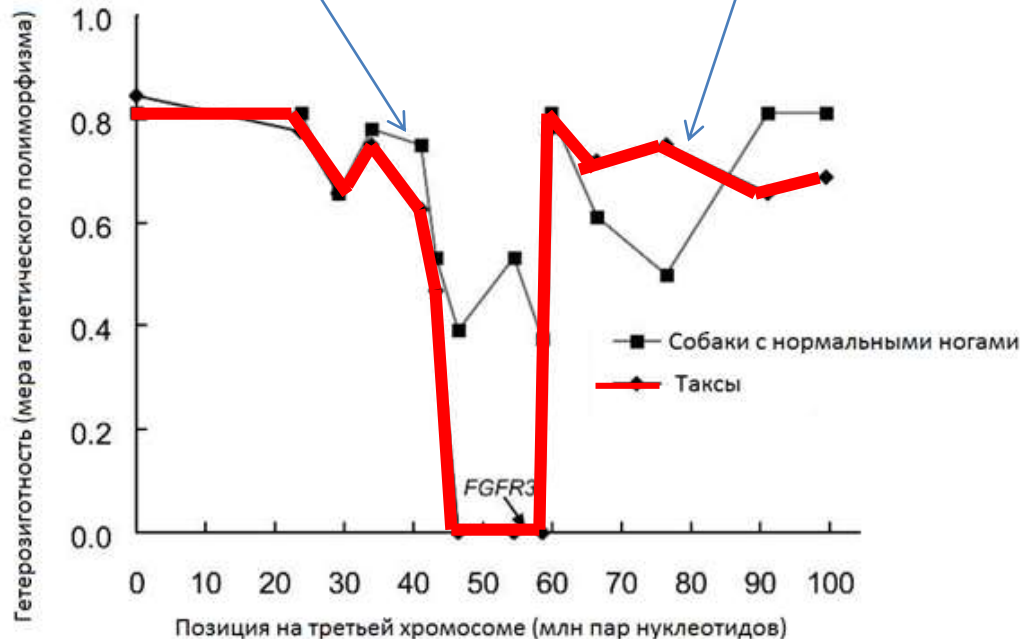


Эволюционное дерево подопытных вирусов

Paterson et al., 2010. Antagonistic coevolution accelerates molecular evolution.

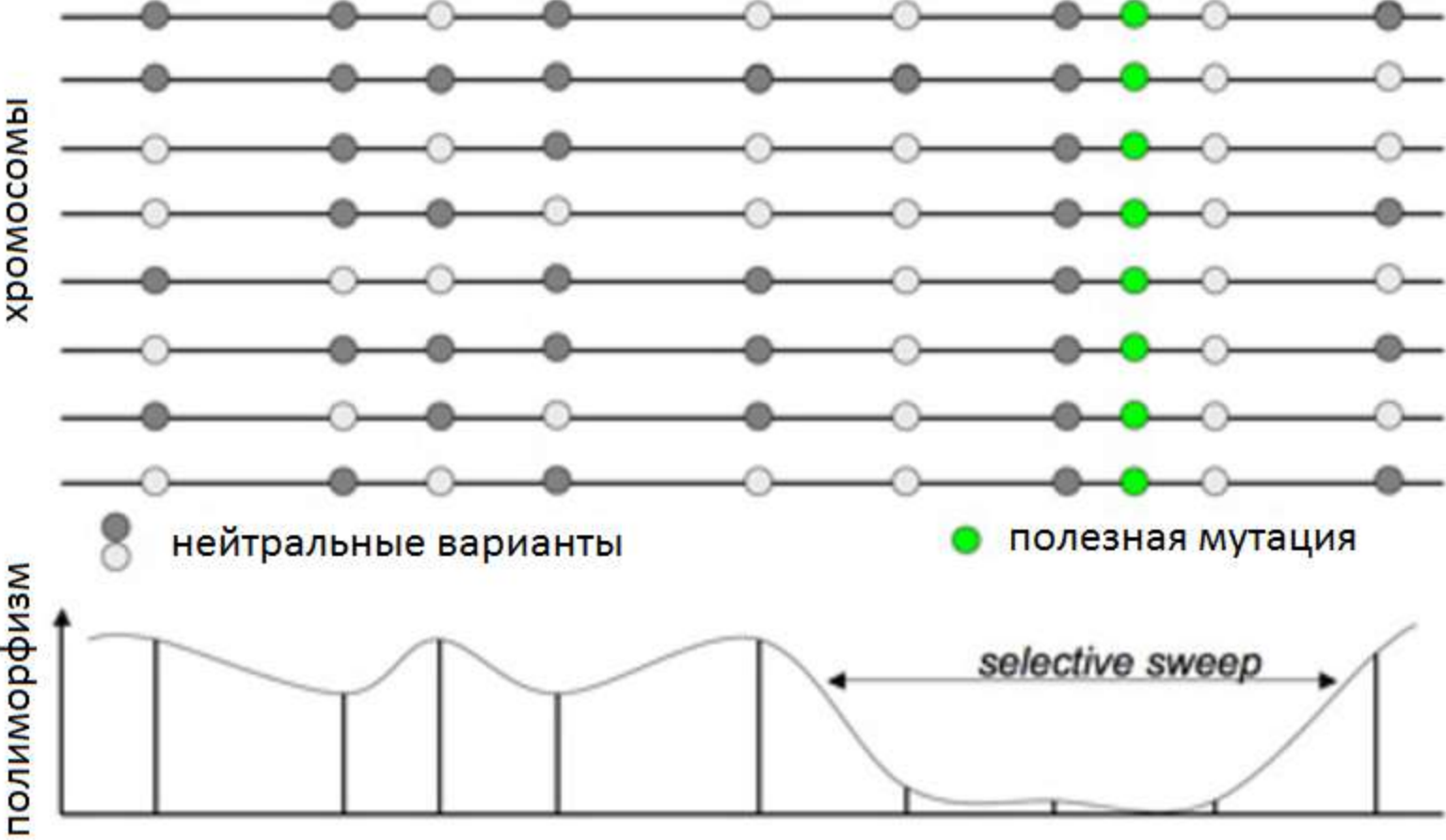
Естественный отбор
оставляет в геномах
специфические «следы».
Это позволяет найти участки
генома, на которые
действовал отбор.

Методы детекции отбора на уровне последовательностей



Пример «выметания отбором» (selective sweep). У такс по сравнению с обычными собаками понижен генетический полиморфизм на участке третьей хромосомы, включающем ген *FGFR3*. Это указывает на то, что отбор, осуществлявшийся собаководами, благоприятствовал какой-то мутации на этом участке хромосомы. Мутации гена *FGFR3* приводят к разнообразным нарушениям развития скелета, в том числе – к укорочению конечностей. Из Pollinger et al., 2005.

Selective sweeps



Методы детекции отбора на уровне последовательностей

Отношение несинонимичных замен к синонимичным (dN/dS)

ratio of the number of nonsynonymous substitutions per non-synonymous site (dN) to the number of synonymous substitutions per synonymous site (dS)

dN – среднее число несинонимичных замен на несинонимичный сайт (т.е. по отношению к общему числу возможных)

dS – среднее число синонимичных замен на синонимичный сайт

$dN/dS > 1$ – положительный отбор

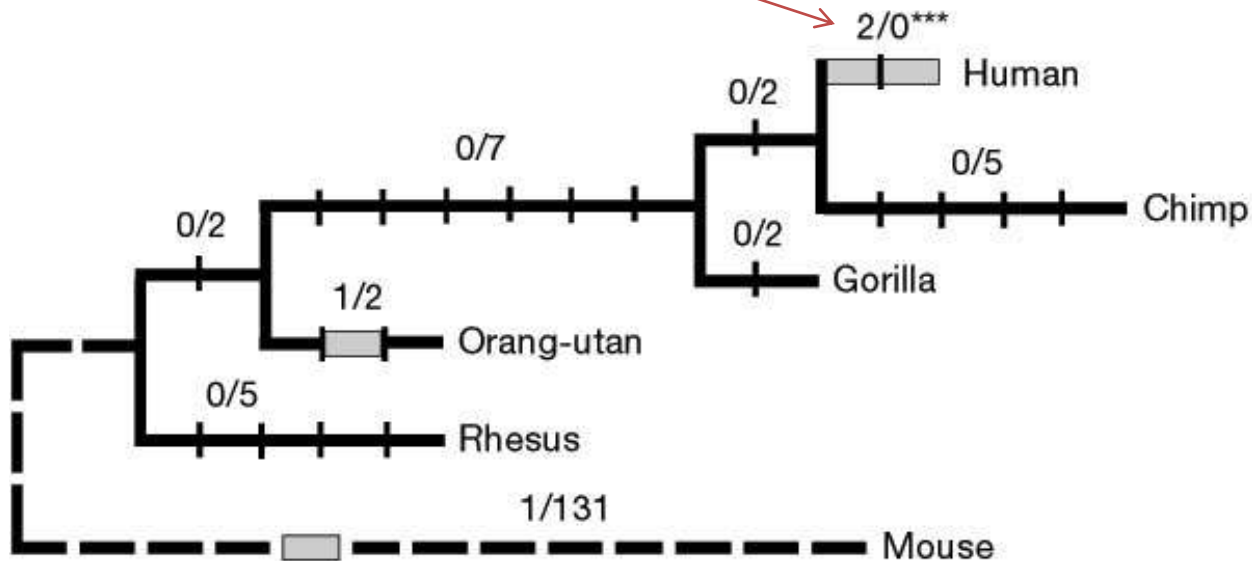
$dN/dS \approx 1$ – нет отбора, нейтральная эволюция

$dN/dS < 1$ – очищающий отбор

Применяется при сравнении разошедшихся гомологичных последовательностей – ортологов или паралогов.

Ген *FOXP2*

- Мутации, выводящие этот ген из строя, ведут к тяжелым нарушениям речи (страдают произношение, понимание, грамматика).
- На этот ген в ходе антропогенеза действовал положительный отбор (видно по **высокому dN/dS** ; есть следы selective sweep).
- Ген регулирует работу многих других генов в мозге.
- У неандертальцев и денисовцев этот ген был такой же, как у нас (в белок-кодирующей части). Однако его регуляторные участки, по-видимому, существенно различались (в этой области отбор отсеял у нас неандертальские примеси)



Черные отрезки – синонимичные замены, серые прямоугольники – значимые замены

Enard et al., 2002. Molecular evolution of *FOXP2*, a gene involved in speech and language

TABLE 2 Number of replacement and synonymous substitutions for fixed differences between species and polymorphisms within species

	Fixed	Polymorphic
Replacement	7	2
Synonymous	17	42

A G-test of independence (with the Williams correction for continuity)² was used to test the null hypothesis, that the proportion of replacement substitutions is independent of whether the substitutions are fixed or polymorphic. $G = 7.43$, $P = 0.006$.

	Фиксированные	Полиморфные
Несинонимичные	dN	pN
Синонимичные	dS	pS

$dN/dS > pN/pS$ – указание на положительный отбор

	Фиксированные	Полиморфные	
Несинонимичные	7	2	
Синонимичные	17	42	$7/17 > 2/42$



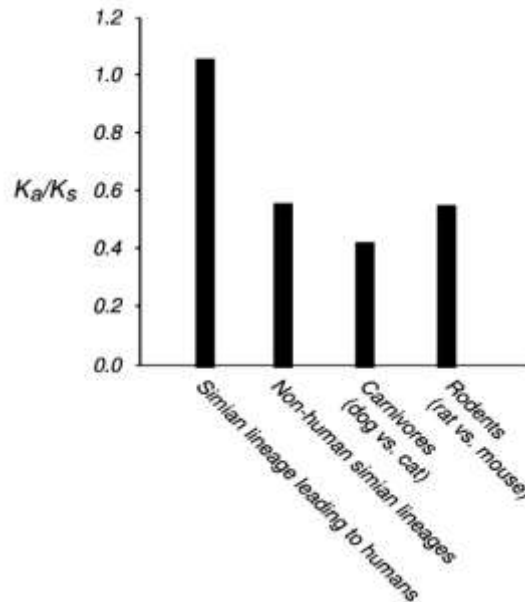
Reconstructing the evolutionary history of *microcephalin*, a gene controlling human brain size

Patrick D. Evans^{1,2}, Jeffrey R. Anderson¹, Eric J. Vallender^{1,2}, Sun Shim Choi¹ and Bruce T. Lahn^{1,*}

¹Howard Hughes Medical Institute, Department of Human Genetics and ²Committee on Genetics, University of Chicago, Chicago, IL 60637, USA

Received February 24, 2004; Revised and Accepted March 25, 2004

Один из генов, сильно менявшихся на протяжении истории отряда приматов - микроцефалин



Нонсенс-мутации в этом гене вызывают первичную микроцефалию

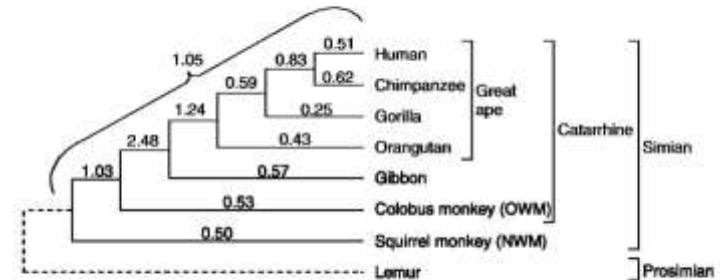


Figure 1. Evolution of *microcephalin* within primates. The K_a/K_s ratios of individual phylogenetic segments are indicated. The K_a/K_s of the entire lineage from simian progenitors to humans is also indicated. OWM: Old World monkey; NWM: New World monkey.

Это применили тест М-К
 $Dn/Ds > Pn/Ps$ – указание на
 положительный отбор.
 $64/19 > 11/11$, т.е. был положит. отбор

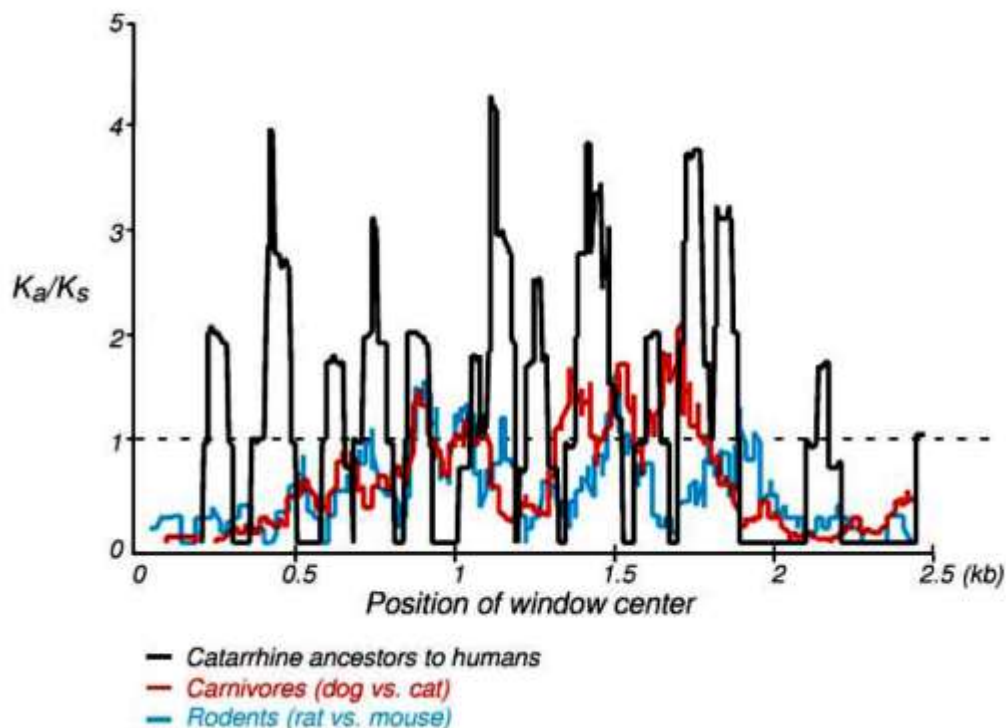
Table 1. Numbers of non-synonymous (N) and synonymous (S) changes in *microcephalin*

	N	S	P -value
Polymorphism within humans ($n = 54$)	11	11	
Divergence between simian progenitors and humans	64	19	0.015

n is the number of haploid human genomes sampled; P -value is calculated from Fisher's exact test.

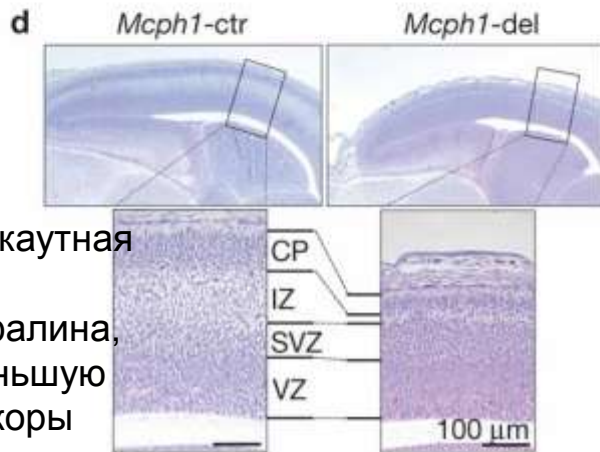
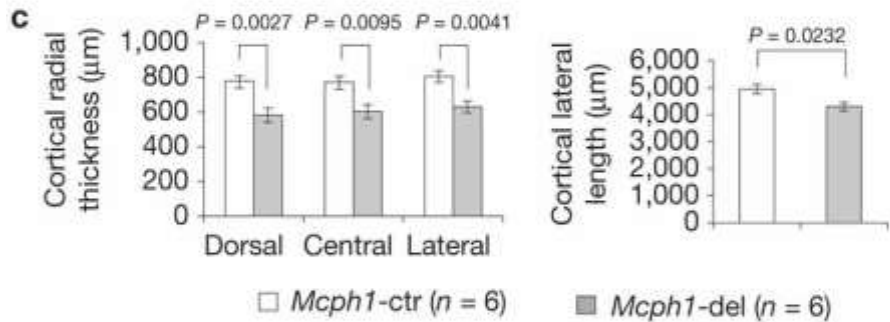
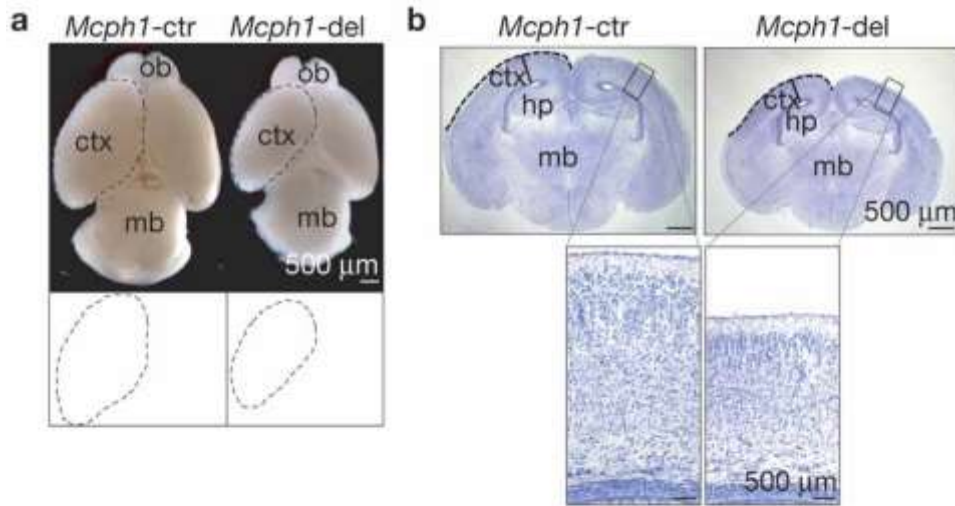


Это применили тест
 dN/dS (Ka/Ks)

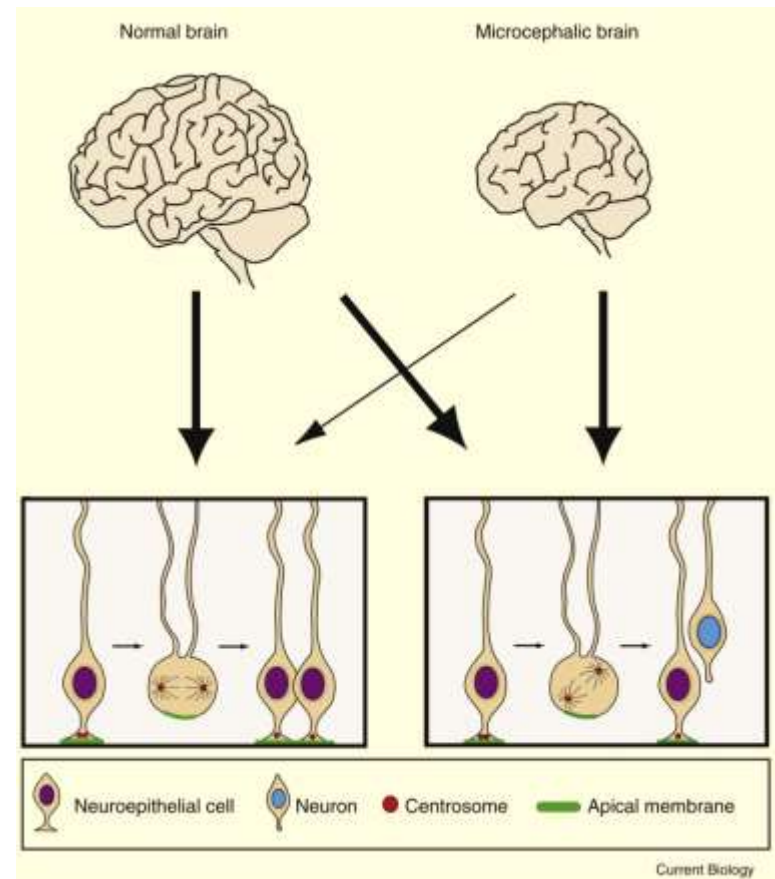


Размер окна здесь брали
 25 пар оснований

В человеческой линии
 закреплялись полезные
 мутации в нескольких
 сайтах (пики), зато в
 других – сильный
 очищающий отбор (ямы).
 Одни позиции под +
 отбором, другие — под -



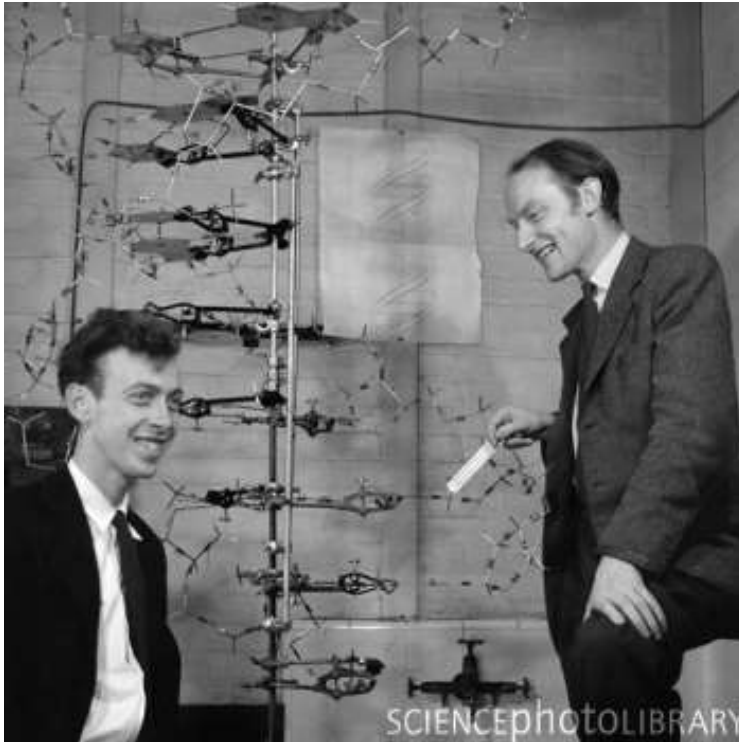
Мышь, нокаутная по гену микроцефалина, имеет меньшую толщину коры



Микроцефалин и еще несколько генов, претерпевших быструю адаптивную эволюцию у гоминид, связаны с регуляцией клеточного деления в нейроэпителиальных клетках. При симметричном делении нейроэпителиальная клетка делится на две нейроэпителиальные, при асимметричном — на нейроэпителиальную и нейробласт. Чем больше симметричных делений — тем толще получится кора.

«Догмы» середины XX века и их ограничения

Величайшее открытие середины XX века: разгадана материальная природа наследственности



		Second letter					
		U	C	A	G		
First letter	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G	Third letter
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G	
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G	

Расшифровка структуры ДНК,
понимание механизма репликации

Расшифровка генетического кода

Открытие «главной тайны жизни» породило некоторую эйфорию. Появилось несколько скороспелых «догм»

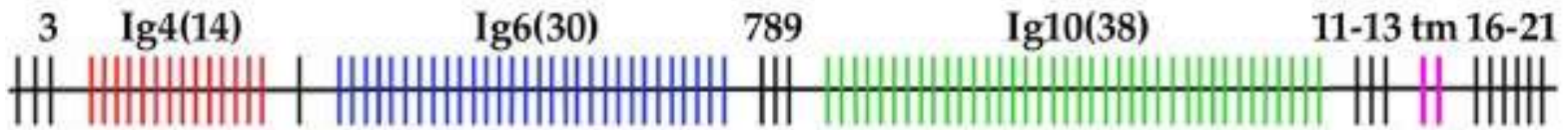
Биологические «догмы» образца 3-й четверти XX века, впоследствии пересмотренные

- Мутации всегда абсолютно случайны
- Строго однонаправленная передача наследственной информации в ряду ДНК → РНК → Белок (или генотип → фенотип)
- Приобретенные признаки никогда не наследуются
- Принцип «один ген – один белок»
- Эволюция всегда имеет дивергентный характер (ветви эволюционного дерева, разделившись, более никогда не сливаются)
- Эволюция основана на безжалостной «борьбе за существование» и конкуренции по принципу «каждый за себя»

Все эти утверждения в значительной мере верны, но не абсолютны

Принцип «один ген – один белок»

Альтернативный сплайсинг: механизм, благодаря которому один ген может кодировать множество разных белков. Открыт в 1977.



Строение гена DSCAM малярийного комара.

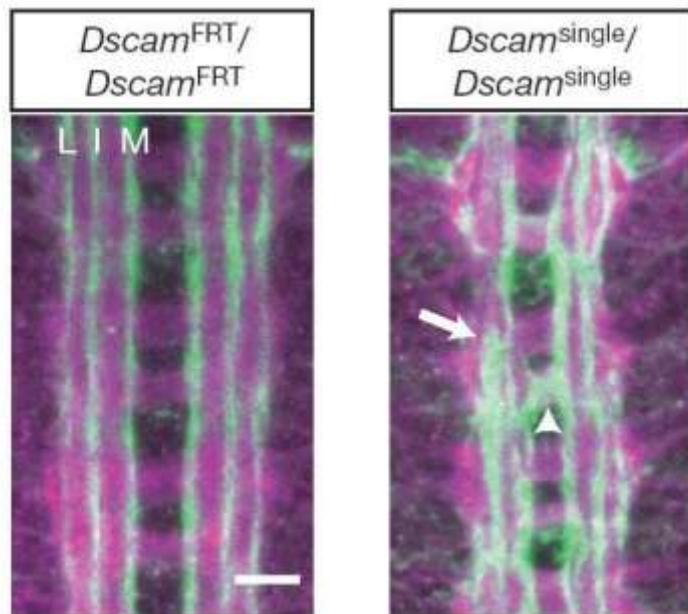
Вертикальными отрезками показаны экзоны. Горизонтальные отрезки между ними – интроны.

В зрелую мРНК, на основе которой будет синтезирован белок, попадет только по одному участку (экзону) из кассет Ig4, Ig6, Ig10. Экзоны, показанные черным цветом, попадают в зрелую мРНК всегда. На основе одного гена благодаря такой комбинаторике можно синтезировать **15960** разных белков.

Две функции DSCAM у насекомых

1. Развитие НС: различение «своих» и «чужих» аксонами и дендритами.

Основано на способности изоформ к гомофильному связыванию (Wojtowicz et al., 2004. Alternative splicing of *Drosophila* Dscam generates axon guidance receptors that exhibit isoform-specific homophilic binding).

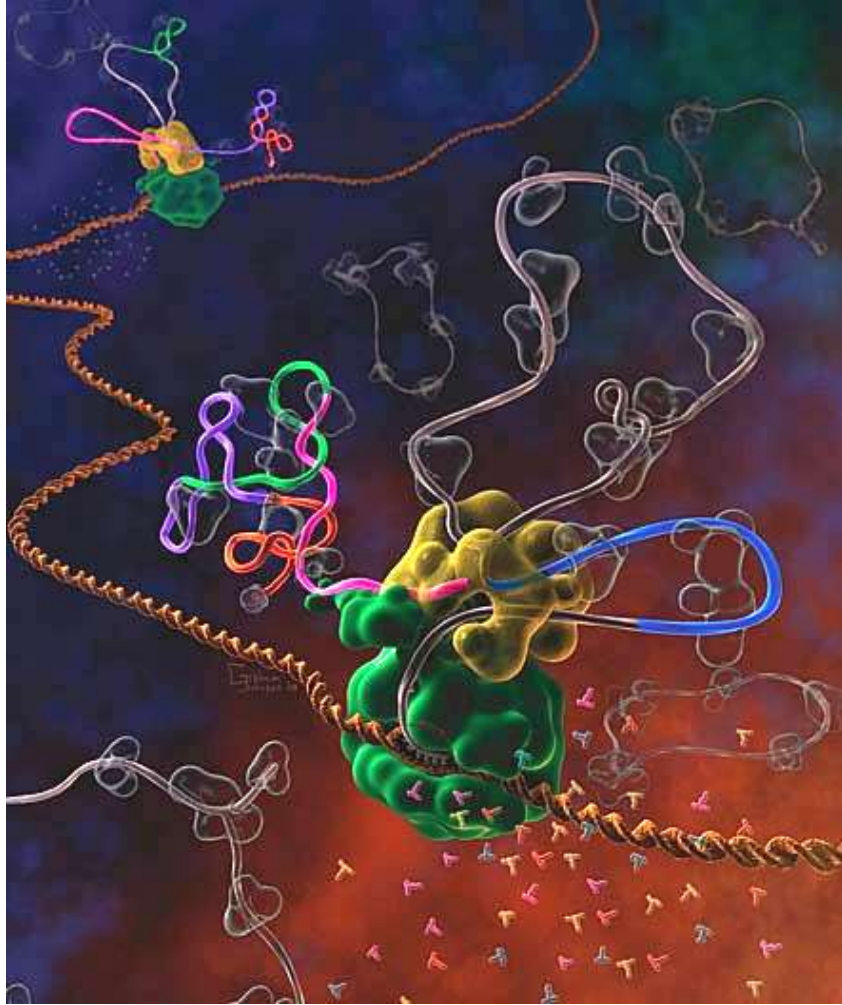


Брюшная нервная цепочка нормального мушиного эмбриона (слева) и мутантного, способного производить только одну изоформу белка DSCAM (справа). Стрелки – участки патологических изменений (Hattori et al., 2007 Dscam diversity is essential for neuronal wiring and self-recognition)

2. Иммунная защита:

в присутствии разных бактерий гемоцитоподобные иммунокомпетентные клетки комара производят разные наборы сплайс-вариантов DSCAM. Напр., в ответ на заражение кишечной палочкой растет частота использования 8-го варианта 4-го экзона, а стафилококк стимулирует использование 1-го варианта того же экзона. Изоформы, синтезируемые в присутствии данной бактерии, лучше других связываются именно с этими бактериями и обеспечивают специфический ИММУНИТЕТ.

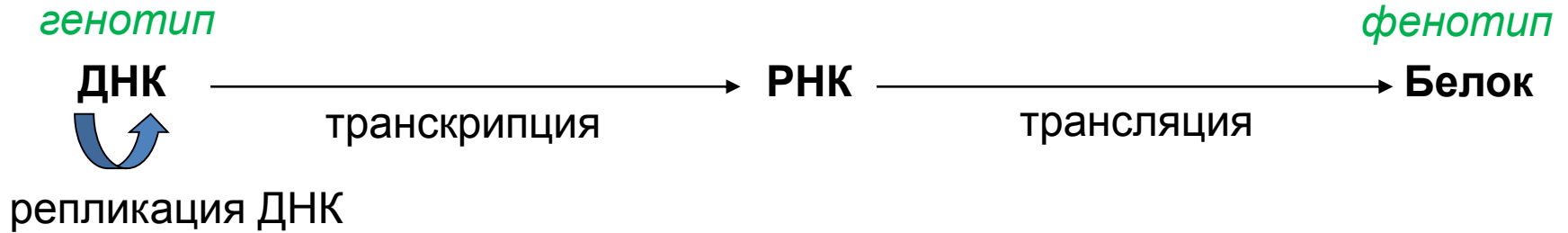
(Dong et al., 2006. AgDscam, a Hypervariable Immunoglobulin Domain-Containing Receptor of the *Anopheles gambiae* Innate Immune System)



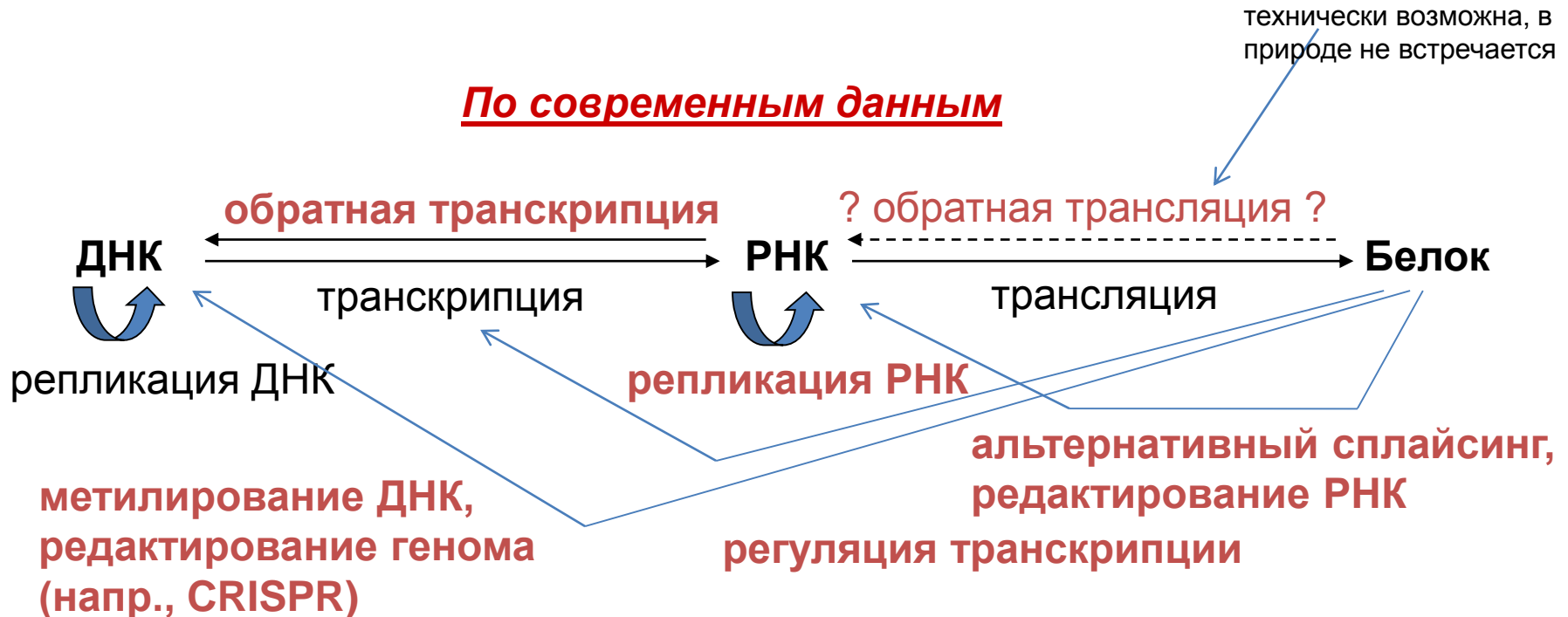
- >94% человеческих генов подвергаются альтернативному сплайсингу, причем в разных тканях производятся разные наборы изоформ.
- Благодаря альтернативному сплайсингу разнообразие белков у млекопитающих значительно выше, чем у *C. elegans*, хотя количество генов примерно одинаково (ок. 20 000, но у *C. elegans* альтернативному сплайсингу подвергается лишь около 15%)
- (все это м.б. связано с ограничением на размер полезной части генома из-за угрозы вырождения)

«Главная догма» (Ф.Крик): Однонаправленная передача наследственной информации в ряду ДНК → РНК → Белок (или генотип → фенотип)

Согласно «догме»



По современным данным



Обратная транскрипция

(открыта в 1970)

- Ретровирусы – РНК-содержащие вирусы, в геноме которых есть ген обратной транскриптазы (РНК зависимая ДНК-полимераза, RdDp). Синтезирует ДНК на матрице РНК (обратная транскрипция). Эта ДНК встраивается в геном зараженной клетки и начинает размножаться вместе с ним, как все остальные гены хозяйского генома.
- Благодаря ретровирусам и ретротранспозонам геномы многих эукариот напичканы генами обратных транскриптаз.
- Обратные транскриптазы могут делать ДНК-копии не только с вирусной РНК, но и с хозяйских мРНК. В результате получаются **ретропсевдогены** – встроенные в геном ДНК-копии хозяйских мРНК.
- Обычно такие ретрокопии не работают, т.к. не имеют промотора. Но им может и «повезти»: **ретрогены**.
- В человеческой линии – появлялось примерно по 1 работающему ретрогену за миллион лет (в течение последних 60 млн)

Обратная транскрипция

- Ретрогены были бы просто дубликатами уже имеющихся в геноме генов (что тоже может иметь эволюционные последствия), однако обратной транскрипции подвергаются уже **зрелые мРНК, прошедшие сплайсинг**.
- Поэтому ретрогены легко отличить от обычных генов по отсутствию интронов.
- А если сплайсинг был альтернативным, то ретроген будет существенно отличаться от своего «прототипа» (в нем не будет некоторых экзонов).
- Альтернативный сплайсинг – процесс регулируемый. Следовательно, здесь есть потенциальная возможность передачи осмысленной информации от фенотипа к генотипу.
- По-видимому, живые организмы так и не научились использовать эту возможность к собственной выгоде.

Демонстрация принципиальной возможности «обратной трансляции»

Masayuki Nashimoto, 2001. **The RNA/Protein Symmetry Hypothesis: Experimental Support for Reverse Translation of Primitive Proteins** // Journal of Theoretical Biology. V. 209(2), P. 181–187.

“The reverse translation would proceed in the 3' to 5' direction using a set of at least 20 reverse transfer RNAs (rtRNAs) that can recognize their specific amino acid residue and carry their corresponding codon. A source of genetic information would be a primary sequence of a protein molecule. Several basic steps of reverse translation were demonstrated using rtRNA^{Arg}.”

Но вообще-то «обратная трансляция» (кодирование первичной структуры РНК в белке) не нужна, потому что РНК способна к репликации и сама себя отлично кодирует. А вот белок к репликации не способен, сам себя кодировать не может, и служить «молекулой наследственности» тоже не может.

На сегодняшний день «догма» свелась, по-видимому, к довольно скромному утверждению, что не существует системы прямого и непосредственного перевода приобретенных фенотипических признаков с «языка» белков, морфологических структур, физиологических и поведенческих характеристик на «язык» ДНК.

Если в ходе жизни приобретается полезный признак (напр., натренированная мышца или полезный навык), то нет способа так изменить последовательность нуклеотидов в ДНК половых клеток, чтобы потомство родилось уже с готовым признаком.

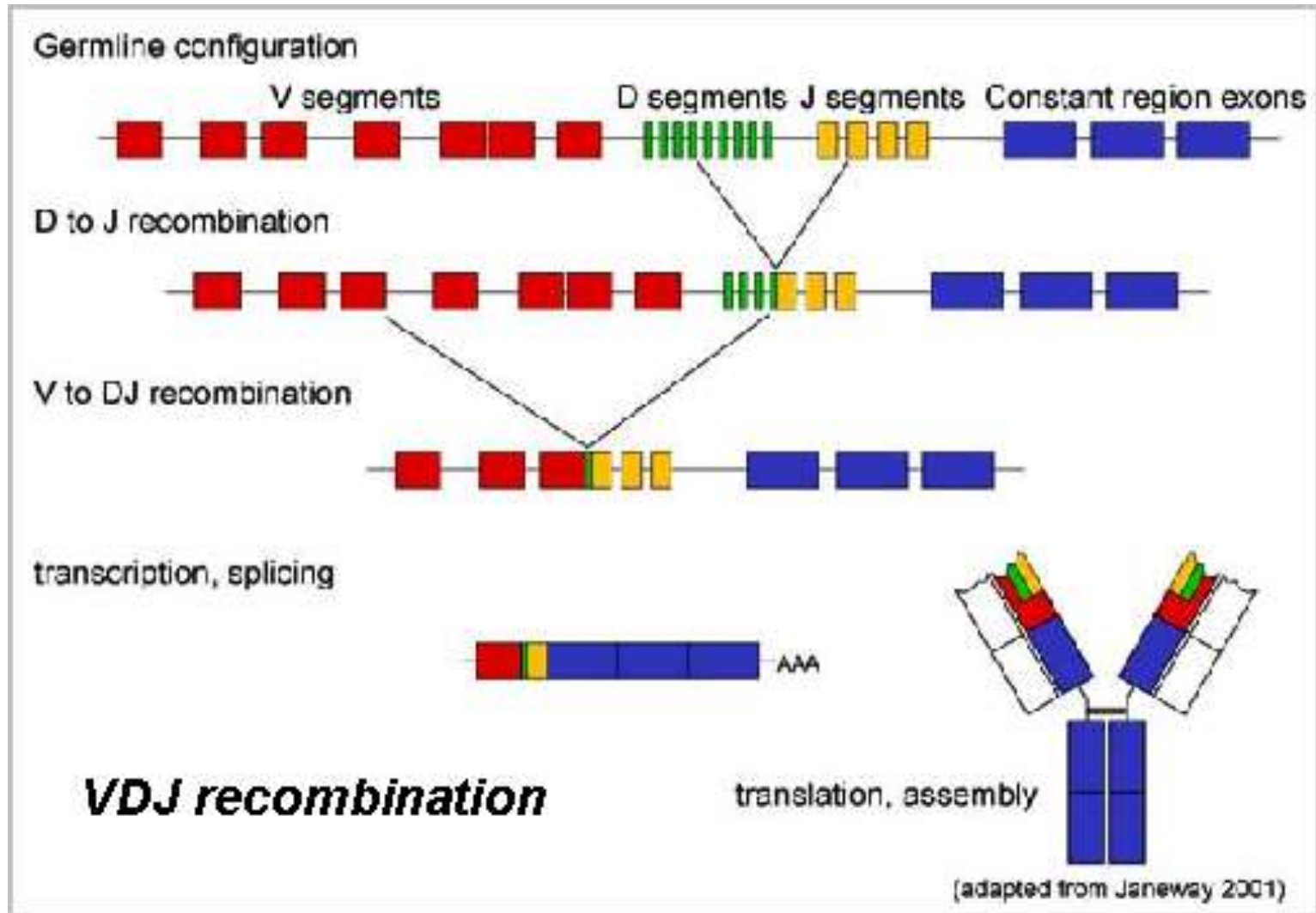
Хотя есть ряд окольных путей, ведущих к похожему результату.

Мутации всегда абсолютно случайны

В ходе эволюции у разных организмов появился ряд средств, позволяющих **частично** контролировать и направлять мутационный процесс.

- Возможный контроль частоты мутирования (у бактерий есть полимеразы с разной точностью работы, которые могут экспрессироваться в зависимости от обстоятельств);
- Создание новых генов путем комбинирования «заготовок» (в иммунной системе позвоночных);
- Конверсия генов (замена одних вариантов гена на другие) – у паразитов как средство борьбы с иммунной системой; у полиплоидных прокариот – как средство борьбы с мутационным грузом;
- Контролируемая перестройка генома на основе РНК-матриц у инфузорий;
- Метилирование ДНК как потенциальное средство регуляции мутагенеза;
- Природная генная инженерия (*Agrobacterium*); вирусы; МГЭ
- CRISPR: контролируемое редактирование собственного генома у прокариот – наследуемый приобретенный иммунитет

VDJ - рекомбинация. Гены антител формируются в В-лимфоцитах путем вырезания участков из геномной ДНК. Процесс напоминает альтернативный сплайсинг, но идет на уровне ДНК, а не РНК.

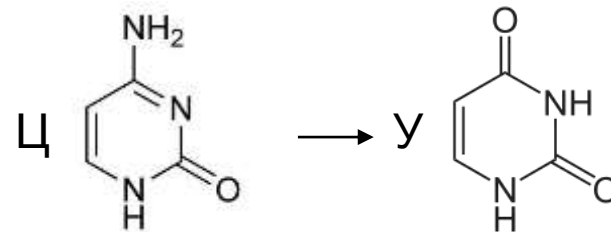


- За счет этой комбинаторики формируется множество разных В-лимфоцитов, продуцирующих множество разных антител.
- Каждый лимфоцит производит один тип антител.
- В-лимфоциты размножаются делением, как амебы. Лимфоциты – потомки одного и того же «предка» называются **клоном**. У каждого клона – свое антитело.

- На ранних этапах развития организма происходит отбор (**клональная селекция**) лимфоцитов на НЕспособность их антител связываться с собственными молекулами организма (чтобы не было аутоиммунных реакций). Те клоны, которые связываются со «своими» антигенами, отбраковываются, остальные – размножаются.
- В результате получаем большой набор клонов лимфоцитов, чьи антитела связываются с чем угодно, только не с собственными молекулами организма.
- Это – первый этап. Далее, когда в организм попадает инфекция, осуществляется более точная «подгонка» гена антитела к конкретному антигену.
- Подгонка осуществляется путем **соматического гипермутирования** и отбора (настоящая дарвиновская эволюция, только на уровне отдельных клеток организма, и к тому же тщательно контролируемая).

Соматическое гипермутирование

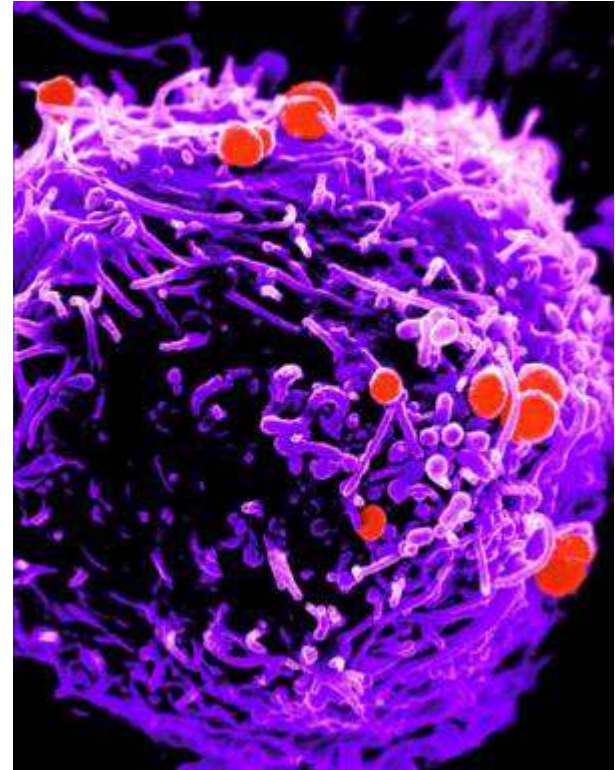
- Процесс «тонкой подгонки» гена антитела к конкретному антигену
- Фермент цитидин-деаминаза (“mutator enzyme”) атакует цитозины в V-области, превращая их в урацилы.



- Это привлекает ферменты репарации, которые вырезают урацилы вместе с прилегающими нуклеотидами, а затем восстанавливают вырезанный кусок, но делают это с множеством ошибок.
- На основе измененного гена синтезируются антитела.
- Те лимфоциты, чье антитело хорошо подходит к антигену, усиленно размножаются (**отбор**, или клональная селекция).
- Результат – приобретенный иммунитет.
- Мутации по-прежнему «случайны», но время и место их возникновения контролируются. В сочетании с клональной селекцией результат этих «случайностей» оказывается вполне определенным.

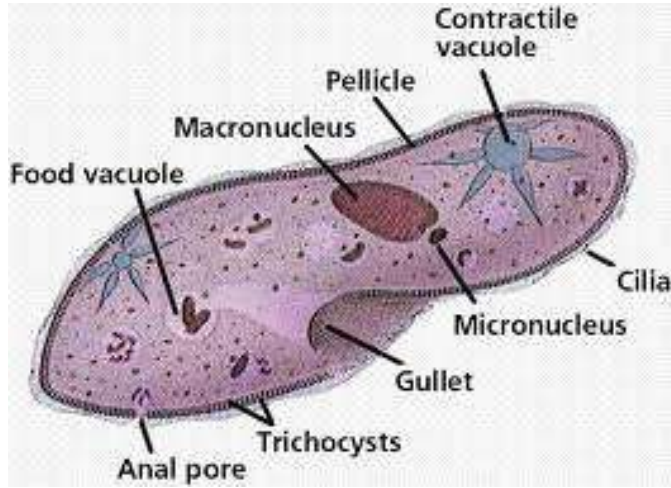
Перестройки генома у паразитов

- Чтобы защититься от иммунной системы, многие паразиты (бактерии, грибы) время от времени изменяют гены своих поверхностных белков.
- Для этого используются неработающие «запасные копии» этих генов (псевдогены), немного различающиеся.
- Участок копии вставляется вместо соответствующего участка рабочего гена (gene conversion).

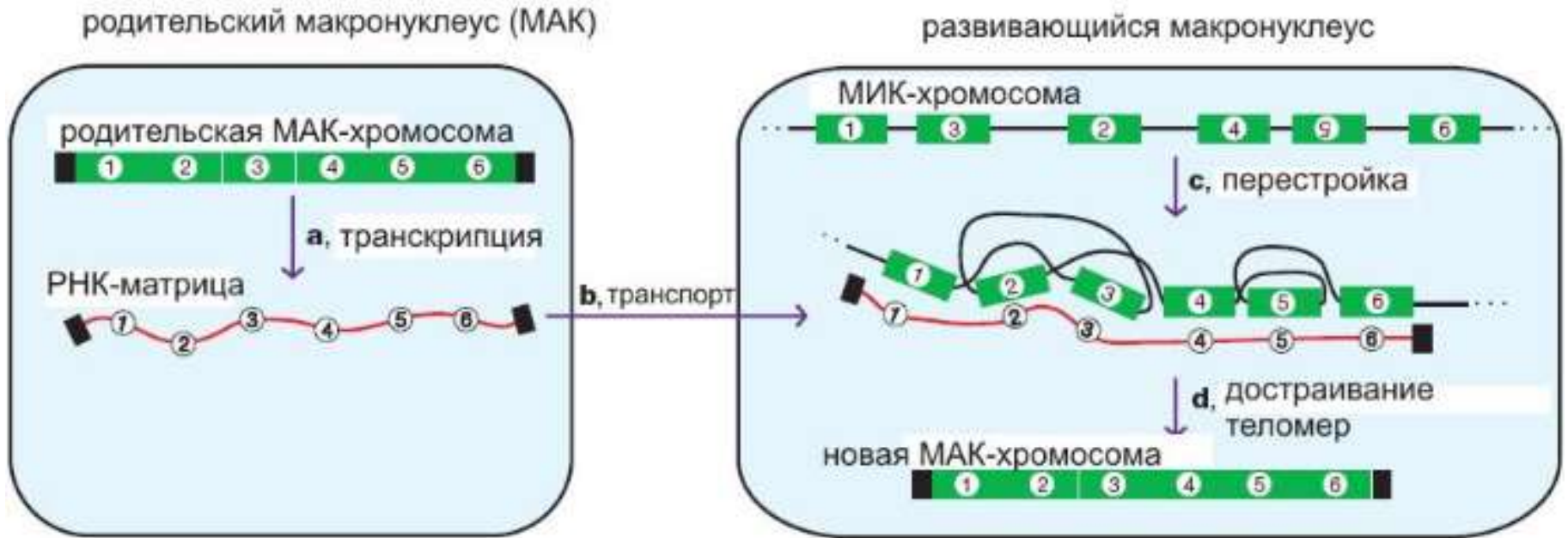


Гонококки на поверхности лимфоцита: два старинных врага, борющихся друг с другом одним и тем же оружием (прижизненная перестройка генома)

Перестройка генома у инфузорий



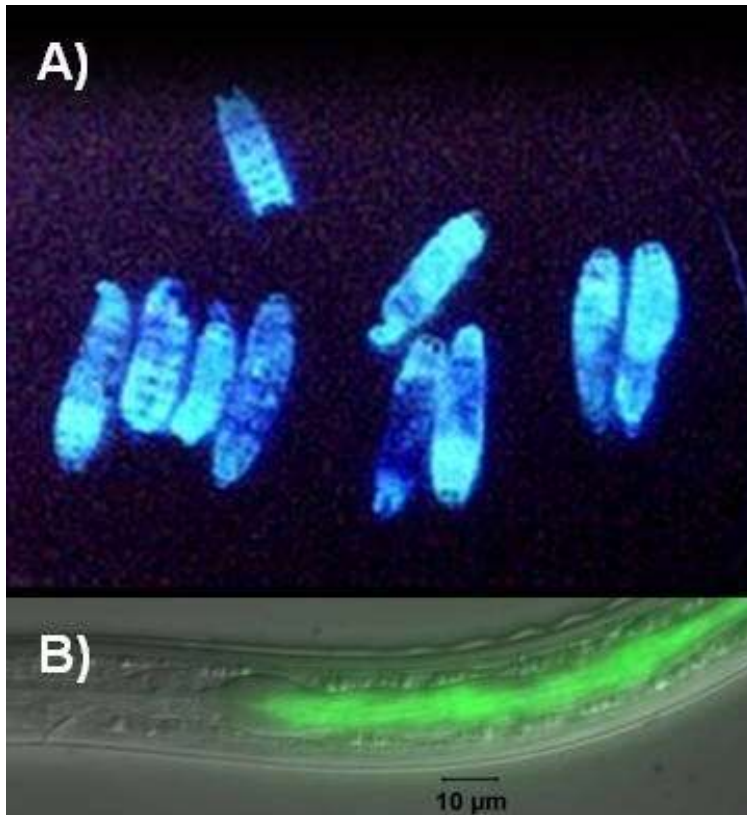
- *Oxytricha*
- Микронулеус и макронуклеус, генеративный и вегетативный геном
- Геном микронуклеуса в нерабочем состоянии (фрагменты генов перепутаны)
- Конъюгация: геном макронуклеуса разрушается и формируется заново
- Гены «распутываются» по РНК-матрицам
- Важная часть наследственной информации (о последовательности фрагментов генов) передается молекулами РНК



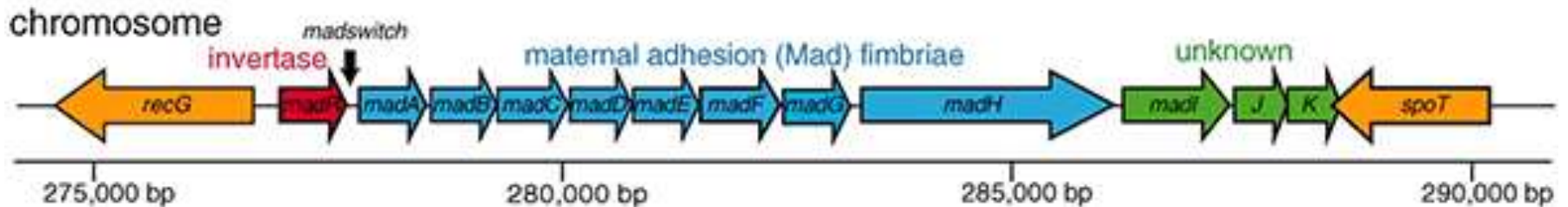
Дополнительные соображения по поводу перестройки генома у *Oxytricha*

- Наличие универсального механизма «распутывания» генов делает мутации, еще сильнее перепутывающие фрагменты генов МІС-генома, нейтральными. Это ведет к еще большему перепутыванию (общее правило: появление эффективного «лекарства» от какой-либо напасти выводит напасть из-под действия отбора и позволяет ей бесконтрольно разрастаться)
- При сборке МАС-хромосом эффективно удаляется весь «мусор» из ДНК (мобильные элементы и некодирующие участки). Т.е. это технически возможно. А раз не делается, значит, по-видимому, не очень нужно.

Бактерия превращается из симбионта в паразита, обратимо меняя свой геном

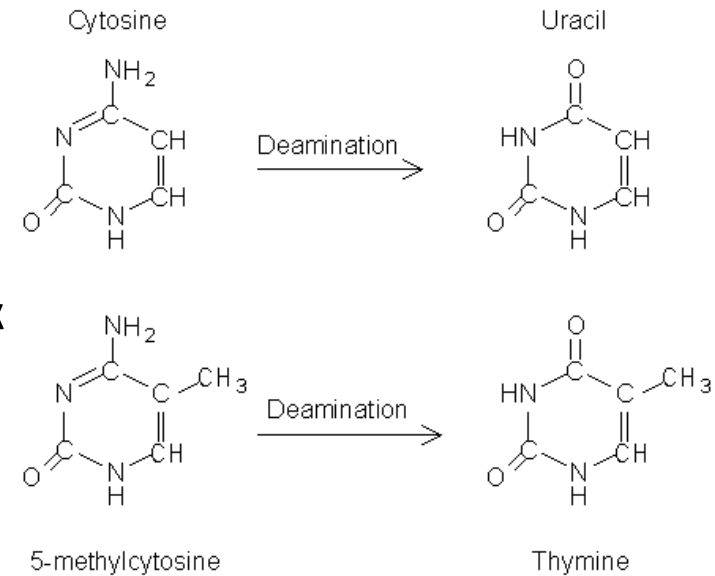


Вверху: гусеницы бабочки *Galleria mellonella*, убитые светящейся бактерией *Photorhabdus luminescens*. Внизу: те же бактерии, мирно живущие в кишечнике круглого червя *Heterorhabditis bacteriophora*.



Метилирование ДНК

- Метилируются цитозины.
- Метилирование промоторной области гена, как правило, снижает его активность (т.е. ген реже транскрибируется или вовсе выключается).
- «Рисунок метилирования» может **наследоваться** при репликации ДНК, т.е. дочерние молекулы метилируются так же, как родительская. Такое наследование неустойчиво, метилирование может быть снято. Однако это – одна из потенциальных возможностей «наследования приобретенных признаков».
- Метилированные цитозины становятся «горячими мутационными точками»: они склонны самопроизвольно превращаться в тимины (Т).
- Поскольку метилирование – регулируемый процесс, получается, что клетка в принципе могла бы регулировать вероятность мутирования в определенных точках своего генома еще и таким способом.



При дефиците кофактора аденозил-метионина ДНК-метилтрансферазы начинают работать как «ферменты-мутаторы» (цитидин-деаминазы), превращая Ц в У. Тот же эффект – в результате мутации, нарушающей связывание кофактора.

(Shen et al., 1995. A mutant HpaII methyltransferase functions as a mutator enzyme)