

## Концепция эпигена 20 лет спустя

М. Д. Голубовский

Институт истории естествознания и техники РАН  
199034, С. Петербург, Университетская набережная, 5

---

*Рассмотрен параллелизм в становлении понятийного аппарата, применяемого при изучении структурной и динамической наследственной памяти. Гену как элементарной единице структурной наследственности соответствует концепция эпигена (Чураев, 1975), необходимая при описании эпигенетической изменчивости. В логическую схему эпигена естественным образом входят независимо предложенные разными авторами производные понятия: эпигенотип, эпипаллель, эпигетерозигота, эпимутация, эпивариация. Показано, что причины организации и функционирования эпигенов у фага лямбда (плюс и минус авторегуляция, альтернативность промоторов, сложность рецепторной промоторной зоны, кооперативность) справедливы для разных эпигенов бактерий и эукариот. В качестве примеров рассмотрены транспозоны-эпигены Tn3 у бактерий, Spt у кукурузы, P-элемент дрозофилы, а также ключевой ген — переключатель пола Sxl у дрозофилы. Концепция эпигена обладает несомненной эвристической ценностью при истолковании разных форм неканонической менделевской наследственной изменчивости (парамутации, поведение транспозонов, импринтинг, косупрессия генов при трансгенозе и др.), при планировании диагностических экспериментов и с точки зрения эволюционной теории.*

---

Цель настоящей статьи — привлечь внимание к концепции эпигена, сформулированной около 20 лет назад и разработанной в последующие годы [1-4], а также обсудить некоторые концептуальные аспекты, связанные с ее возникновением и некоторыми важными следствиями на современном уровне развития генетики.

Репертуар генетических эффектов, относящихся к сфере эпигенетической изменчивости, непрерывно расширяется [5—14]. Регуляция поведения транспозонов, особенно у эукариот, может быть понята только в рамках эпигенетической изменчивости [15—21]. Для ряда ключевых генов, контролирующих важные этапы онтогенеза у эукариот, обнаружено явление авторегуляции, что является имманентным свойством для систем типа эпигенов [22—24]. Генетическая регуляция пола у эукариот, механизмы, определяющие выбор половой дифференциации, оказались в принципе сходны с механизмами выбора между литическим и лизогенным режимами фага лямбда [25]. Именно эта генетическая система была использована для формулировки и разработки концепции эпигена. Загадочное явление косупрессии гомологичных генов, обнаруженное в начале 90-х годов при исследовании трансгенных растений [11, 26, 27], теоретически было предсказано еще в 1961 в одной из провидческих двухоперонных моделей Моно и Жакоба [28].

Эпигенетическая изменчивость: гносеологический парадокс. В обширной литературе по проблеме эпигенетической изменчивости обнаруживается

один концептуальный парадокс. Наряду с терминами «эпигенетика» и «эпигенетическая изменчивость», возникшими уже в конце 50-х годов [29, 30], в той или иной степени позднее получили распространение производные понятия: эпигенотип [29, 31—33], эпимутация [7, 17] и даже эпиллель — термин, впервые использованный в конце 70-х годов Кермайклом [11, 33]. Но термин «эпиген», который именовал бы элементарную наследственную единицу, лежащую в основе эпигенетической изменчивости, еще не вошел в научный оборот. Причины этого разные, но часть из них лежит в чисто гносеологической сфере.

Научные понятия, как очевидно из истории науки, нередко возникают вовсе не в той последовательности, в которой они затем самоорганизуются или логически выстраиваются исследователями. В ходе последней процедуры нередко трансформируется оригинальный, авторский смысл термина или понятия. Термин «ген», к примеру, возник позже, чем название науки генетики, изучающей все, что происходит с генами. И даже понятие «аллеломорф» в смысле альтернативной формы гена появилось ранее, чем сам термин «ген»!

В этом смысле концепция эпигена возникла, казалось бы, вовремя (во всяком случае ранее, чем появившиеся затем понятия «эпимутация» и «эпиллель»). Но, к сожалению, оригинальная статья, где были изложены основные положения этой концепции, осталась практически неизвестной, будучи напечатанной в малотиражном ротапринтном издании [1]. И хотя суть концепции эпигена была затем кратко изложена по-английски, но лишь как один из разделов большой статьи в специализированном сборнике работ по математической биологии [34]. Резонанса не получилось. Принятие и распространение в сообществе свежей идеи обычно требуют определенного уровня ее амплификации, причем разными авторами.

Представляется, что основные положения концепции эпигена не только выдержали испытание временем, но следствия из нее весьма эвристичны и могут помочь концептуальному осмыслению многих необычных факторов современной молекулярной генетики. Поэтому готовящийся к публикации полный английский перевод оригинального варианта статьи «Гипотеза об эпигене» [1] заполнит имеющуюся лакуну в этой области, а также закрепит приоритет автора.

**Ген и эпиген: концептуальные параллели.** Процесс познания связан, как свидетельствует история науки, не только с обнаружением неизвестных ранее факторов и явлений, но и с концептуальными новациями и открытиями. Рамки последних обширны: от построения новой системы постулатов до введения новых способов описания и символического представления данных и создания (изобретения) новых терминов. О тайной силе, которую имеет новый удачный термин, прекрасно писал в начале века Пуанкаре: «Удивляешься силе, которую может иметь одно слово. Вот объект, о котором ничего нельзя было сказать, пока он не был окрещен; достаточно было дать ему имя, чтобы произошло чудо. Каким образом это происходит? Это происходит потому, что, давая ему имя, мы тем самым неявно утверждаем, что объект существует...» [25].

Мендель не только открыл законы наследования признаков и постулировал существование дискретных наследственных зачатков. Мендель ввел новые способы описания гибридов, включая индивидуальный анализ, анализирующие скрещивания, количественный учет потомков. Важнейшим его концептуальным нововведением была буквенная символика для обозначения контрастных пар признаков, характера их доминирования, комбинирования и поведения у гибридов. Эта символика чрезвычайно облегчила анализ сложных случаев расщепления и генетико-популяционный анализ.

Процессы возникновения, становления и семантической эволюции по-

нятий нередко запутанны и непредсказуемы. Сейчас, говоря о «мутации гена», уже трудно представить, что термины «ген» и «мутация» возникли независимо друг от друга и при том вне связи с каким-либо определенным материальным носителем. Термин «генетика» был изобретен У. Бэтсоном в 1906 году, а в 1909 году Иогансен придумал термин «ген». Почему возник такой парадокс, что название науки о наследственности появилось раньше, чем именование ее элементарной единицы?

Генезис термина «ген» восходит к Дарвину. В 1868 году он предложил гипотезу «пангенезиса», согласно которой каждый орган делегирует в будущие половые клетки некие наследственные частицы (геммулы). Прошел 21 год и Гуго де Фриз в своей книге о внутриклеточном пангенезисе ввел понятие «панген» для обозначения зачатков элементарных наследственных признаков, которые характеризуют каждый вид. И, наконец, спустя еще 20 лет в 1909 году Иогансен предложил взять от составного термина де Фриза «панген» только вторую часть («ген») для того, чтобы выразить «нечто» в конституции гамет, что обуславливает или может обуславливать свойства развивающегося организма. Термин «ген» привлек Иогансена прежде всего его семантическим удобством, краткостью и легкостью комбинирования с другими терминами.

Иогансен сразу же создает свое ключевое производное понятие: «применяя теперь слово «ген» в связи с «типом», получим «генотип» — тип, представляющий совокупность всех наследственных зачатков. Генотип может быть противопоставлен фенотипу» [36]. Впоследствии Иогансен столь же удачно сократил Бэтсоновский термин «аллеломорф» (альтернативная форма гена) до более краткого и ныне общепринятого «аллель» (мужской род, если следовать этимологии).

Генотип, вся наследственная конституция, была в центре внимания Иогансена. Вполне современно звучат его слова, что «живой организм нужно понимать как целую систему не только во взрослом состоянии, но и в течение всего его развития» и что признаки организма определяются «всей совокупностью генотипической конституции зиготы» [36]. Автор одного из главных в науке о наследственности и изменчивости термина предупреждал не забывать «об уничтожающей относительности» таких выражений, как «ген, обуславливающий один какой-либо признак» [36].

Иогансен вводил в 1909 году термин «ген» лишь как удобную фикцию для обозначения и описания фенотипической дискретности в проявлении генотипа. Поэтому он с некоторым смущением писал в 1926 г. в предисловии к 3-му изданию своих знаменитых лекций [36], что «мое маленькое словечко «ген» в его отчетливом значении, по-видимому, пользуется теперь всеобщим признанием; и после того, как Морган его вновь ввел в употребление, я его применяю в этих лекциях везде там, где оно уместнее, чем имеющее несколько смыслов слово «фактор». Впоследствии термин «генотип» стал употребляться и в более узком смысле для обозначения генетической структуры или формулы какого-либо организма в отношении изучаемых признаков при анализе скрещиваний.

Морган «материализовал» ген, ассоциировав его с определенным локусом хромосом. В хромосомной теории наследственности оказались материализованными и мутации де Фриза, которые предстали как разнообразные изменения структуры генетических локусов, их числа или расположения. Открытие ДНК как вещества наследственности, сосредоточия генов, было триумфом линии Менделя — Моргана. Этот триумф, однако, цементировал более узкое, чем исходное у де Фриза, представление о мутациях. Чуткий к семантическому полю терминов С. С. Четвериков в своей классической статье «О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения генетики» предпочитал говорить не о мутациях, а о геновариациях, т. е. об

определенных наследственных изменений в моргановском смысле — генных, хромосомных и геномных. Хотя термин «геновариация» не был принят исследователями и остался в истории науки, вторая часть, «вариация», может быть использована для обозначения неканонических наследственных изменений, связанных с факультативными элементами: вариации в числе и топографии повторенной ДНК, амплификации, массовые транспозиции и т. д. [16, 37, 38].

Общераспространенным и потому как бы единственно возможным стало моргановское классическое представление о мутациях и сведение к ним всего спектра вновь возникающих наследственных изменений. Этим, в частности, объясняется многолетний скепсис к выдвинутой в начале 50-х годов концепции МакКлинток. Скепсис был отнюдь не к фактам! В их достоверности, пожалуй, мало кто сомневался, ибо авторитет МакКлинток как цитогенетика оставался непрекаем. Скепсис был именно по отношению к ее новым необычным концептуальным положениям: о существовании в геноме особых контролирующих элементов, которые не имеют строгой локализации, о наследуемых обратимых состояниях генов, которые связаны не с изменениями их структуры, а вызваны внедрением в район их расположения подвижных элементов.

Концепция МакКлинток получила полное признание лишь в конце 70-х годов опять-таки после «материализации» постулированных ею контролирующих элементов. Они были обнаружены у прокариот и эукариот в разных воплощениях (инкарнациях) — в виде инсерционных сегментов, транспозонов, плазмид. Вирусы, прежде всего, ретровирусы и умеренные фаги также можно отнести к мобильным элементам [15]. Было предложено рассматривать геном как популяцию из двух типов генетических элементов: облигатных и факультативных и соответственно выделять два резко отличных по характеру и частотам возникновения типа наследственных изменений: мутации — для облигатных элементов и вариации — для факультативных. Можно говорить о «мобильной генетике», выводы которой эвристически полезно сопоставить с постулатами классической генетики [37, 38].

Становление смыслового поля понятий в области динамической или эпигенетической наследственности в определенной мере повторяет извилистый путь понятий классической генетики. И здесь само название области исследований — «эпигенетика», прилагательное «эпигенетический» и термин «эпигенотип» появились гораздо раньше, чем было предложено (и еще не стало общераспространенным) название элементарной единицы динамической наследственности эпигена [1].

Термин «эпигенетика», по свидетельству Уоддингтона, был изобретен им в 1947 году как производное от аристотелевского «эпигенез». Уоддингтон предложил «называть эпигенетикой ветвь биологии, изучающую причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип» [34]. Эпигенетика в аспекте онтогенеза включает два основных направления: изучение и анализ с позиций генетики клеточной дифференцировки и геометрической формы (морфогенез). Элементарным событием дифференцировки могут быть процессы репрессии и дерепрессии генов, а элементарными событиями морфогенеза — определение третичной структуры белков и слабых взаимодействий между ними [39].

Уоддингтон ввел также представления об «эпигенетическом ландшафте» и о множественности «эпигенетических траекторий», потенциально возможных для одного генотипа. «Фенотип можно рассматривать по существу как возможность выбора из нескольких путей реализации информации, передаваемой через ДНК хромосом» [39].

В конце 50-х годов исследователи в области генетики простейших и генетики соматических клеток ввели в обиход понятие «эпигенетическая

изменчивость» [29, 30]. Сюда относятся разнообразные наследуемые обратимые изменения генотипа, не сопровождаемые изменениями структуры генетического материала [31, 32, 40]. Производное понятие «эпигенотип» стало употребляться разными авторами в несколько разных смыслах. Так, Уоддингтон [39] сочувственно цитирует высказывание зоолога и эволюциониста Майра (1963 год) о том, что фенотип следует рассматривать «как совокупный продукт сложной взаимодействующей системы — целого эпигенотипа». Заметим, что подобный обобщающий подход был очевиден уже для Иогансена.

Термин «эпигенотип» в более определенном смысле, как указывает Эфрусси, был введен в 1976 г. Аберкромби (Abercrombie) для обозначения той части суммарного генома, которая функционально активна в данном типе дифференцированных клеток. «Используя это понятие, мы можем сказать, что различные типы клеток обладают различным эпигенотипом» [30]. К середине 70-х годов терминология в области изучения динамической наследственности стабилизировалась. Вахтин [31] предложил «пользоваться для обозначения наследуемых на клеточном уровне изменений генной активности термином «эпигенетическая изменчивость», а для обозначения совокупности активных в клетке генов — термином «эпигенотип»»

С позиций клеточной наследственности к эпигенетическим изменениям относят широкий класс явлений. Сюда входят явления тканевой детерминации в ходе онтогенеза, феномен трансдетерминации, исследованный Хадорном на имагинальных дисках дрозофилы, наследуемый полиморфизм клонов соматических клеток, изменение антигенных вариантов у простейших, характер возникновения и наследственного поведения самых разных признаков у амёб, инактивация X-хромосом у млекопитающих и феномен хромосомного и генного импринтинга [12, 29, 30, 33, 40].

Эпигенетические изменения, возникаемые в онтогенезе многоклеточных эукариот, способны передаваться не только в рамках клеточной наследственности (сома), но и через половое размножение. Еще в 60-е годы Бринк на кукурузе открыл феномен «парамутации», когда один аллель (парамутабельный), будучи единожды в гетерозиготе с другим аллелем (парамутабельным), закономерным образом с частотой свыше 90 % меняет характер своего выражения и сохраняет это новое измененное состояние в ряду поколений [41]. Сюда же относятся замечательные данные Светлова [42] на дрозофиле и мышах о наследовании в ряду поколений измененной экспрессивности определенных мутантных генов при однократном температурном воздействии на материнскую ооплазму.

Открытие в начале 60-х годов Жакобом и Моно [43] принципов регуляции действия генов, их подразделения на структурные и регуляторные, их организации в опероны трансформировало представление о наследственности. Жакоб и Моно основали положение о необходимости включать в сферу наследственности, в понятие геном не только структурную, но и динамическую память — «координированную программу синтеза белков и способы, которыми этом синтез контролируется» [28]. Два сообщения этих авторов, доложенные ими на симпозиуме в Колд Спринг Харбор в 1961 г., с полным основанием можно именовать как «величайший интеллектуальный взлет» [44]. Было показано, каким образом клетка может целенаправленно переключаться с одной наследственной программы функционирования на другую в зависимости от метаболической ситуации.

Концептуальный смысл своих открытий, доложенных на симпозиуме в 1961 году, Моно и Жакоб суммировали в итоговых размышлениях, красноречиво названных: «Общие заключения: телеономические механизмы клеточного метаболизма, роста и дифференцировки». Фейерверк содержащихся там идей в значительной степени определил направление исследований в

области генетической регуляции в последующие десятилетия. Приведу лишь один пример.

Четкое понимание того, что должны быть особые регуляторные гены, способные менять свое состояние (не меняя структуры) в ответ на сигнал со стороны генома или среды, сдвинуло с мертвой точки концептуально застывшие с 20-х годов исследования в области генетики пола у дрозофилы и других эукариот. Целенаправленные поиски ключевого гена — регулятора пола, который способен менять свое состояние в зависимости от состава хромосомы зиготы, привели к открытию такого гена. У дрозофилы им оказался ген *Sex-lethal (Sxl)*, который у самок должен быть активен, но инактивирован у самцов. Этот выбор состояния *Sxl*-гена передается по каскадной цепи другими генами к факторам дифференцировки пола гонад и других соматических тканей [25].

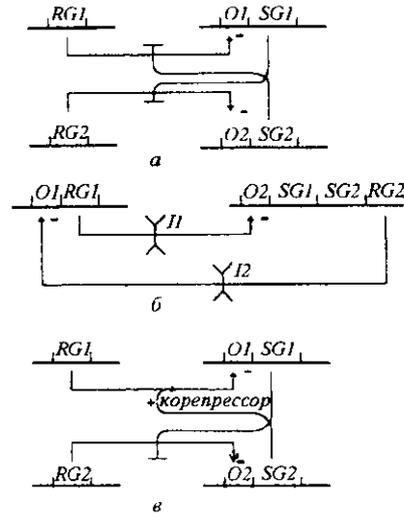
В контексте концепции эпигена необходимо остановиться на замечательной серии моделей генной регуляции, которые создали Моно и Жакоб с целью показать, как открытые на микроорганизмах принципы регуляции могут решить главный парадокс дифференцировки: потенциальное существование на базе одного генотипа множества программ и их актуализацию, т. е. способы выбора альтернатив. Основное звено моделей Моно и Жакоба — циклические системы с обратными связями между продуктами генов-регуляторов и структурных генов. Хотя их модели представляли собой, по их словам, «воображаемые цепи» («imaginary circuits»), авторы справедливо подчеркивали, что «элементы этих цепей вовсе не воображаемые», а имеют реальные аналоги в исследованных уже к началу 60-х годов некоторых генетических системах.

Самым простым вариантом цепи является метаболическая схема с обратной связью, формально идентичная модели, которую предложил еще в 1949 году Дельбрюк для концептуального истолкования результатов опытов Соннеборна по переключению антигенов у парамеций. Это модель так называемого аллостерического ретроингибирования, когда есть две независимые метаболические цепи, и конечный продукт синтеза одной цепи ингибирует первое звено синтеза другой цепи. Такая система способна переключаться с одного состояния на другое в зависимости от метаболической обстановки. Если случайно одна из цепей получает метаболическое преимущество, то она становится функциональной, подавляя вторую цепь. Переключение может быть достигнуто самыми разными способами.

В модели 2 обратная связь конструировалась таким образом, что продукт определенного структурного гена инактивировал продукт гена-регулятора, который репрессировал этот же структурный ген. Такая система может служить простейшим примером автокаталитической и самоподдерживающейся системы. В отсутствие метаболической блокады репрессора данный генпродукт не синтезируется, система заблокирована. Временный контакт с индуктором, в роли которого прежде всего может выступать добавленная извне порция продукта регулируемого структурного гена, деблокирует систему, переключает ее в постоянно активное состояние. Поразительно, но эта воображаемая система была затем обнаружена у ряда генов, контролирующих размножение фага лямбда. Как выяснено в недавнее время, свойствами авторегуляции (скорее всего, на уровне транскрипции, а не на уровне метаболических взаимодействий) обладают многие ключевые гены гомеостазиса у дрозофилы, а также локус *тuoD* у мыши и другие гены млекопитающих. Авторегуляция может происходить и на уровне транскрипции, и на уровне сплайсинга [5, 45].

В следующих трех модельных системах Моно и Жакоб получили удивительные режимы работы. В модели 3 возникал эффект взаимного исключения, когда присутствие продукта одного гена блокировало актив-

Рис. 1. Модели динамической наследственности на основе циклических регуляторных связей между генами, в которых возможно переключение на альтернативные режимы функционирования и запоминание клеткой химических событий (по Моно и Жакобу [28]; обозначения: *O* — операторный участок; *SG* — структурный ген; *RG* — регуляторный; *I* — индуктор): *a* — взаимодействие на уровне метаболитов с перекрестным антисупрессорным действием: временное выключение или элиминация продуктов генов *SG1* или *SG2* ведет к их постоянной взаимной супрессии; *б* — взаимодействие на уровне транскрипции, регуляторный ген одной единицы транскрипции (оперона) подавляет оператор другой; в системе устойчиво активен либо один, либо другой оперон с возможным переключением режимов под действием эндогенных или экзогенных индукторов; *в* — взаимодействие на уровне транскрипции и метаболитов с попеременной активностью то одной, то другой единицы транскрипции



ность другого и наоборот. В модели 4 возникал эффект косупрессии: временная элиминация продукта какого-либо одного гена или его временная инактивация выключала обе ген-ферментные системы! (рис. 1, *a*). Предсказанный феномен взаимного исключения был недавно обнаружен и изучен в опытах с трансгенными растениями [11, 26, 27]. Наконец, в одном двухоперонном конструкте с обратными связями (модель *б*) возникал колебательный режим, когда регулярно включается то один, то другой оперон (рис. 1, *в*).

Во всех вышеописанных двухоперонных моделях переключение с одного режима на другой зависело от метаболической активности продуктов структурных генов каждого из регулируемых оперонов. Поэтому каждый из альтернативных режимов не был достаточно устойчивым. Эффект устойчивости, относительной независимости альтернативных режимов от метаболической ситуации был достигнут в гениально сконструированной двухоперонной модели 5, показанной на рис. 1, *б*. Здесь постулируется взаимная регуляция на уровне транскрипции, когда степень транскрипции самих генов-регуляторов зависит или находится под контролем продуктов контролируемых ими ген-ферментных систем. Эта система способна уже и к устойчивому сохранению каждого из режимов в ряду клеточных поколений, и к переключению с одного режима на другой под действием временных контактов с каким-либо индуктором. Подобный теоретический конструкт был вскоре реально обнаружен при изучении регуляции выбора литического или лизогенного режима фага лямбда.

Моно и Жакоб постулировали, что подобные модели дают возможность объяснить процесс «почти мгновенной и более или менее устойчивой «меморизации» клетками химического события. Сама проблема памяти может быть успешно рассмотрена с этих позиций» [28]. В связи с созданными моделями авторы обсуждали разные аспекты динамической памяти, связанные с событиями клеточной дифференцировки или малигнизации. Начальное, пусковое событие малигнизации вполне может быть эпигенетическим. Оно переключает параметры клеточного цикла будущей раковой клетки в сторону его независимости от систем тканевой регуляции. Затем может происходить селекция онкогенных мутаций, усиливающих эту неза-

висимость. «Очевидно, что большой спектр агентов, от вирусов до канцерогенов, может быть ответствен за подобное начальное событие» [28]. По существу к сходному выводу пришли и некоторые современные исследователи [31, 32, 46, 47].

Следующий важный шаг в области теории генной регуляции и изучения динамической наследственности представляет собой концепция эпигена. Настоящие соображения предваряют публикацию сделанного впервые перевода на английский язык (Биополимеры и клетка, 1997, 13, № 1, в печати) полного текста оригинальной статьи Р. Н. Чураева [1] с изложением концепции эпигена. Эта статья несет все признаки концептуального открытия: сформулировано центральное понятие — эпиген, введена система символики, сформулированы следствия и предсказания, рассмотрены конкретные нетрадиционные ситуации в сфере неканонической наследственной изменчивости, для объяснения которых концепция эпигена может быть эвристической и плодотворной.

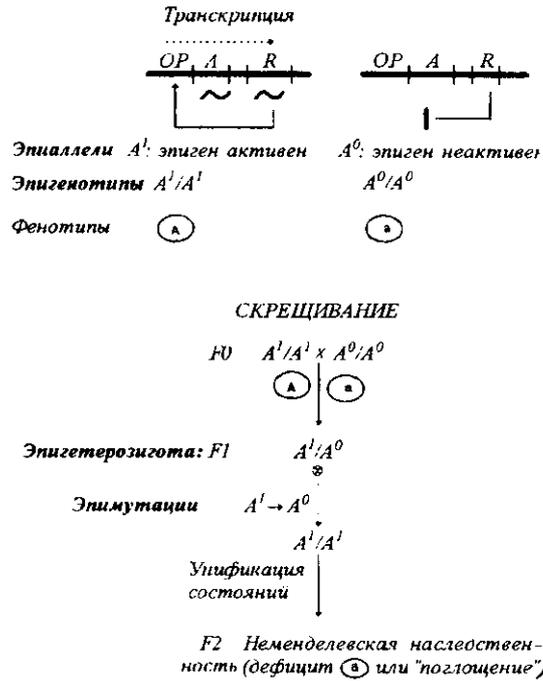
**Эпиген: понятийная и логическая схема.** Эпигеном была названа наследственная единица, циклическая система, имеющая не менее двух режимов функционирования подчиненных ей генов, способная сохранять каждый из режимов в последовательном ряду поколений [1]. Эпиген, который включает одну единицу транскрипции, является однокомпонентным. В этом случае цикл обратной связи осуществляется за счет авторегуляции. Обратная связь может быть позитивной или негативной. Возможны двухкомпонентные эпигены, подобные системе, изображенной на рис. 1, б, и более сложные их композиции [1, 2]. Понятие «эпигенотип» в рамках концепции впервые получает не размытый, а более конкретный смысл как перечень генов, входящих в эпигены с указанием их состояния. Состояния эпигена можно обозначать символами входящих в него генов с обозначением  $A^1$  — активное и  $A^0$  — неактивное состояние гена  $A$ , который контролирует изменения данного признака [1].

Введение подобной символики позволило провести интересный логический анализ результатов скрещиваний разных эпигомозигот  $A^1A^1$  и  $A^0A^0$ , отличающихся по состоянию эпигена. В потомстве эпигетерозиготы  $A^1A^0$  (введение этого термина есть естественное логическое следствие концепции эпигена) теоретически предсказывается менделеевское наследование, когда наблюдается резкий дефицит одного из эпигенотипов вплоть до его «поглощения». Под эпигетерозиготами разумно понимать любые гибриды между константными эпигомозиготами, придав этому термину более общий смысл, чем в оригинальной статье [1].

Определив понятие эпигена, можно рассмотреть разные ситуации эпигенной изменчивости. На рис. 2 приведена блок-схема однокомпонентного эпигена с позитивной авторегуляторной связью на уровне транскрипции и дана полная система понятий для описания эпигенной изменчивости. В логическом соответствии с геном и его аллелями можно говорить об эпиаллелях или разных состояниях эпигена, обозначаемых как эпиаллели  $A^1$  и  $A^0$ . Понятие «эпимутация», введенное Холлидеем [7] для обозначения наследуемых обратимых изменений, соотносится с переключением эпигена из одного состояния в другое. Эпимутация происходит, например, при блокировании продукта гена-регулятора или при трансактивации неактивного эпиаллеля в клетках эпигетерозигот (см. рис. 2). Таким образом, понятия «эпиаallel» и «эпимутация», введенные независимо разными авторами при изучении эпигенетической изменчивости, легко вписываются в концепцию эпигена. Наблюдается удивительная параллель с тем, как «находили друг друга» понятия «ген», «аллель» и «мутация».

Введение понятия эпигена и его символическая презентация позволили уже на самых простых моделях выявить важные следствия. Так, если

Рис. 2. Однокомпонентный эпиген с позитивной авторегуляцией (логическая схема). Структурный ген *A* и ген-регулятор *R* входят в одну единицу транскрипции. Показаны два аллельных состояния эпигена и возможное поведение системы в потомстве эпигетерозигот. Слева: продукт гена-регулятора при связывании с операторно-промоторной областью активирует транскрипцию, синтезируются продукты генов *A* и *R*, показанные волнистой линией, это соответствует активному состоянию эпигена, эпиаλληля  $A^1$  и доминантному фенотипу (овал). Справа: в случае блокирования сигнала *R* транскрипции нет, эпиген неактивен, состояние  $A^0$ , репрессивный фенотип «а». При скрещивании фенотипически различных эпигомозигот в потомстве эпигетерозиготы  $A^1/A^0$  в части или большинстве соматических и зародышевых клеток происходит переключение от состояния  $FA^0$  к  $A^1$  за счет трансактивирующего действия продукта гена-регулятора *R*. Это переключение может быть обозначено, как эпимутация. При частичной и полной унификации состояний эпигенов наблюдается неменделевское наследование



имеются два структурно различных аллеля одного гена  $A1$  и  $A2$  и при этом генотипы гомозигот  $A1A1$  и  $A2A2$  отличаются как-то друг от друга и от гетерозигот  $A1A2$ , то мы имеем три разных генотипа. Если же аллели этого гена входят в состав эпигена, то возможны четыре эпиаλληля  $A1^1$ ,  $A1^0$ ,  $A2^1$ ,  $A2^0$ , шесть эпигенотипов и четыре класса фенотипов. В случае же аллельной специфичности продукта гена-регулятора к рецепторной зоне своего эпигена число эпигенотипов возрастает до восьми [1].

У двухкомпонентного эпигена репертуар возможных эпигенных изменений возрастает, при этом степень гонадно-соматического мозаицизма и распределение эпигенотипов в потомстве эпигетерозигот будут ткане- и видоспецифичны. Конечный результат расщепления в потомстве зависит от числа инициальных клеток и времени онтогенетической детерминации. Теоретический анализ поведения эпигенов у эукариот потребовал введение понятия латентности функционального состояния гена и инерционности процесса перехода от одного функционального состояния в другое [4].

Эпигены фага лямбда и эпигены эукариот. На примере фага лямбда впервые в генетике было открыто явление авторегуляции действия гена и функционирование двухоперонного триггера, образующего эпиген. В процессе роста и развития фага лямбда участвуют как минимум три эпигена: авторегулируемые однокомпонентные с генами-регуляторами *cl* и *cro* и двухкомпонентный эпиген, где *cl* и *cro* вовлечены во взаимодействия на уровне транскрипции [1, 2, 48]. Молекулярная детализация организации и функционирования эпигенов у фага лямбда оказалась чрезвычайно важна для понимания эпигенной (и более широко — эпигенетической) изменчивости у эукариот [8].

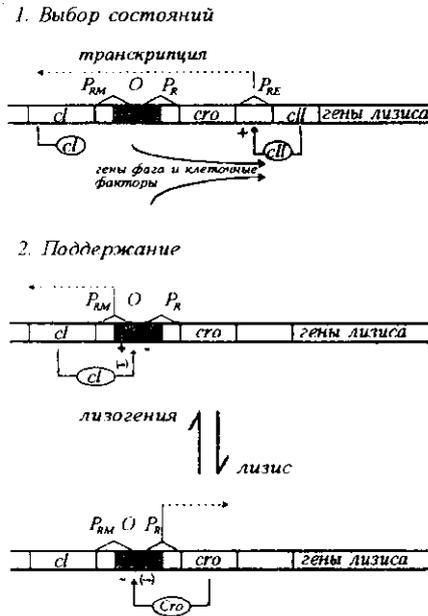


Рис. 3. Выбор альтернативных режимов и эпигены у фага лямбда. Выбор между лизогенной и лизисом зависит от состояний двух авторегулируемых эпигенов *cl* и *cro* и режима двухкомпонентного эпигена, в котором эти гены циклически связаны негативной регуляцией. Сигналом служит наличие или отсутствие продукта гена *cII*, который активирует ранний промотор  $P_{RE}$ . На схеме показано, как происходит выбор и поддержание лизогенной и переход к состоянию лизиса. Ген *cl* запускается с раннего промотора, активируемого сигнальным геном *cII*, стабильность его продукта совокупно зависит от фаговых и клеточных факторов. Затем продукт гена *cl* активирует собственный промотор поддержания  $P_{RE}$  (позитивная авторегуляция) и одновременно подавляет транскрипцию гена *cro* и всего каскада генов лизиса. Область оператора обозначена штриховкой, границы промоторов  $P_{RM}$ ,  $P_R$  и  $P_{RE}$  схематически указаны сверху. Оператор состоит из трех дискретных участков, которые частично перекрывают справа и слева промоторы  $P_R$  и  $P_{RM}$ . Продукт гена *cl* при повышении его концентрации приобретает свойство негативного авторегулятора, что указано знаком (-). Переход к состоянию лизиса связан с инактивацией продукта гена *cl* и снятием блока с транскрипции гена *cro* и генов лизиса. Дальнейшие пояснения даны в тексте

На рис. 3 показана блок-схема, из которой видно, как функционирование эпигенов, включающих гены *cl*, *cro* и *cII*, определяет выбор между альтернативными состояниями фага — лизогенным и литическим. В данном контексте мы остановимся лишь на некоторых принципиальных свойствах организации эпигенных систем, которые обнаружены и исследованы впервые у фага лямбда [48], но, по-видимому, встречаются и у эукариот.

*Транскрипция гена с разных промоторов: запуск и поддержание.* Для лизогенного режима необходимо, чтобы ген *cl* был постоянно включен, а ген *cro* (control of repression and other function) надежно выключен. И напротив, при режиме лизиса — ген *cl* выключен, а ген *cro* включен. Эта двухоперонная система, имеющая два альтернативных состояния, образует эпиген [1] и по характеру организации соответствует модели Моно и Жакоба, показанной на рис. 1, б.

Функционирование гена *cl* зависит от активности двух промоторов: раннего промотора  $P_{RE}$  и промотора поддержания  $P_{RM}$ . Для запуска гена *cl* нужна импульсная активность раннего промотора  $P_{RE}$ , который включается белковым продуктом гена *cII*. Затем активность гена-репрессора *cl* самоподдерживается за счет транскрипционной активации промотора поддержания  $P_{RM}$  белковым продуктом самого гена *cl*. Ранний промотор узнается РНК-полимеразой только в присутствии белковых продуктов гена *cII*, на активность которых влияют определенные гены фага и бактерии-хозяина, а также общая метаболическая ситуация в бактериальной клетке. Но если выбор состояния сделан и произошло импульсное включение раннего промотора (28 протомеров в минуту), то далее благодаря саморегуляции синтеза *cl* в клетке поддерживается постоянный уровень репрессора (3,7 протомеров в минуту), не зависящий от скорости роста [48, 49].

Белок является также цитоплазматическим иммунитетным репрессором, ибо блокирует размножение других фаговых частиц, попадающих в бактериальную клетку. В цитоплазме лизогенной бактериальной клетки содержится около 100 молекул белка-репрессора *cl* [48]. Известно явление зиготной индукции, когда мужская лизогенная клетка конъюгирует с женской нелизогенной. При этом фрагмент хромосомы из мужской клетки с фагом лямбда попадает в цитоплазму, где нет репрессора. В итоге динамический баланс сдвигается в сторону режима лизиса. Иными словами, в постконъюгационной эпигетерезоготе происходит переключение эпигена (эпимутация) за счет активации гена *cro* и затем каскадной активации генов лизиса.

Двухэтапная регуляция по принципу «запуск и самоподдержание», реализованная у фага, а также у ключевого гена детерминации пола у дрозофилы, была теоретически предсказана. Ратнер [49] сделал теоретический анализ возможного репертуара информационных молекулярно-генетических систем управления с прямыми и обратными связями. Одна из моделей, предложенных Р. Б. Хесиным, включает два перекрывающихся оперона (единицы транскрипции) с общим терминатором, одним геном-регулятором, альтернативными промоторами P1 и P2 и подчинением каждого из промоторов различным сайтам управления. После включения первого промотора P1 необходимость в нем отпадает, он нужен только для запуска системы. Промотор P2 самоактивируется под действием включенного гена-регулятора [49]. У эукариот известны случаи, когда для запуска используются *cis*-удаленные энхансеры, роль которых также сводится к включению гена, но не к поддержанию его активности [50].

Открытая на фаге лямбда двухуровневая система регуляции гена *cl* — запуск с одного промотора и затем самоподдержание активности за счет позитивной авторегуляции другого промотора — оказалась принципиально сходной с действием гена — переключателя пола *Sxl* у дрозофилы [25]. Для дифференциации в сторону женского пола, как уже упоминалось, нужна активность гена *Sxl*, что обеспечивает каскадную активацию других генов — регуляторов пола. Если ген *Sxl* неактивен, развитие идет в мужскую сторону. Ген *Sxl* имеет два промотора: ранний и поздний. Импульсное включение раннего промотора зависит от дозы, вернее, от активности определенных генов в этих хромосомах, которые вместе с цитоплазматическими (материнскими) продуктами еще одного гена образуют транскрипционный комплекс, активирующий ранний промотор *Sxl*. Синтезируемый на ранних стадиях развития у самок белок *Sxl* определяет сплайсинг аналогичного генетически активного продукта, синтезируемого с позднего промотора. Регуляция *Sxl*-транскрипции происходит на уровне сплайсинга при взаимодействии РНК — белок (рис. 4).

*Позитивная и негативная авторегуляция и сложность регуляторной зоны.* Продукт гена *cl* как регулятор генной активности выступает в трех ипостасях. Поначалу он получил название репрессора по его способности выключать все остальные гены фага и подавлять размножение других фаговых частиц в бактериальной клетке. Затем было установлено, что *cl* является также позитивным авторегулятором, активируя собственную транскрипцию с промотора поддержания  $P_{RM}$ . Наконец, *cl* может выступать в роли негативного авторегулятора (см. рис. 3), сдерживая собственную транскрипцию, когда превышен ее необходимый уровень [48].

Эта поливариантность функций одного генопродукта достигается а) за счет конформационных взаимодействий типа белок — белок и б) из-за сложности регуляторной зоны транскрипции, разные сайты которой отличаются по специфичности к белкам-регуляторам генов *cl* и *cro*. У фага лямбда операторная область состоит из трех участков, или доменов, по 17 н. п.

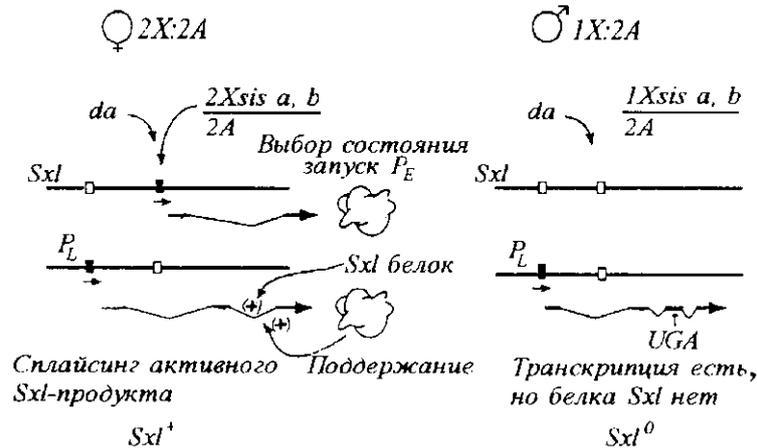


Рис. 4. Эпигенная авторегуляция ключевого гена детерминации пола у дрозофилы. У самок ген *Sxl* всегда активен, у самцов — неактивен. Ген имеет два промотора: ранний  $P_E$  и поздний  $P_L$ . Сигнал запуска определяется соотношением доз аутосом и половых хромосом с решающей ролью дозы локализованных в X-хромосоме «генов-номинаторов» пола *sis-a* и *sisb*; для активации  $P_E$  необходим также продукт материнского гена *da*. Ранний промотор у самок запускается в первые часы развития и образуется ДНК-связывающий белок *Sxl*, который затем позитивно авторегулирует или самоподдерживает правильный сплайсинг. У самцов сплайсинг неправилен, считывается часть интрона со стоп-сигналом, т. е. транскрипция есть, но функционально активного белка нет. ДНК-связывающий белок ключевого гена *Sxl* затем активирует промотор следующего гена в каскадной цепи детерминаторов пола (по данным [25, 60])

Каждый из боковых доменов перекрывается одним из промоторов, а центральный домен перекрывается несколькими сайтами одновременно с двумя промоторами (см. рис. 3). Связывание *cl*-репрессора с участком оперона, перекрывающим промотор  $P_R$ , в 10 раз сильнее, чем связывание его с участком, прилегающим к промотору поддержания  $P_{RM}$  (см. рис. 3). Благодаря этому блокируется правый промотор и транскрипция происходит с промотора поддержания. Далее вступают в силу кооперативные взаимодействия типа белок — белок. Димеры белка образуют с РНК-полимеразой транскрипционный комплекс, у которого транскрипционная активность в 10 раз выше, чем в случае взаимодействия одной РНК-полимеразы с ДНК.

Белок *cl* может существовать в форме мономера и димеров. При избытке белка *cl* в клетке повышается доля димеров, подавляющих транскрипцию, ввиду повышенного сродства к операторному участку, примыкающему к  $P_{RM}$ . Изменение четвертичной структуры меняет конформационные свойства белка и влияет на степень его сродства к регуляторным участкам ДНК. В итоге один и тот же белок может выступать в роли и позитивного, и негативного регулятора. При негативной авторегуляции транскрипции выключается и собственный синтез репрессора. Поэтому сдерживание или подавление транскрипции не может быть постоянным, а осуществляется время от времени, тормозя или погашая избыточное накопление *cl*.

Транспозон *Tn3* у бактерий (рис. 5) может служить примером эпигенной организации, при которой сочетаются негативная авторегуляция и сложность рецепторной зоны [15, 57]. Аутогенная плюс — минус регуляция была обнаружена в разных генетических бактериальных системах. Сборка рибосом включает агрегацию рибосомных белков и рибосомной РНК,



Рис. 5. Транспозон *Tn3* как эпиген (упрощенная модель). Сложная рецепторная зона *OP* с двумя дивергентными промоторами. Продукт гена-регулятора *R* негативно регулирует собственную транскрипцию и транскрипцию гена-транспозазы *trpA*. Негативная авторегуляция приводит к циклическим изменениям в активности транспозона-эпигена



концентрации которых должны быть упорядочены, хотя они и синтезируются с разных локусов. Это достигается путем авторегуляции активности генов рибосомных белков. Когда пул рибосомных белков превышает необходимый уровень, они образуют димеры, связывающиеся с собственным промотором, и снижают транскрипцию [57].

Позитивная авторегуляция может меняться на негативную в случае конформационного изменения белка-регулятора при его взаимодействии со специфичными метаболитами, как это наблюдается для арабинозного оперона бактерий. Он подвергается и позитивному, и негативному автоконтролю. Регуляторная зона включает два промотора в противоположной ориентации [51]. Аналогичная ситуация, когда регуляторный ген входит в состав оперона и может выступать в роли позитивного или негативного авторегулятора, установлена для гистидинового *hut*-оперона у *Salmonella typhimurium* [52].

Накапливается интересная информация о плюс — минус авторегуляции генов у эукариот, основанной на дозово-конформационных отношениях. Так, гомеозисный ген *Krupel (KR)* у дрозофилы контролирует белок группы цинк-содержащих транскрипционных факторов. Этот белок может активировать или подавлять собственную транскрипцию в зависимости от дозы своего белкового продукта. *KR*-мономер действует как самоактиватор транскрипции. При повышении концентрации *KR* формирует гомодимер, который становится репрессором при связывании с одним и тем же сайтом ДНК [23].

Подразделение регуляторной зоны на участки, различающиеся по степени их влияния на уровень транскрипции, обнаружено при анализе регуляции поведения транспозона *Spm* у кукурузы (рис. 6). Регуляторная зона состоит из двух районов общей длиной около 500 н. п., расположенных один слева и другой справа от старта транскрипции. Эти участки образованы повторами, способными метилироваться и блокировать транскрипцию. Чем больше повторов метилировано, тем ниже уровень транскрипции транспозона. Транспозаза, кодируемая *Spm*-транспозоном, также способна связываться с этими участками и, таким образом, предотвращать их метилирование, выступая в роли позитивного авторегулятора. Когда образуется избыток транспозазы, она становится негативным авторегулятором за счет связывания с повтором, перекрывающим промотор [17, 18, 53].

Негативная эпигенная авторегуляция обнаружена и в случае *P*-транспозона дрозофилы, который среди мобильных элементов эукариот является своеобразным «чемпионом» по подвижности. Он обладает способностью к

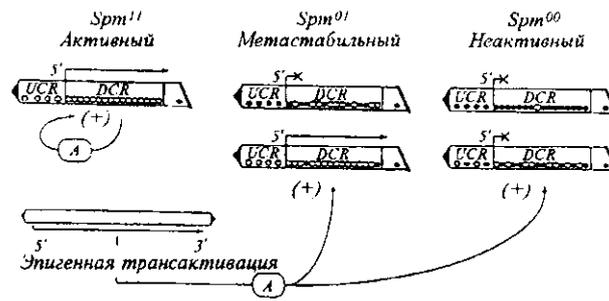


Рис. 6. Разные эпиаллели, авторегуляция и трансактивация эпигена-транспозона *Spt* у кукурузы. На схеме в верхнем ряду показаны три эпиаллеля с активным, метастабильным и неактивным эпигеном, обозначенные здесь, как  $Spt^{11}$ ,  $Spt^{01}$  и  $Spt^{00}$ . Степень активности зависит от уровня метилирования повторов в двух промоторных областях — области UCR (200 н. п.) слева от старта транскрипции и DCR (350 н. п.) справа от него. Неметилированные повторы обозначены белыми кружками, метилированные — темными. В эпигетерозиготах с активным и метастабильным эпиаллелем в соматических и генеративных клетках происходит трансактивация эпиаллеля  $Spt^{01}$  (нижний ряд). В эпигетерозиготах  $Spt^{11}/Spt^{00}$  в течение нескольких поколений возможна медленная трансактивация неактивного транспозона по мере деметилирования повторов в околопромоторной области. Отдельные функционально сходные транспозоны, которые отличаются друг от друга по степени метилирования, было предложено называть эпивариациями. Помимо позитивного авторегуляторного действия на уровне транскрипции, транспозаза *Spt* может обладать и негативным эффектом, вступая в кооперативные отношения с другими белками (по данным [17, 18])

горизонтальному переносу, может встраиваться в самые разные участки хромосом и в настоящее время является универсальным вектором, на основе которого создаются искусственные геноинженерные конструкции и проводятся опыты по трансгенозу. В природных популяциях естественная активация *P*-элементов вызывает вспышки мутаций в локусах-мишенях [16, 38].

Эпигенная регуляция *P*-транспозона была открыта при анализе его поведения в ситуации гибридного дисгенеза. В линиях *P*-цитотипа в хромосомах есть один или несколько активных *P*-элементов, а в цитоплазме — репрессор их транспозиции. В линиях *M*-цитотипа, куда относится абсолютное большинство лабораторных линий, в хромосомах нет активных *P*-копий, а в цитоплазме отсутствует *P*-репрессор. У гибридов от скрещивания самок *M*-цитотипа с самцами *P*-линий (но не наоборот!) наблюдается ряд отклонений, названных гибридным дисгенезом: массовая транспозиция *P*-элемента, сопровождаемая вспышкой мутаций, поломками хромосом и стерильностью. По существу эта ситуация аналогична зиготной индукции — переключению фага от лизогенного, неподвижного состояния к массовому размножению с последующим лизисом «зиготной» клетки, в цитоплазме которой не оказалось *cl*-репрессора.

*P*-транспозон является авторегуляторным однокомпонентным эпигеном. Концы транспозона обрамлены короткими обратными повторами длиной 31 н. п., от которых зависит способность к перемещениям, активируемая собственной транспозазой. Транспозон включает одну единицу транскрипции и один ген, но в силу альтернативного сплайсинга этот ген кодирует два разных продукта. В генеративных клетках образуется ДНК-связывающий белок — транспозаза с молекулярной массой 87 кДа. Транспозаза имеет сродство к собственной промоторной области. В соматических клетках сплайсинг дефектен, образуется «усеченный» белок-репрессор (66 кДа) и поэтому там транспозон неподвижен [19]. Репрессия происходит на уровне транскрипции, как показали опыты с использованием гена-репортера,

несущего *P*-промотор [20, 21]. Однако не исключено, что негативная авторегуляция возможна и на уровне сплайсинга или кооперативных белковых взаимодействий. Репрессор накапливается в овоцитах и способен передаваться в течение ряда поколений, с чем связывают материнскую наследственность при гибридном дисгенезе.

*Кооперативные взаимодействия при эпигенной регуляции.* Механизм взаимного узнавания и взаимодействия между естественным стимулятором или ингибитором и рецептором сочетает сильное сродство с обратимостью связывания. При этом ведущее значение имеет величина порога чувствительности рецептора. Согласно Александрову [54], в «работе» рецепторов на всех уровнях — молекулярном, клеточном, организменном — действует принцип кооперативности. Он состоит в том, что при взаимодействии нескольких реагирующих единиц реакция первой единицы облегчает ответ второй, реакция второй — ответ третьей и т. д. В итоге зависимость величины ответа от силы сигнала описывается *S*-образной кривой, когда при превышении некоего порога интенсивности пороговой концентрации ответ резко возрастает.

Становится понятным, почему столь существенные эффекты может вызывать простое изменение дозы гена или дозы контролируемого им продукта. При изменении дозы гена и при действии принципа кооперативности генетическая система способна не плавно, а достаточно резко (в предельном случае по принципу «все или ничего») переходить на другой режим функционирования (В. Я. Александров остроумно заметил, что и человек по своему поведению в социуме — существо кооперативное).

Общебиологический принцип кооперативности в яркой форме проявляется в регуляции транскрипционной активности эпигенов у фага лямбда [48]. Кооперативность обеспечивается определенной структурой контролируемого геном *cl* белка-репрессора и характером его взаимодействия с РНК-полимеразой и рецепторными участками ДНК. Мономеры *cl* имеют сродство друг к другу, поэтому связывание одного из них с рецепторным сайтом ДНК облегчает связывание другого с соседним сайтом. Агрегация мономеров в димеры и образование комплексов димеров с РНК-полимеразой повышают эффективность транскрипции. У эукариот в регуляции транскрипции участвуют семейства тканеспецифичных транскрипционных факторов, образованные агрегатами регуляторных белков. Жакоб даже предложил подобного рода кооперативные факторы регуляции транскрипции называть специальным термином агрегуляты или агрегулон — гибрид из слов агрегат и регулятор [59].

У эукариот *цис*- и *транс*-действующие транскрипционные регуляторы способны вступать между собой в кооперативные взаимодействия. Наиболее изучены в этом смысле два генных гомеозисных комплекса *Antennapedia* (*Antp-C*) и *Bithorax* (*Bx-C*). Каждый из них имеет громадную протяженность (несколько сотен тысяч пар нуклеотидов), где собственно структурные белок-образующие гены представляют как бы острова в океане: пять единиц транскрипции (генов) в комплексе *Bx-C* (из них три кодируют белки-«гомеобоксы») и три гена — в комплексе *Antp-C*. Более 90 % гомеозисных комплексов занимают регуляторные участки-коммутаторы, которые при взаимодействии с тканеспецифичными «агрегулонами» отвечают за подавление или активацию гомеозисного гена в данном сегменте [22, 55].

Оказалось, что такие классические гомеозисные мутации, как *bx*, *bxd*, *pbx*, соответствуют не структурным генам, а *цис*-регуляторным сайтам. Кроме того, в гомеозисных комплексах есть множество участков, специфичных для действия *транс*-регуляторных белков, кодируемых удаленными от этих комплексов генами. Одни из *транс*-регуляторов имеют явное сродство к ДНК, другие же не связываются с рецепторными участками ДНК, но,

видимо, участвуют на кооперативных началах в регуляции транскрипции или структуры хроматина [13, 55].

Эпигенная авторегуляция с использованием дистантных *цис*-энхансеров обнаружена у некоторых генов комплексов *Bx-C* и *Antp-C*, а также в случае гомеозисных селекторных генов, определяющих диспозицию передне-задней оси тела. Среди них гены *Ultrabithorax*, *hunchback*, *fushi tarazu* и *Deformed*. В последнем случае эпигенная система включает ДНК-связывающий белок, контролируемый геном *Dtd*, и дистантный энхансер, расположенный на расстоянии около 5000 н. п. вверх от старта транскрипции. Энхансер имеет размер около 920 н. п. и включает четыре сайта, связывание с которыми белка *Dtd* резко усиливает его транскрипцию [24]. Поведение подобных однокомпонентных эпигенов у эукариот, ожидаемые режимы их функционирования, характер наследования теоретически проанализированы недавно Чураевым [4].

**Разнообразие организации эпигенов и динамической памяти.** Понятие «память» несет в себе три аспекта: кодирование, хранение и передача информации. Наследственная система включает элементы структурной и динамической памяти [1—17]. В случае структурной памяти кодирование информации задается четырехбуквенным кодом, числом и топографией генетических единиц; хранение осуществляется в структуре ДНК, а передача — путем конвариантной редупликации. Кортикальная наследственность, открытая у простейших, является другим вариантом структурной памяти [56]. Адекватный язык описания ее элементов здесь еще не создан.

Эпигены являются элементами динамической памяти. Если иметь в виду описанные выше варианты эпигенов, установленные у фага лямбда и транспозонов эукариот, то 1) кодирование наследственной информации здесь определяется регуляторными белками (присутствие или отсутствие) и характером их взаимодействия с рецепторами, 2) хранение обеспечивается циклическими (обратными) связями между генами, а 3) передача осуществляется распределением регуляторных молекул между регуляторными клетками.

В ходе дальнейшего развития «конструктивной теории эпигенов» [2—4] была произведена их классификация и проанализированы два варианта организации наследственной памяти при участии стационарных и нестационарных эпигенов. Стационарный эпиген основан на позитивной авторегуляции или на системах типа двухоперонного триггера и имеет два устойчивых альтернативных режима. Возможны нестационарные эпигены, когда связи между генами таковы, что происходит регулярная смена режимов функционирования (осцилляция), как, например, в ситуациях с негативной авторегуляцией. Удалось теоретически показать, что возможны такие композиции из нестационарных эпигенов, которые могут иметь несколько наследуемых режимов функционирования [2].

Особый интерес представляет исследование вопроса, можно ли применить концепцию эпигенов для явлений хромосомного и генного импринтинга. В оригинальной статье [1] разобраны два случая эпигеноподобной изменчивости у эукариот: парамутации у кукурузы и наследуемое изменение экспрессивности генов при шоковом температурном воздействии в опытах П. Г. Светлова на дрозофиле и мышях. До сих пор механизм этих изменений остается неясным. Установлено, что явление генного и хромосомного импринтинга отнюдь не редкое. У эукариот ДНК хромосом сложным образом упакована в нуклеопротейные комплексы с основными белками гистона. Можно выделить четыре иерархических уровня упаковки хроматина: 1) нуклеосомный, где комплексы из гистонов P2a, H2b, H3 и H4 образуют октамер, на который двумя витками наматывается ДНК, размер нуклеосомы около 100 Å; 2) уровень соленоида или нуклеомеры, определя-

емый гистонем H1, при этом образуются фибриллы размером 300 Å; 3) уровень петель, где фибриллы прикрепляются к белковому скелету хромосомы; 4) спирализация белкового остова хромосомы, что визуально доступно при световой микроскопии метафазных хромосом [50].

Однако не исключено, что и здесь концепция эпигена как единицы динамической памяти может оказаться плодотворной. Прежде всего, очевидно, что существуют два состояния хроматина, наследуемые в ряду клеточных поколений: активное и неактивное. Скорее всего, возможно и метастабильное, промежуточное состояние. Очевидно также, что в процессе онтогенеза вероятно переключение состояния хроматина, и что этот процесс может иметь локально-дискретный характер. Действительно, молекулярно-генетический анализ эффекта положения показал, что компактизация участков хромосом дискретна, одни функционально активные или неактивные единицы отделены от других. Более того, выяснено, что пусковым событием при гетерохроматизации X-хромосомы у млекопитающих является изменение состояния одного ключевого локуса *Xist* [12].

Обнаружены особые элементы, названные «ограничители» (insulators), которые структурно-функционально ограничивают друг от друга блоки хромосом [52]. Изменение состояния таких блоков может быть организовано по принципу эпигенов. Функционирование гомеозисных генов, определяющих план организации передне-задней оси тела, сопряжено с действием двух групп регуляторных генов. Гены группы *Pc* (*Polycomb*) подавляют, репрессируют самые разные гомеозисные гены в тех участках тела, где эти гены должны по плану «молчать». Показано, что продукты *Pc* связываются со многими участками политенных хромосом. Гены группы *trx* (*trithorax*), напротив, активируют определенные гомеозисные гены в данном месте и в данное время. В одной из последних моделей процесс переключения хроматина из закрытой в открытую конформацию рассматривается в два этапа: инициация, запускаемая присоединением продуктов ранних материнских и сегментационных генов, и поддержание при участии генов *trx* и механизма авторегуляции [57]. Иными словами, налицо логическая триадная структура эпигена: сигнал, воспринимаемый рецепторным участком, изменение состояния этого участка и передача этого измененного состояния в ряду клеточных поколений. Важно подчеркнуть, что материальный характер связи и циркуляции сигналов в структуре эпигена мыслится разным: не только через диффузные ДНК-связывающие белки, но и через взаимодействия типа ДНК — ДНК и ДНК — РНК [2—4].

В заключение отметим некоторые важные для эволюционной генетики следствия из концепции эпигенов [8—11, 16, 37, 38, 55]. Переключение эпигенов (эпимутации) может носить массовый и определенный характер. Кроме того, эпимутации, если они передаются через зародышевый путь, могут имитировать явление наследования определенных наследственных изменений, вызванных в ходе онтогенеза [9, 10, 58]. Как следует из концепции эпигена и данных опытов, достаточно регулярно происходят следующие отклонения от принципов или постулатов менделевской генетики: а) изменение состояния хроматина и генетических локусов в клетках зародышевого пути в ходе онтогенеза; б) изменение состояния аллелей в эпигетерозиготах и в) разный характер активации и инактивации генов у мужских и женских родительских особей [11]. Понимание структурно-функциональной организации эпигенов, несомненно, может облегчить истолкование неканонических случаев наследственной изменчивости и позволяет соответственно с этим строить логику эксперимента.

Создавая воображаемые модели с циклическими связями между оперонами, Моно и Жакоб подчеркнули, что эти простые модели показывают возможность запоминания клеткой химических событий и последующего

выбора той или иной альтернативной программы регуляции генетических локусов. Если представить, что в клетке есть 10 эпигенов, каждый из которых имеет два устойчивых режима функционирования, то в клетке есть  $2^{10}$  или 1024 возможности выбора без какого-либо изменения в структуре генома! При этом сходные изменения могут быть определенными и затрагивать одновременно множество особей в популяции.

Таким образом, подобный вывод усиливает интерес к эволюционным теориям, в которых важное значение придается имманентным телеономическим возможностям клеток и организмов.

*М. Д. Голубовський*

Концепція епігена 20 років по тому

Резюме

*Розглянуто паралелізм у становленні апарату понять, який використовується при вивченні структурної та динамічної спадкової пам'яті. Генів як елементарній одиниці структурної спадковості відповідає концепція епігена (Чураєв, 1975), необхідна при описі епігенетичної мінливості. У логічну схему епігена природним чином входять незалежно запропоновані різними авторами довільні поняття: епігенотип, епіалель, епігетерозигота, епімутація, епіваріація. Показано, що принципи організації і функціонування епігенів у фага лямбда (плюс і мінус автoreгуляція, альтернативність промоторів, складність рецепторів промоторної зони, кооперативність) справедливі для різних епігенів бактерій та еукаріот. Як приклад розглянуто транспозони-епігени Tn3 у бактерій, Spm у кукурудзи, P-елемент дрозофіли, а також ключовий ген — перемікач статі Sxl у дрозофіли. Концепції епігена притаманна безсумнівна евристична цінність при тлумаченні різних форм неканонічної менделівської спадкової мінливості (парамутації, поведінка транспозонів, імпринтинг, косупресія генів при трансгенезі тощо), при плануванні діагностичних експериментів та з точки зору еволюційної теорії.*

*M. D. Golubovsky*

The epigene concept after 20 yers

Summary

*The main terminology and conceptual frame for description of structural and dynamic hereditary memory are presented. The gene as an elementary hereditary unit is discussed in the epigene concept proposed by R. N. Tchuraev (1975) for the description of the epigene variability. The epigene concept includes number terms which were introduced independently by various authors: epigenotype, epiheterozygote, epiallele, epimutation, epivariation. The principles of organization and function of lambda phage epigene (plus-minus autoregulation, alternative promoters, the complexity of promoter region, cooperative protein-protein interactions) are shown to be true for different bacterial and eukaryotic epigenes. The next transposons are discussed as epigenes: Tn3 in Escherichia coli, Spm in maize, P-element in Drosophila as well as the master sex regulator Sxl gene in Drosophila. It is evident a great value of an epigene concept usage for the description and analysis of various forms of non-canonical, non-Mendel inheritance (transposons behavior, paramutations, imprinting, cosuppression of genes in transgenic plants etc.) for planning experiments and understanding the theory of evolution.*

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Чураєв Р. Н. Гипотеза об епігене // Исслед. по мат. генетике.— Новосибирск: Наука, 1976.—С. 77—947
2. Чураєв Р. Н. О синтезе епігенов.— Новосибирск, 1981.—32 с.— (Препринт/СССР. ИЦИГ СО АН СССР).
3. Чураєв Р. Н. Прикладные аспекты концепции епігенов // Журн. общ. биологии.— 1982.—43, № 1.—С. 79—87.
4. Чураєв Р. Н. Метод обобщенных пороговых моделей для анализа динамики эукариотических молекулярно-генетических систем управления.— Уфа, 1993.—32 с.—(Препринт/Россия).
5. Холлидей Р. Эпігенетическая наследственность // В мире науки.—1989.— № 8.— С. 30—38.
6. Сапиенца К. Геномный импринтинг // Там же.—1990.— № 12.—С. 14—20
7. Holliday R. The inheritance of epigenetic detects // Science.—1987.—238.—P. 163—170.

8. Holliday R. Mechanisms for the control of gene activity during development // *Biol. Rev.*—1990.—65.—P. 431—470.
9. Jablonka E., Lamb M. J. The inheritance of acquired epigenetic variations // *J. Theor. Biol.*—1989.—139.—P. 69—83.
10. Jablonka E., Lacchmann M., Lamb M. Evidence, mechanisms and model for the inheritance of acquired characteristics // *Ibid.*—1992.—158.—P. 245—268.
11. Jorgensen R. The germinal inheritance of epigenetic information in plants // *Phil. Trans Roy. Soc. London B.*—1933.—339.—P. 173—181.
12. Leon M. Epigenetic inheritance in mammals // *Trends. Genet.*—1993.—9, N 4.—P. 123—128.
13. Paro R. Imprinting a determined state into the chromatin of *Drosophilla* // *Ibid.*—1990.—6, N 12.—P. 416—421.
14. Peterson K., Sapienza C. Imprinting the genome: imprinted genes, imprinting genes and a hypothesis for their interaction // *Annu. Rev. Genet.*—1993.—27.—P. 7—31.
15. Хесин Р. Б. Непостоянство генома.— М.: Наука, 1984.—472 с.
16. Голубовский М. Д. Организация генотипа и формы наследственной изменчивости эукариот // *Успехи соврем. биологии.*—1985.—100, № 6.—С. 323—339.
17. Fedoroff N., Masson P., Banks J. A. Mutations, epimutations and the developmental programming of the maize suppressor-mutator transposable element // *Bioassays.*—1989.—10, N 3.—P. 139—144.
18. Fedoroff N., Schlappi M., Raina R. Epigenetic regulation of the maize *Spm* transposon // *Ibid.*—1995.—17, N 4.—P. 291—297.
19. Rio D. C. Molecular mechanisms regulating *Drosophilla P*-element transposition // *Annu. Rev. Genet.*—1990.—24.—P. 5430—5478.
20. Lemaitre B., Ronsserray S., Coen D. Maternal repression of the P element promoter in the germ line of *Drosophilla melanogaster* // *Genetics.*—135.—P. 149—160.
21. Ronseray S., Lemaitre B., Coen D. Maternal inheritance of P cytotype in *Drosophilla melanogaster*: a «pre-P» cytotype is strictly extrachromosomally transmitted // *Mol. and Gen. Genet.*—1993.—P. 115—123.
22. Lewis E. B. Clusters of master control genes regulate the development of higher organisms // *J. Amer. Med. Assoc.*—1992.—267, N 11.—P. 1524—1531.
23. Sauer F., Jackel H. Dimerization and the control of transcription by Kruppel // *Nature.*—1993.—364.—P. 454—457.
24. Regulski M., Dessain S., McGinnis N., McGinnis W. High affinity binding sites for the deformed protein are required for the function of an autoregulatory enhancer of the deformed genes // *Genes and Develop.*—1991.—5.—P. 278—286.
25. Cline T. W. The *Drosophila* sex determination signal: how do flies count to two // *Trends Genet.*—1993.—9, N 11.—P. 385—390.
26. Matzke M. A., Matzke A. J. M. Gene interactions and epigenetic variation in transgenic plants // *Develop. Genet.*—1990.—11.—P. 214—223.
27. Matzke M. A., Matzke A. J. M. Homology dependent gene silencing in transgenic plants: what does it really tells us // *Trends Genet.*—1995.—11, N 1.—P. 1—2.
28. Monod J., Jacob F. General conclusions: teleonomic mechanisms in cellular metabolism, growth and differentiation // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*—1961.—26.—P. 389—401.
29. Nanney D. L. Epigenetic control systems // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1958.—44.—P. 712—717.
30. Эфрусси Б. Гибридизация соматических клеток.—М.: Мир, 1976.—195 с.
31. Вахтин Ю. Б. Эпигенетическая изменчивость соматических клеток // *Физиол. генетика.*—Л., 1976.—С. 225—236.
32. Вахтин Ю. Б. Генетическая теория клеточных популяций.—Л.: Наука, 1980.—167 с.
33. Kermicle J. L., Alleman M. Gametic imprinting in maize in relation to the angiosperm life cycle // *Development.*—1990.—Suppl.—P. 9—14.
34. Ratner V. A., Tchuraev R. Simplest genetic systems controlling ontogenesis. Organization principles and models of their function // *Prog. Theor. Biol.*—1978.—5.—P. 81—127.
35. Пуанкаре А. О науке.—М.: Наука, 1983.—559 с.
36. Йогансен В. Элементы точного учения об изменчивости и наследственности.— М.: ОГИЗ, 1993.—410 с.
37. Голубовский М. Д. Классическая и современная генетика: эволюция взглядов на наследственную изменчивость // *Тр. С.-Петербург. об-ва естествоиспытателей.*—1994.—90, № 1.—С. 37—48.
38. Golubovsky M. D. Mobile genetics and forms of heritable changes in eukaryotes // *Biopolymers and Cell.*—1995.—11, N 2.—P. 29—38.
39. Уоддингтон К. Х. Основные биологические концепции // *На пути к теоретической биологии.*—М.: Мир, 1970.—С. 11—46.
40. Юдин А. Л. Ядерно-цитоплазматические взаимоотношения и клеточная наследственность у амёб.— Л.: Наука, 1981.—199 с.
41. Brink R. A. Paramutation // *Annu. Rev. Genet.*—1973.—7.—P. 129—152.

42. Светлов П. Г. Роль внешних воздействий при реализации наследственных признаков в онтогенезе // Пробл. мед. генетики.— Л.: Медицина, 1965.—С. 106—136.
43. Jacob F., Monod J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins // J. Mol. Biol.—1961.—3.—Р. 318—356.
44. Харрис Г. Ядро и цитоплазма.— М.: Мир, 1973.—188 с.
45. Bingham P., Tze-Bin Chou, Mims I., Zachar Z. On/off regulation of gene expression at the level of splicing // Trends Genet.—1988.—4, N 5.—Р. 134—138.
46. Киселев Л. Л. Рак — болезнь генома // Итоги науки и техники.— М.: ВИНТИ, 1990.—С. 139—154.— (С. Геном человека; Т. 1).
47. Rubin H. Adaptive evolution of degree and kinds of neoplastic transformation in cell culture // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1992.—89.—Р. 978—981.
48. Пташнев М. Переключение генов.— М.: Мир, 1986.—157 с.
49. Ратнер В. А. Молекулярно-генетические системы управления.— Новосибирск: Наука, 1975.—287 с.
50. Георгиев Г. П. Гены высших организмов и их экспрессия.— М.: Наука, 1989.—254 с.
51. Инге-Вечтомов С. Г. Введение в молекулярную генетику.— М.: Высш. шк.—1983.—43 с.
52. Wolffe A. P. Insulating chromatin // Cur. Biol.—1994.—4, N 1.—Р. 85—87.
53. Gierl A. How maize transposable elements escape negative selection // Trends Genet.—1990.—6.—Р. 155—158.
54. Александров В. Я. Реактивность клеток и белков.— Л.: Наука, 1985.—317 с.
55. Kennison J. A. Transcriptional activation of *Drosophilla* homeotic genes from distant regulatory elements // Trends Genet.—1993.—9.—Р. 75—79.
56. Nanney D. Heredity without genes: ciliate exploration of clonal heredity // Ibid.—1985.—10.—Р. 295—298.
57. Льюин Р. Гены.— М.: Мир, 1987.—650 с.
58. Landman O. E. The inheritance of acquired characteristics // Ann. Rev. Genet.—1991.—25.—Р. 1—20.
59. Jacob F. From repressor to aggregate // C. R. Acad. Sci. Life sci.—1993.—316.—Р. 331—333.
60. Keyes N. L., Cline T. W., Schedl P. The primary sex determination signal of *Drosophila* acts at the level of transcription // Cell.—1992.—68.—Р. 933—943.