

ANDRZEJ KACZANOWSKI

*Instytut Zoologii  
Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego  
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa  
E-mail: kaczan@biol.uw.edu.pl*

## EWOLUCJA ISTOTNYCH CECH BUDOWY ORGANIZMU ZWIERZĘCEGO UWAGI DOTYCZĄCE EWOLUCJI PROGRAMU ROZWOJU ZWIERZĄT I DZIEDZICTWA GENETYCZNEGO CZŁOWIEKA

Pytania dotyczące procesu ewolucji nie sprowadzają się jedynie do działania doboru naturalnego na stosunkowo niewielkie różnice dotyczące ostatecznych cech organizmu, takie jak kolor sierści, piór, repertuar przeciwciał i wiele innych. Pragniemy także poznać, w jaki sposób zachodziła ewolucja istotnych cech budowy ciała zwierząt i roślin. Ostateczna forma zwierzęcia i człowieka, jest wynikiem procesu rozwojowego i dla

tego istotne zmiany w budowie organizmu są wynikiem zmian, jakie zaszły w trakcie ewolucji w samym programie rozwoju. Nie można sprowadzać ich do liczby różnic w sekwencjach DNA lub białek. Poniższy tekst nie będzie jednak systematycznym wykładem biologii i ewolucji rozwoju, co wymagałoby napisania całej książki. Będą to tylko niektóre uwagi dotyczące wymienionej wyżej tematyki, które stanowią wyraz poglądów autora.

## UWAGI DOTYCZĄCE ZAWARTOŚCI INFORMACYJNEJ GENOMU

### OGRANICZENIE ZAWARTOŚCI INFORMACYJNEJ GENOMU JAKO SKUTEK OBCIĄŻENIA MUTACYJNEGO

Nawet w niewielkich komórkach Prokaryota zmienność alleliczna (mutacje) oraz dobór naturalny mogą tworzyć praktycznie nieograniczoną liczbę kombinacji przy zachowaniu tej samej liczby genów. Jednakże powstawanie coraz bardziej złożonych organizmów wymagało rozszerzenia zapisu genetycznego, a więc powstawania nowych genetycznych loci. Nowe loci powstawały na drodze duplikacji istniejących genów i różnicowania się ich funkcji (KRZANOWSKA 1997, KUBICZ 1999, MAKALOWSKA i współautorzy 2009; artykuły BABIKA i KORONY w tym zeszycie KOSMOSU). Proces ten musiał jednak zachodzić w bardzo oszczędnym sposób. Chociaż dobrze wiemy, że

proces ewolucji zachodzi na drodze doboru naturalnego i mutacji to rzadko myślimy o tym, że większość mutacji obniża dostosowanie organizmu. Mutacje są więc źródłem obciążenia genetycznego ( $L$ ). Obciążenie to ( $L_1$ ), liczone na pojedynczy locus (1), stanowi zmniejszenie dostosowania genotypu spowodowane wyłącznie przez jego mutowanie, a  $L_{total}$  liczone dla całego genomu będzie dane przez równanie

$$w_{total} = 1 - L_{total} = (1 - L_1) \times (1 - L_2) \times \dots \times (1 - L_n)$$

Gdzie  $w_{total}$  oznacza rzeczywiste dostosowanie całego genomu, a liczba 1 oznacza teoretyczną wartość dostosowania, jaka występowałaby wówczas kiedy nie zachodziłyby mutacje, a  $L_1, L_2, \dots, L_n$  obciążenia poszczegół-

nych loci (JACQUARD 1974). Jeżeli prawdopodobieństwo mutowania danego locus liczone na linię komórek płciowych i na haploidalny genom na pokolenie oznaczymy jako  $\nu$ , to obciążenie genetyczne tego locus będzie równe  $\nu$  – dla alleli recesywnych i  $2\nu$  dla alleli dominujących (JACQUARD 1974, OHNO 1985). Można z pewnym przybliżeniem szacować, że tak liczone prawdopodobieństwo zmutowania genu ( $\nu$ ) u ssaków wynosi  $1/100\,000$ . Oznacza to, że gdybyśmy mieli w genomie  $100\,000$  genów kodujących białka, to w ciągu życia każdego z nas powstawałaby średnio jedna niekorzystna mutacja przekazywana naszym dzieciom. Już wiele lat temu wyliczono, że znaczne przekroczenie granicy  $100\,000$  genów u ssaka lub człowieka pociągałoby za sobą w sposób nieunikniony ekstynkcję gatunku z powodu obciążenia genetycznego (OHNO 1985). ŁOMNICKI (artykuł *Dobór naturalny* w tym zeszycie) opisał w jaki sposób ekspresja niekorzystnych, najczęściej recesywnych mutacji w homozygotach prowadzi do usuwania ich z populacji. Ale szkodliwe allele nie mogą być do końca usunięte z odpowiednio dużej populacji nawet wówczas, kiedy homozygoty szkodliwego allelu są całkowicie letalne, ponieważ pozostaną one w osobnikach heterozygotycznych (patrz artykuł ŁOMNICKIEGO *Dobór naturalny* w tym zeszycie KOSMOSU). Jednocześnie w wyniku mutowania powstają nowe mutacje danego locus podobne do tych, które są usuwane w wyniku selekcji. Wprawdzie rzadko występujące mutacje dominujące i letalne są natychmiast usuwane z populacji, ale nawet wówczas będą one pojawiać się z prawdopodobieństwem równym prawdopodobieństwu mutowania danego locus  $\times 2^1$ . Nie można bowiem zatrzymać procesu mutowania, tak jak nie można powstrzymać rozpadu promieniotwórczego pierwiastków.

Omawiając prawdopodobieństwo mutowania warto pamiętać o tym, że w organizmach wyższych występują bardzo dobrze rozwinięte mechanizmy samej naprawy DNA w trakcie replikacji, jak też mechanizmy wykrywania i usuwania postreplikacyjnych modyfikacji chemicznych pojedynczych nukleotydów, reperacji uszkodzeń dwuniciowych i jednoniciowych jakie mogą powstawać przed

i po okresie replikacyjnym i wreszcie mechanizmy, które wstrzymują podziały komórek z uszkodzonym DNA. Te ostatnie hamują przebieg cyklu komórkowego i dają czas na reparację uszkodzonego DNA, albo eliminują komórki na drodze programowanej śmierci komórek czyli apoptozy (o czym napiszę dalej). Mimo tych wszystkich zabezpieczeń genom jest stale narażony na uszkodzenia i dlatego genetyka populacji przewiduje, że nie może on być zbyt duży. Teoretyczne ograniczenie „bezpiecznej” liczby genów danego genomu można przyrównać do pojemności informacyjnej komputera. Natomiast rzeczywistą liczbę genów w genomie można przyrównać do zawartości informatycznej wprowadzonej do komputera.

#### RZECZYWISTA LICZBA GENÓW W GENOMIE

Ponieważ żyjemy obecnie w erze „genomiki”, a nawet niektórzy mówią, że „post genomiki”, to znamy już odpowiedź na pytanie, które nurtowało wielu badaczy w ubiegłym stuleciu, jaka jest rzeczywista wielkość i liczba genów kodujących białka genomu ludzkiego i niektórych innych genomów

Już w 2001 r. ogłoszono prawie pełną sekwencję genomu ludzkiego, która wynosi około  $3 \times 10^9$ , czyli około 3 miliardy par zasad (INTERNATIONAL CONSORTIUM 2001). Jest to ogromna liczba, która mogłaby odpowiadać nawet liczbie  $1\,000\,000$  genów szacując, że średni gen może mieć 3000 par zasad. W 2001 r. oszacowano jednak, że genom ludzki zawiera jedynie 32000 genów kodujących białka i ta liczba jest dla naszych rozważań dużo ważniejsza niż liczba wszystkich par zasad. Później okazało się nawet, że liczba ta jest jeszcze mniejsza i wynosi tylko 22500, co tłumaczy się głównie tym, że średnio co drugi gen podlega tak zwanemu alternatywnemu wycinaniu (ang. alternative splicing), co oznacza, że dany gen może kodować więcej niż jedno białko (INTERNATIONAL CONSORTIUM 2004). Były to dobre wiadomości, tłumaczące dlaczego w ogromnej większości przypadków rodzą się zdrowe dzieci (choć wszyscy wiemy jakim nieszczęściem są wrodzone, niczym nie zawnione wady genetyczne). Już wcześniej wiadomo było, że u drożdży piekarniczych liczba genów wynosi około 6000, u muszki owoco-

<sup>1</sup>Powstawanie nowych dominujących mutacji w populacji ludzkiej wykazano np. badając już w latach 40. pojawianie się chondrodystrofii w jednym z duńskich szpitali położniczych. Jest to dominująca wada genetyczna, polegająca na zbyt szybkim kostnieniu chrząstek, które powoduje bardzo niski ostateczny wzrost człowieka („karłowatość”). Wada ta może być zdiagnozowana już w momencie urodzenia się dziecka. W badaniach tych zanotowano 8 przypadków chondrodystrofii na 95000 urodzeń, u dzieci, których obydwój rodzice a także inni członkowie rodziny mieli całkowicie normalny wzrost. A więc nie ulegało wątpliwości, że były to nowe mutacje, które powstały w komórkach rozrodczych jednego z rodziców (JACQUARD 1974).

wej 12–13000, a u nicienia *Caenorabditis elegans* 18000. Podane zestawienie zawiera więc dwa paradoksy. Pierwszym jest to, że genom ludzki zawiera niewiele więcej genów kodujących białka, niż genom nicienia, chociaż ciało nicienia zawiera jedynie około 1000 komórek, a ciało ludzkie około  $10^{13}$ . Drugim paradoksem jest to, że genom nicienia zawiera dużo więcej genów niż genom *Drosophila*, pomimo tego, że budowa nicienia jest dużo prostsza niż budowa muchy<sup>2</sup>. Wprawdzie złożoność or-

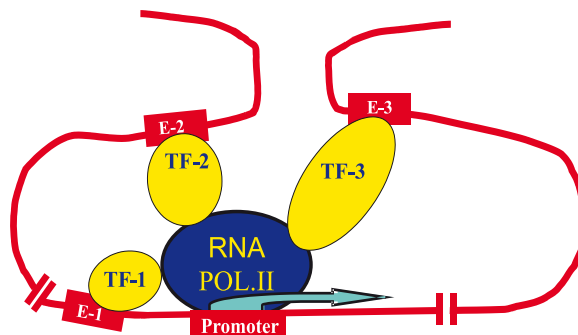
ganizmu ludzkiego nie sprowadza się tylko do liczby komórek, to powyższe zestawienie jest pouczające i wskazuje na to, że ewolucja organizmalna i ewolucja zawartości informatycznej genomu nie przebiegały w sposób kolinearny. Niezwykle mała liczba genów człowieka w stosunku do stopnia złożoności organizmu oznacza, że informacja genetyczna człowieka i zwierząt wyższych musi być zorganizowana w sposób niezwykle oszczędny, a więc w sposób hierarchiczny<sup>3</sup>.

#### ROLA CZYNNIKÓW TRANSKRYPCYJNYCH W HIERARCHICZNEJ REGULACJI EKSPRESJI GENÓW I JEJ ZNACZENIE W ROZWOJU ORGANIZMU

Ciało zwierzęcia powstaje w wyniku złożonego procesu rozwojowego, składa się z wielu narządów i tkanek. Ostatecznie zróżnicowane komórki zaprogramowane są w taki sposób, że aktywne są w nich różne geny, które determinują syntezę tylko małej, ale specyficznej puli określonych białek stanowiących o ich specyficzności tkankowej. I tak na przykład komórki naskórka wytwarzają keratynę, fibroblasty m.in. włókna kolagenowe, erytroblasty, hemoglobinę itp., a inne komórki tego samego organizmu ich nie wytwarzają. A przecież wszystkie komórki naszego organizmu pochodzą z tej samej zygoty, mają taki sam genom, a różnice pomiędzy nimi wynikają tylko z tego, że ekspresja poszczególnych genów jest w nich inaczej zaprogramowana.

Jak to się dzieje? W genomie występują geny nadrzędne, z których każdy reguluje aktywność (transkrypcję) wielu „podlegających im” genów, które nie kodują ani hemoglobiny ani kollagenu ani keratyny, lecz białka, które określane są mianem czynników transkrypcyjnych. Czynniki transkrypcyjne wzmacniają transkrypcję regulowanego genu dzięki temu, że łączą się z krótkimi sekwencjami zwanymi wzmacniaczami (ang. enhancers) tego genu, które najczęściej znajdują się przed promotorem a więc przed tym odcinkiem DNA, do którego przyłącza się poli-

meraza RNA. Rzadziej wzmacniacze znajdują się za końcem transkrybowanego genu. Oddziaływanie czynnika transkrypcyjnego na polimerazę wymaga wypętlenia się samej nici DNA, tak jak to przedstawiono na Ryc. 1.

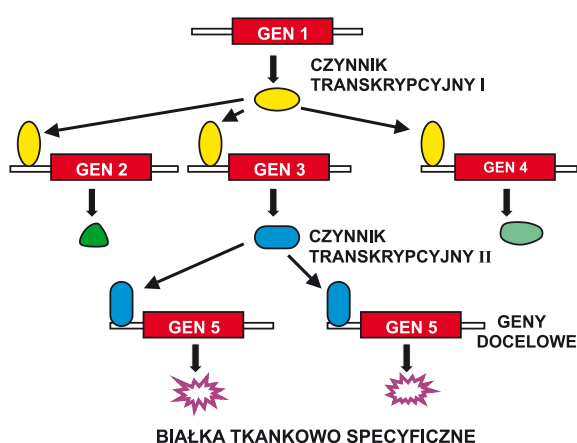


Ryc. 1. Uproszczony schemat oddziaływania czynników transkrypcyjnych na proces transkrypcji.

Polimeraza RNA II (zależna od DNA) przyłącza się do promotora transkrybowanego genu. Dodatkowe czynniki transkrypcyjne TF1, TF2 i TF3 przyłączają się do krótkich specyficznych sekwencji wzmacniaczy E1, E2 i E3, które leżą przed promotorem, a niekiedy poza miejscem terminacji transkrypcji, powodując wypętlenie się nici DNA. Z kolei, wypętlenie nici DNA umożliwia oddziaływanie czynników transkrypcyjnych na cząsteczkę polimerazy, które prowadzi do wzmocnienia lub wyciszenia transkrypcji danego genu.

<sup>2</sup>Nicenie mają chitynowy oskórek i dlatego wraz ze stawonogami należą do nadtypu *Ecdyzoa*. Większość gatunków obecnie żyjących nicieni, to małe, 1mm nicienie glebowe o bardzo uproszczonej budowie ciała. Istnieją dane paleontologiczne wskazujące na redukcję ich wielkości w trakcie ewolucji. Nicienie posiadają bardzo rozwinięty repertuar genów ograniczających wzrost ciała, co może być jedną z przyczyn ich nieoczekiwanie dużej liczby genów. Inną przyczyną mogą być adaptacje fizjologiczne nicieni do potencjalnie bardzo różnorodnych warunków panujących w glebie np. do obecności mikroorganizmów, które wytwarzają toksyny.

<sup>3</sup>Jak wynika z przytoczonych danych, w genomie ludzkim obok bardzo oszczędnego zapisu istotnej informacji genetycznej występuje ogromna ilość niekodującego DNA, któremu nie można przypisać określonej funkcji. Artykuł KORONY w tym zeszycie KOSMOSU omawia prawdopodobne pochodzenie tego balastu na drodze działania dryfu genetycznego w stosunkowo ograniczonych liczebnie populacjach wyższych organizmów.



Ryc. 2. Schemat wielostopniowej (kaskadowej) regulacji aktywności genów docelowych przez czynniki transkrypcyjne.

Niekiedy obok wzmacniaczy transkrypcji, lub zamiast nich, występują wyciszacze (ang. silencers) i wtedy przyłączane do nich białka wyciszają transkrypcję. Ten rodzaj regulacji transkrypcji genów przez geny nadrzędne może mieć charakter wielostopniowy, czyli jak to się często określa kaskadowy (Ryc. 2). W ten sposób podczas rozwoju organizmu czynniki transkrypcyjne włączają kolejno całe podprogramy, specyficzne dla danej części ciała, potem dla danego narządu i wreszcie dla ostatecznie zróżnicowanych komórek. Analogicznie w komputerze w zależności od okoliczności naciśnięcie pojedynczego klawisza może oznaczać wprowadzenie pojedynczej litery do pisanego tekstu, albo całego programu bądź podprogramu. Ewolucyjne znaczenie tej regulacji potwierdza fakt, że wiele spośród czynników transkrypcyjnych ma niezwykle konserwatywny charakter.

## ZNACZENIE MUTACJI I GENÓW HOMEOTYCZNYCH DLA PROCESU EWOLUCJI STAWONOGÓW, ORAZ ROZPOWSZECZENIE GENÓW HOX W CAŁYM ŚWIECIE ZWIERZĘCYM

### MUTACJE HOMEOTYCZNE U OWADÓW

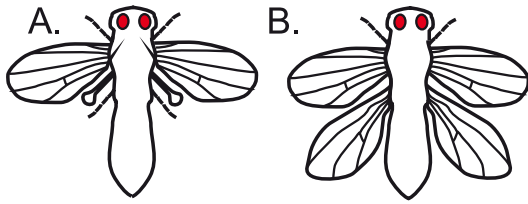
Mutacjami homeotycznymi nazywamy takie mutacje, które zamieniają przydatki charakterystyczne dla danego segmentu ciała owadów lub szerzej stawonogów na przydatki innego segmentu, a genami homeotycznymi geny, w których mapują się wyżej wymienione mutacje. Najbardziej znanymi mutacjami homeotycznymi są mutacje *bithorax* (*bx*), które powodują, że przezmianki, czyli zredukowana druga para skrzydeł muchy, stają się znów pełnymi, błoniastymi skrzydłami podobnymi do skrzydeł pierwszej pary (Ryc. 3). Warto od razu zauważyć, że mutacje te dotyczą cechy diagnostycznej dla całego rzędu muchówek, a więc takiej cechy, która pozwala odróżnić muchówki od innych rzędów owadów na przykład od błonkówek (Ryc. 3). Inna mutacja, zwana *Antennapedia*, powoduje, że zamiast czułków na głowie muchy, na ich miejscu, powstają w pełni rozwinięte odnóża krocne. Blisko 30 lat temu okazało się, że produktami genów homeotycznych są białka o charakterze czynników transkrypcyjnych i że były one bardzo silnie konserwowane w procesie ewolucji. Ta część cząsteczki białkowej, która łączy się ze wzmacniaczami regulowanych genów nosi nazwę homeodomeny, a sekwencja kodująca homeodomenę nosi nazwę homeoboksu (w skrócie *hox*). Homeodomena zawiera 60 aminokwasów i

posiada konformację trzeciorzędową: helisa-skręt-helisa, a sekwencja *homeobox* zawiera odpowiednio 180 par zasad.

### DUPLIKACJE I EWOLUCJA GENÓW HOMEOTYCZNYCH U STAWONOGÓW

Edward Lewis już w latach 70. wiązał ewolucję segmentacji stawonogów z ewolucją i ekspresją genów homeotycznych. Silna ekspresja normalnego niezmutowanego genu *Antennapedia* zachodzi jedynie w trzech segmentach tułowia muchy i jest wyłączona zarówno w segmentach głowy jak i w segmentach odwłoka owada. Dlatego można było oczekiwać, że w tych grupach stawonogów, które posiadają więcej niż 3 pary odnóży krocnych, ekspresja genu *Antennapedia* będzie odpowiednio rozszerzona na większą liczbę segmentów. Od dawna uważano, że jednymi z najbardziej pierwotnych stawonogów są raki liścionogie (Phyllopodia), które posiadają 11 segmentów tak zwanego tułowia, zaopatrzonych w prymitywne liściowate odnóża. W 1995 r. zgodnie z przedstawioną wyżej hipotezą wykazano, że ekspresja genu *Antennapedia* w zarodku raka liścionokiego *Artemia franciscana* występuje we wszystkich 11 segmentach, na których rozwijają się liściowate odnóża. Liczba 11 odpowiada sumie 3 segmentów tułowia i 8 segmentów odwłoka muchy. W ten sposób po raz pierwszy wykazano, że homologia segmentów sta-





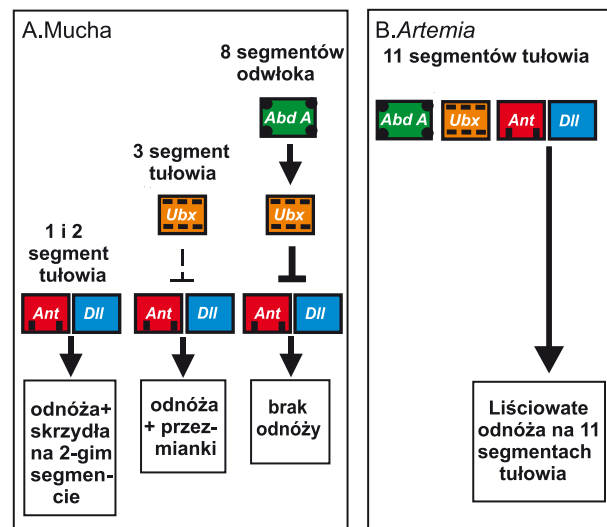
Ryc. 3. (A) Schemat normalnego ułożenia skrzydeł i przezmianek u muchy. (B) schemat ułożenia dwóch par skrzydeł u podwójnego mutantu *bithorax* i *post bithorax*.

wonogów, wyznaczona dawno temu przez zoologów, jest zgodna z ekspresją tych genów, które determinują rozwój ich przydatków segmentalnych. Ekspresja genu *Antennapedia* muchy jest kontrolowana przez dwa inne geny homeotyczne *Ultrabithorax* (*Ubx*) i *Abdomen A* (*Abd A*), które podlegają silnej ekspresji w odwłoku, wyłączając transkrypcję genu *Ant*, co wykazano bezpośrednio w badaniach *in vitro* (Ryc. 4A). Gen *Ubx* podlega także częściowej ekspresji w trzecim segmencie tułowia muchy, co hamuje rozwój skrzydeł, ale zezwala na rozwój trzeciej pary odnóży i dlatego opisane wyżej mutacje *bithorax* mapują się w genie *Ubx*.

U *Artemia*, w przeciwieństwie do muchy, ekspresje *Ultrabithorax* i *Abdomen A*, tak jak ekspresja *Antennapedia*, występują we wszystkich 11 segmentach tułowia, na których rozwijają się liściowate odnóży. Podobne wyniki uzyskano dla wijów (*Myriapoda*), u których również podczas ich rozwoju występuje jednoczesna ekspresja wszystkich trzech omawianych genów na licznych segmentach zaopatrzonych w odnóży kroczone (Ryc. 4B). Te odkrycia oznaczały, że produkty genów *Ubx* i *Abd A* u *Artemia* i u wijów nie hamują ekspresji genu *Antp* i że charakterystyczna hierarchiczna regulacja funkcji tego genu powstała w trakcie ewolucji stawonogów, prowadząc do redukcji liczby ich odnóży. Dlatego AVEROF i AKAM (1995) sądzili, że geny *Ant*, *Ubx* i *Abd A* powstały na drodze duplikacji pojedynczego genu, który występował u hipotetycznego wspólnego przodka dzisiejszych skorupiaków i owadów, a dopiero następnie sekwencje te różnicowały się w taki sposób, że produkty genów *Abd A* i *Ubx* regulują funkcje genu *Ant* i innych genów determinujących rozwój odnóży tak jak to opisałem wyżej. Okazało się, że rozwój odnóży u stawonogów zależy także od drugiego genu homeotycznego *Distal less* (*Dll*), które-

go ekspresja u muchy jest również regulowana przez nadrzędny gen *Ubx* (Ryc. 4).

Hipoteza ta była testowana przez RANGHAUSEN i współaut. (2002). Pewną trudność w ich badaniach stanowił fakt, że odnóży u muchy powstają dopiero po przepoczwarczeniu się owada. Jednakże na trzech segmentach tułowia larwy muchy występują parzyste, czuciowe narządy Keilina, których położenie odpowiada późniejszemu położeniu odnóży, i które nie występują na segmentach odwłoka. Dlatego RANGHAUSEN i współaut. (2002) uważali, że narządy Keilina stanowią larwalny odpowiednik odnóży postaci dorosłej. Następnie wykazali oni, że dodatkowy (ektopiczny) gen *Ultrabithorax* wprowadzony do zarodka *Drosophila* podlegał ekspresji w segmentach tułowiowych larwy muchy i hamował w nich powstawanie narządów Keilina, czyli „odnóży larwalnych”. Ale z kolei dodatkowy gen *Ultrabithorax* pobrany z *Artemia* i wprowadzony do zarodka muchy nie hamował rozwoju narządów Keilina czyli „odnóży larwalnych”. Następnie RANGHAUSEN i współaut. (2002) utworzyli szereg mozaikowych konstruk-



Ryc. 4. (A) Regulacja ekspresji (transkrypcji) *Antennapedia* u muchy. Produkt genu *Ultrabithorax* jest czynnikiem transkrypcyjnym, który wycisza transkrypcję *Antennapedia*. Gen *Abdomen A* jest czynnikiem transkrypcyjnym, który aktywuje transkrypcję genu *Ultrabithorax* w odwłoku muchy. (B) Ekspresja czterech genów *Abdomen A*, (*AbdA*) *Ultrabithorax* (*Ubx*), *Antennapedia* (*Ant*) i *Distalless* (*Dll*) we wszystkich 11 segmentach tułowia *Artemia*, na których występują liściowate odnóży, wskazuje na brak regulacji genu *Antennapedia* i *Distalless* przez pozostałe dwa geny.

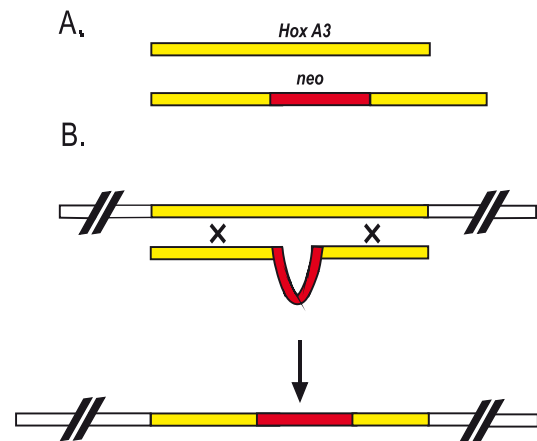
tów genowych, które zawierały część genu *Ultrabithorax* pobranego z *Artemia* i drugą część podobnego genu *Drosophila*. W ten sposób znaleźli oni te różnice w sekwencji obu genów, które determinowały inhibicję rozwoju narządów Keilina przez białko Ultrabithorax. Sekwencja *homeoboks* była niezmienną, ale w C-końcowej części białka Ultrabithorax *Drosophila* występowały krótkie odcinki polialaninowe, które w wielu miejscach zastępowały serynowe i treoninowe reszty aminokwasowe białka Ultrabithorax *Artemii*. Jeżeli C-końcowy odcinek mozaikowego genu *Ubx* pochodził z *Artemii*, a reszta z sekwencji *Ubx Drosophila*, i jeżeli gen ten był wprowadzany do zarodka *Drosophila*, to stopień zahamowania rozwoju narządów Keilina był tym większy, im dłuższy jego fragment pochodził z *Drosophili* i tym mniejszy im dłuższy jego fragment pochodził z *Artemii*. W ostatecznym rachunku zahamowanie rozwoju narządów Keilina (odpowiednik larwalnych odnóży) przez białko Ultrabithorax wytwarzane przez dodatkowy i mozaikowy gen zależało od liczby miejsc, w których reszty serynowe lub treoninowe były zastępowane przez reszty alaninowe. Ta ostatnia konkluzja była być może najważniejsza, bo sugeruje, że redukcja liczby odnóży w trakcie ewolucji stawonogów mogła mieć charakter stopniowy, a nie jednoczesny.

#### POWSZECHNOŚĆ WYSTĘPOWANIA GENÓW *HOX* W CAŁYM ŚWIECIE ZWIERZĘCYM

Dalsze badania, w których stosowano sondy molekularne wykrywające sekwencję *homeoboks* wykazały, że homologi owadzych genów homeotycznych, występują we wszystkich grupach zwierząt, od jamochłonów począwszy a na ssakach i człowieku kończąc, niezależnie od tego, czy dane zwierzę wykazuje segmentację czy nie. Geny te nazywano genami *hox*, co oznaczało, że zawierają one sekwencje *homeoboks*, ale to nie przesądzało, jaką rolę geny te pełnią w rozwoju zwierzęcia. Okazało się, że u kręgowców występują aż 4 zespoły genów *hox*, oznaczone literami A, B, C, i D, które są aktywne w czasie ich rozwoju zarodkowego w układzie nerwowym (cewka nerwowa) oraz w somiach (woreczkach) mezodermalnych (MCGINNIS 1954). Na uwagę zasługuje fakt, że somity podczas rozwoju embrionalnego kręgowców wykazują metamerię, chociaż mają pochodzenie mezodermalne, a więc inne niż segmenty stawonogów, które mają głównie charakter ektodermalny.

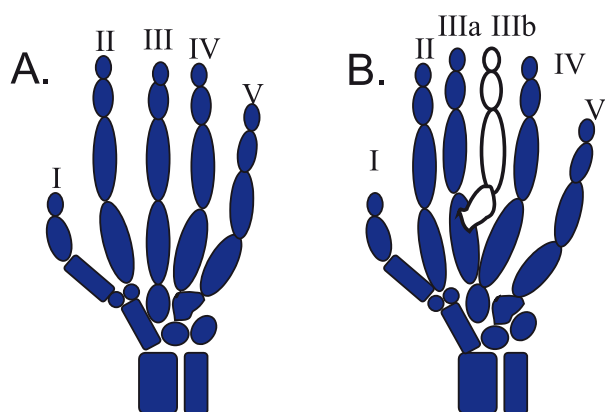
#### FUNKCJA GENÓW *HOX* U KRĘGOWCÓW

Pozostawało jednak pytanie, jaką rolę pełnią geny *hox* w rozwoju ssaków. W 1991 r. Mario CAPECCHI znokautował gen *Hox A3* myszy, którego ekspresja występuje w przedniej części zarodka ssaka, wstawiając w jego miejsce nieczynny konstrukt. Konstrukt ten zawierał bakteryjny gen odporności na antybiotyk neomycynę, wprowadzony do środka sekwencji genu *hox A3*. W ten sposób gen *Hox A3* był znokautowany przez brak ciągłości jego sekwencji, a jednocześnie odporność na neomycynę, pozwalając na selekcję komórek ze znokautowanym genem (Ryc. 5). Otrzymany konstrukt został następnie wprowadzony do komórek, które w hodowli *in vitro* zachowują charakter komórek embrionalnych, czyli są komórkami macierzystymi (ang. pluripotent stem cells). Po selekcji przy pomocy neomycyny, komórki ze znokautowanym genem *Hox A3* CAPECCHI wprowadził do zarodka myszy. Jeżeli komórki ze znokautowanym genem wchodziły do pasma płciowego (co oczywiście nie zawsze miało miejsce), to w następnym pokoleniu można było otrzymać płody ze znokautowanym genem. Nokaut genu *Hox A3* spowodował



Ryc 5. Schemat nokautu genetycznego genu *hox A3* u myszy.

(A) Do sekwencji genu *Hox A3* zostaje wprowadzony bakteryjny gen odporności na neomycynę. (B) Konstrukt ten jest wprowadzany na drodze elektroporacji do jądra komórki biorcy i rekombinuje z genem chromosomalnym; w ten sposób gen macierzysty zostaje zamieniony na wprowadzony konstrukt. Transkrypcja sekwencji wprowadzonego konstrukt ma podwójny efekt: nie powstanie funkcjonalne białko *hox A3* i komórka będzie odporna na neomycynę, co pozwala na selekcję komórek ze znokautowanym genem.



Ryc. 6. (A) Schematy ułożenia kości palców i śródreźca człowieka (A) w normalnym osobniku (B) w przypadku synpolidaktylii. Dodatkowy palec IIIb kolor biały. (wg MURAKAGI i współaut. 1966, zmodyfikowany).

dramatyczne skutki: między innymi brak rozwoju szczęki dolnej, niedorozwój tarczycy i przedniego łuku aorty (patrz CAPECCHI 1994; KACZANOWSKI i KACZANOWSKA 2001, 2002). Wynik ten oznaczał, że geny *hox* u ssaków kontrolują rozwój określonych struktur, podobnie jak geny homeotyczne stawonogów, pomimo wszelkich różnic jakie występują w budowie i w rozwoju zwierząt w tych odległych od siebie gałęziach ewolucyjnych. Warto także zauważyć, że był to pierwszy nokaut genu myszy i że od tego czasu znokautowano około 10 000 mysich genów, a w 2007 r. Capecchi wraz z Olivierem Smithem i Martinem Evansem otrzymał nagrodę Nobla (NOBLE ARCHIVE).

Następnie znaleziono odpowiednik spontanicznych owadziech mutacji homeotycz-

nych u człowieka. Tym odpowiednikiem jest wrodzona wada genetyczna nazwana synpolydaktylią, która polega na powstawaniu 6 zamiast 5 palców we wszystkich czterech kończynach, przy czym dodatkowy palec IIIb jest zrosnięty z właściwym palcem wskazującym (Ryc. 6). Ponieważ nokaut genu *Hox D13* u myszy spowodował ubytki kości w obrębie śródstopia i palców, zbadano sekwencję genu *hox D13* u ludzi dotkniętych synpolydaktylią, chociaż wada ta nie była związana z ubytkami elementów kostnych, a wprost przeciwnie powodowała ich nadmiar. W tym celu zastosowano metodę PCR, używając starterów polimerazy DNA zapożyczonych z mysiego genu *HoxD13*. Okazało się, że zgodnie z oczekiwaniami gen *HoxD13* u ludzi dotkniętych synpolydaktylią był zmutowany i zawierał wstawkę, która kodowała kilkanaście alanin w łańcuchu białkowym, przy czym mutacja ta miała charakter dominujący (MURAKAGI i współaut.1996). Nie wiemy wprawdzie w jaki sposób wstawki polialaninowe determinują funkcję genu *Hox D13* człowieka, ale warto zauważyć, że tak jak pisałem wyżej niewielkie odcinki polialaninowe występują u muchy w genie *Ultrabithirax* i determinują jego zdolność do inhibicji rozwoju narządów Keilina, czyli „odnoży larwalnych”.

Reasumując ten z konieczności niepełny przegląd dotyczący genów *hox* widzimy, że ich występowanie w genomie jest jedną ze wspólnych cech wszystkich zwierząt i że produkty tych genów, które są czynnikami transkrypcyjnymi, działają w podobny sposób i stanowią ważny element programu rozwoju w odległych od siebie gałęziach ewolucyjnych świata zwierzęcego.

## ROLA $\beta$ -KATENINY JAKO CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO W ROZWOJU ZWIERZĄT

Jednym z białek, które są rozpowszechnione w całym świecie zwierzęcym i które regulują istotne procesy rozwojowe jest  $\beta$ -katenina. Białko to pełni podwójną funkcję. Spolimeryzowane łańcuchy  $\beta$ -kateniny wchodzi w skład połączeń międzykomórkowych, które występują w nabłonkach, a jej niespolimeryzowane cząsteczki podlegają degradacji proteasomalnej na terenie cytoplazmy. Degradacja ta wymaga fosforylacji z udziałem kilku białek. Jeżeli jednak szlak degradacji  $\beta$ -kateniny jest wyłączony, to jej pojedyncze niespolimeryzowane cząsteczki stają się ważnym czynnikiem transkrypcyjnym, a więc pełnią

zupełnie inną funkcję niż to ma miejsce w większości komórek nabłonkowych (KACZANOWSKI, KACZANOWSKA 2001).

### $\beta$ -KATENINA JAKO CZYNNIK INDUKUJĄCY POWSTAWANIE POLIPÓW W JELICIE CZŁOWIEKA

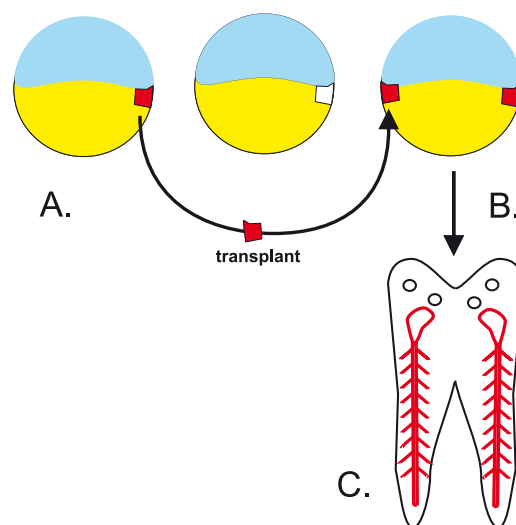
Jednym z białek, które biorą udział w procesie fosforylacji, a w konsekwencji degradacji  $\beta$ -kateniny, jest białko APC. Mutacja genu, który koduje APC, wywołuje u ludzi wadę genetyczną określaną skrótem FAPC (ang. familial adeno poliposis coli). Jest to rodzinna, a więc dziedziczona w sposób mendelowski, skłonność do tworzenia wielokrot-



nych polipów okrężnicy które początkowo są łagodnymi nowotworami, ale prędzej czy później przekształcają się w nowotwory złośliwe typu adenoma. Co się wówczas dzieje? Wolna niespolimeryzowana  $\beta$ -katenina wchodzi do jąder komórek nabłonka jelitowego i aktywuje transkrypcję wielu genów, których produkty pobudzają podziały komórek, a co za tym idzie proces nowotworzenia. Z kolei, wprowadzenie dodatkowej kopii genu APC u myszy powodowało brak zdolności do niezbędnej regeneracji nabłonka jelitowego.

#### ROLA $\beta$ -KATENINY W ROZWOJU ZARODKA KRĘGOWCÓW

W 1935 r. nagrodę Nobla z fizjologii otrzymał niemiecki uczone Hans Spemann za eksperymenty, jakich dokonał na zarodkach płaza. Komórki zarodka płaza w stadium gastruli podlegają wpukleniu, które wyznacza położenie zawiązków narządów leżących po stronie grzbietowej. W zarodku można więc wyróżnić stronę grzbietową i przeciwną do niej stronę brzuszną. Hans Spemann wykazał, że na stadium gastruli operacyjne przeszczepienie pewnego fragmentu grzbietowej strony zarodka (nazwanego organizatorem) na stronę brzuszną innego zarodka powoduje rozwój dodatkowych struktur grzbietowych u biorcy tego przeszczepu na jego stronie brzusznej. Były to między innymi dodatkowo: cewka nerwowa, struna grzbietowa woreczki mezodermalne i somity mięśniowe (Ryc. 7). W ten sposób powstawały zarodki o podwójnej osi ciała przypominające zarodki „braci syjamskich”. Doświadczenia Spemann i Mangold są omówione w pracach przeglądowych GERHARTA i KIRSHNERA (1997) i GILBERTA (2006) oraz KACZANOWSKIEGO i KACZANOWSKIEJ (2001). W latach 90. okazało się, że w tak zwanym organizatorze Spemanna znajduje się wolna (nie spolimeryzowana)  $\beta$ -katenina, a co więcej, że wstrzyknięcie mRNA  $\beta$ -kateniny do komórek brzusznej strony zarodka płaza powoduje ten sam efekt co transplantacje wykonane przez Spemanna, a więc indukuje powstawanie podwójnego zarodka<sup>4</sup> (FUNAYAMA i współaut. 1995, GILBERT 2006).



Ryc. 7. Schemat doświadczenia Spemanna.

Zaznaczony fragment (organizator) pobrany z zarodka, gastruli, płaza(A) zostaje przeszczepiony do drugiego zarodka (B) tak jak to wskazano na schemacie. (C) W wyniku tego przeszczepu rozwija się podwójny zarodek. Na schemacie tym zaznaczono podwójną cewkę nerwową i pary odchodzących od niej nerwów (wg GERHARTA i KIRSHNERA 1997, zmodyfikowany).

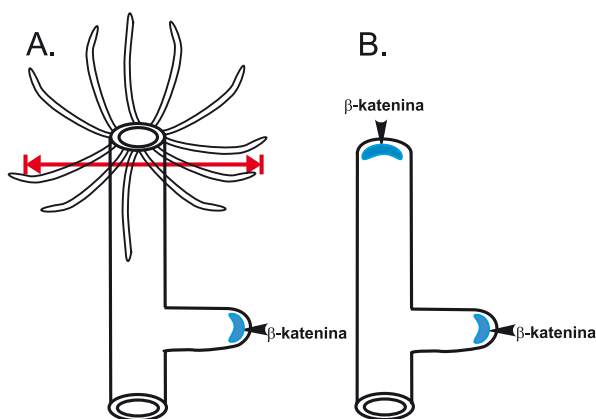
#### ROLA $\beta$ -KATENINY W ROZWOJU SEGMENTÓW OWADA

Mniej więcej w tym samym czasie wykazano, że wolna  $\beta$ -katenina pełni także ważną rolę w rozwoju larwy muchy, stymulując powstawanie na jego brzusznej stronie ząbków kutikularnych na przednim brzegu każdego segmentu tułowiowego i odwłokowego larwy. Wyłączenie procesu degradacji wolnej  $\beta$ -kateniny zależało od pewnego autokrynowego czynnika (peptydu wnt) wydzielanego na zewnątrz do środowiska i wylapywanego przez trans błonowe receptory tych samych komórek kutikularnych. Oddziaływanie liganda wnt na jego receptor uruchamiało wewnątrz komórki szlak oddziaływań cząsteczek białkowych, których ostatecznym rezultatem była inhibicja fosforylacji i degradacji nie spolimeryzo-

<sup>4</sup>Badania nowotworów okrężnicy oraz innych nowotworów związanych z podwyższonym poziomem wolnej  $\beta$ -kateniny w komórce, a także badania nad zarodkami płazów wykazały, że czynnikami transkrypcyjnymi nie są pojedyncze cząsteczki niespolimeryzowanej  $\beta$ -kateniny lecz heterodimery które tworzy ona z cząsteczkami jednego z białek z rodziny LEF1/TCF. Dimery te powstają na terenie cytoplazmy i podlegają translokacji do jąder komórek oddziałując na transkrypcję wielu genów.

<sup>5</sup>HOBMAYER i współaut. (2000) wykazali nawet, że mRNA  $\beta$ -kateniny stułbi wstrzyknięte do blastomerów brzusznej strony zarodka płaza indukowało powstawanie „drugiej osi ciała” czyli podwójnych zarodków tak jak to miało miejsce w przypadku wstrzyknięcia własnego mRNA i w doświadczeniach Spemanna (Ryc 7).





Ryc. 8. Występowanie wolnej  $\beta$ -kateniny u stułbi (A) w pączkach polipów (B). Po obcięciu „głowy” polipa (otwór jamy chłonąco-trawiennej zaopatrzonej w wieniec czułków)  $\beta$ -katenina występuje także na szczycie regenerującego polipa.

wanej  $\beta$ -kateniny. Wolna  $\beta$ -katenina wchodziła do jąder komórkowych i jako czynnik transkrypcyjny indukowała powstawanie ząbków kutikularnych, wzmacniając trans-

krypcję wielu genów. Badania te przyczyniły się do poznania tak zwanej kanonicznej ścieżki wewnątrz komórkowej transdukcji sygnału wnt.

#### ROLA $\beta$ -KATENINY W ROZWOJU I REGENERACJI HYDRY

Wreszcie w 2000 r. opisano obecność wolnej  $\beta$ -kateniny u stułbiopławów w rozwijających się pączkach bocznych i co więcej, w regenerujących „głowach” polipów stułbi (Ryc. 8) (HOBMAYER i współaut. 2000; patrz także KACZANOWSKI i KACZANOWSKA 2001). Odkrycie to wykazało nie tylko powszechność występowania samej  $\beta$ -kateniny w całym świecie zwierzęcym, ale także jej funkcje w regulacji rozwoju począwszy od jamochłonów (stułbi) a kończąc na kręgowcach i człowieku<sup>5</sup>. Zdumienie budzi fakt, że wieloznaczne słowo „polip” nie tylko opisuje formę ciała stułbi i pewne typy nabłonkowych łagodnych nowotworów u człowieka, ale że to jak się wydawało powierzchowne podobieństwo odnosi się w obu przypadkach do podobnych mechanizmów, które regulują podziały i różnicowanie się komórek.

### ZNACZENIE EWOLUCYJNE PROGRAMOWANEJ ŚMIERCI KOMÓREK (APOPTOZY) W ŚWICIE ZWIERZĘCYM

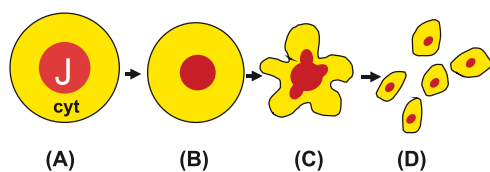
#### ROLA APOPTOZY W ROZWOJU ZWIERZĄT I CZŁOWIEKA

W 1977 r. John Sulston badając embrionalny rozwój nicienia po raz pierwszy zauważył, że niektóre komórki kurczą się a następnie znikają i że są to komórki położone zawsze w tych samych miejscach zarodka i powstające w wyniku tych samych podziałów komórkowych. Ponieważ śmierć komórek stanowiła nieodłączny element programu rozwojowego nicienia, zjawisko to nazwano programowaną śmiercią komórek, czyli apoptozą. W kilka lat później Sulston i Horwitz opisali apoptozę w trakcie postembrionalnego rozwoju nicienia, oraz otrzymali szereg mutantów tego procesu<sup>6</sup>.

I znowu w każdym przypadku można było precyzyjnie wyznaczyć miejsce, czyli zmapować, komórki podlegające apoptozie w danym stadium larwalnym. W 2002 r. Sulston, Horwitz i Brenner otrzymali nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za,

jak to podano w oficjalnym komunikacie, „ich odkrycia dotyczące genetycznej regulacji rozwoju organów i programowanej śmierci komórek” (NOBLE ARCHIVE). Dlaczego Komitet Noblowski uznał, że odkrycia dotyczące procesu apoptozy u bardzo małego nicienia są tak ważne dla medycyny? Dlatego, że jak się wkrótce okazało, proces apoptozy zachodzi we wszystkich pozostałych grupach zwierząt i u człowieka. Polega on na utracie wody przez komórkę (komórka się kurczy), która następnie rozpada na tak zwane ciała apoptotyczne (Ryc. 9), które w przypadku ssaków i człowieka są uprzątane przez makrofagi. Dla naszych rozważań najistotniejsze jest to, że apoptoza zachodzi we wszystkich grupach zwierząt od jamochłonów, a począwszy od nicieni jest niezbędnym elementem programu rozwojowego. Rozległa apoptoza występuje między innymi wewnątrz poczwerek tych owadów, które przechodzą przeobrażenie zupełne. W trakcie rozwoju ssaków apopto-

<sup>6</sup>W rozwoju postembrionalnym nicieni przechodzi przez 4 stadia larwalne oddzielone kolejnymi linieniami. Jednakże tylko niektóre komórki zachowują zdolność do dalszych podziałów (komórki progenitorowe), a liczba wszystkich komórek zwiększa się jedynie z 650 do 1000 kiedy dorosły nicieni osiąga długość około 1 mm.



Ryc. 9. Schemat przebiegu procesu apoptozy.

(A) Stan początkowy; jądro komórkowe (J), cytoplazma (cyt). (B) Komórka kurczy się po utracie części wody; jądro podlega kondensacji i staje się ciemniejsze. (C i D) Komórka rozpada się na ciała apoptotyczne.

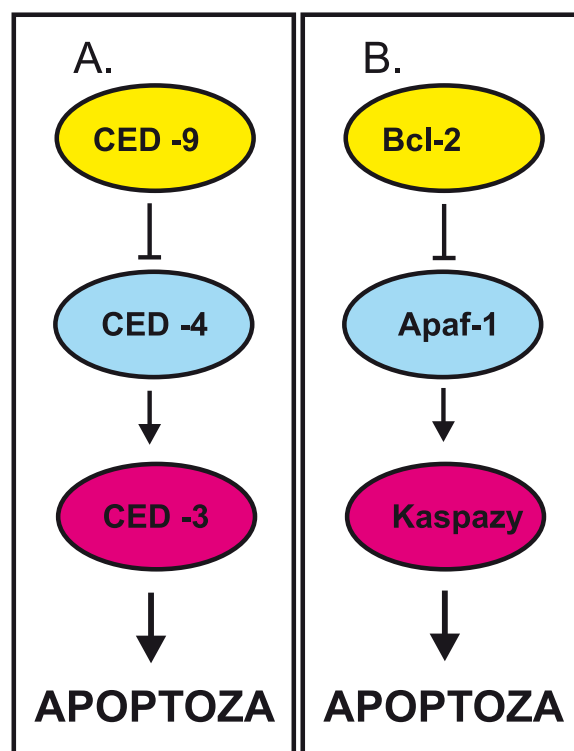
za zachodzi w zawiązkach kończyn, rozdzielając poszczególne palce stóp lub dłoni. Bez tej apoptozy palce ludzkie byłyby połączone fałdem skórny, tak jak to ma miejsce w stopach ptaków wodnych. Podczas rozwoju ludzkiego mózgu apoptoza obejmuje także około 1/3 jego neuronów w krótkim czasie po urodzeniu się dziecka. W ten sposób likwidowane są te neurony, pomiędzy którymi nie zachodzi przepływ sygnałów związany z wydzielaniem neurotransmiterów. Istnieją dane wskazujące na to, że zahamowanie apoptozy neuronów mózgowych w okresie postnatalnym powoduje poważne zaburzenia psychiczne.

#### ROLA APOPTOZY W REGULACJI FUNKCJI DOROSŁEGO ORGANIZMU SSAKA, W TYM CZŁOWIEKA

(a) Apoptoza może być odpowiedzią na niereperowalne uszkodzenia DNA i w komórkach linii płciowej stanowi ostatnią szansę wyeliminowania dziedzicznej wady genetycznej przekazywanej przez plemnik lub komórkę jajową. Natomiast jeżeli apoptoza zachodzi w komórkach somatycznych z uszkodzeniami DNA, to stanowi ona ostatnią linię obrony przed groźącą transformacją nowotworową.

(b) Apoptoza pełni też ważne funkcje w układzie immunologicznym. Cytotoksyczne limfocyty T wywołują apoptozę w komórkach, które prezentują na swojej powierzchni fragmenty obcych białek, na przykład białek wirusowych. Wówczas sygnał apoptotyczny indukowany jest przez zewnątrz-komórkowe sygnały związane z receptorami błonowymi (FAS-FAS ligand).

(c) Apoptoza jest indukowana w komórkach nowotworowych hamując ich wzrost przez tak zwany czynnik martwicy nowotworu (ang. tumour necrosis factor, TNF), który przyłącza się do odpowiedniego receptora



Ryc. 10. Homologie białek regulujących proces apoptozy u (A) nicienia i (B) u ssaków (w tym u człowieka).

na powierzchni komórek nowotworowych i powoduje ich eliminację.

#### HOMOLOGIA BIAŁEK I GENÓW REGULUJĄCYCH PROCES APOPTOZY NICIENIA I CZŁOWIEKA

Proces apoptozy u nicienia zależy od genów *CED* (ang. cell death). Białko CED 9 jest białkiem antyapoptotycznym, a delekcja genu *CED 9* zwiększa liczbę komórek, które podlegają apoptozie. Inne białko CED 4 aktywuje białko CED 3 i to białko z kolei jest „egzekutorem” procesu apoptozy. Białko CED 3 jest proteazą cysteinową z rodziny kaspaz. (Ryc. 10A). Odpowiednikami białek CED9 i CED 3 nicienia są białka Bcl2 i Apaf 1 u człowieka. Natomiast w miejsce jednej kaspazy CED 3 u nicienia, u ssaków, w tym człowieka, występuje wiele kaspaz, które umożliwiają występowanie zróżnicowanego repertuaru odpowiedzi apoptotycznych zachodzących zarówno w czasie rozwoju jak i w dorosłym organizmie, tak jak to przedstawiłem w bardzo dużym uproszczeniu powyżej (Ryc.10B). Przypuszczamy, że powstanie tego repertuaru wymagało wielokrotnych duplikacji pierwotnego „pragenu” kodującego kaspazę. Warto

zauważyć, że białko Apaf 1 występuje w dwucząsteczkowych kompleksach wraz z jego inhibitorem Bcl2 i że aktywacja białka Apaf1 wymaga jego uwolnienia z tych kompleksów. W przeciwieństwie do genów *hox*

regulacja funkcji genów w procesie apoptozy nie dotyczy ich transkrypcji, lecz wytworzonych już białek, czyli ma charakter post translacyjny.

#### DZIAŁANIE DOBORU NATURALNEGO NA MUTACJE, KTÓRE WPROWADZAJĄ ISTOTNE ZMIANY W BUDOWIE ORGANIZMU

W dotychczasowym tekście starałem się wykazać, że w wielu przypadkach podobne (homologiczne) geny programu rozwojowego występują w całym świecie zwierząt (np. geny *hox*, geny kodujące  $\beta$ -kateninę i geny regulujące funkcje  $\beta$ -kateniny) i że geny te w bardzo odległych ewolucyjnie grupach zwierząt regulują podobne mechanizmy rozwoju związane z hierarchiczną regulacją transkrypcji genów, albo z hierarchiczną regulacją funkcji białek na poziomie post translacyjnym. Dlatego można spekulować, że wspólny przodek wszystkich zwierząt posiadał pewien pierwotny zestaw genów programu rozwoju i że posiadanie tego zestawu genów było warunkiem, który umożliwił ewolucję organizmalną świata zwierzęcego. W trakcie tej ewolucji geny programu rozwojowego podlegały duplikacjom, następnie dalszej ewolucji zduplikowanych kopii, i tworzyły coraz bardziej złożone układy hierarchicznej regulacji ich funkcji. Podany przeze mnie przegląd genów programu rozwoju i szlaków rozwojowych wspólnych dla całego świata zwierzęcego jest oczywiście niepełny i z konieczności bardzo uproszczony.

Wielokrotnie w przeszłości przeciwstawiano mikroewolucję, czyli ewolucję w obrębie poszczególnych gatunków i makroewolucję, która dotyczy istotnych różnic w budowie ciała różnych organizmów. Zgodnie z tym, co przedstawiłem w tym artykule, można przyjąć, że makroewolucja = ewolucja programu rozwoju, i tak termin ten jest rozumiany przez współczesnych biologów rozwoju. Rozróżnienie pomiędzy makro- i mikroewolucją kryje w sobie jednak pewną pułapkę. Rodzi ono bowiem pokusę, aby przypisywać makroewolucję działaniu innych mechanizmów, niż te mechanizmy doboru naturalnego, któ-

re występują wewnątrz populacji i prowadzą do specjacji. Takie założenie naruszałoby spójność całej teorii ewolucji i nie znajduje żadnego uzasadnienia empirycznego. Niekiedy sugerowano występowanie „makromutacji”, które obejmowałyby wiele genów jednocześnie i które można by przeciwstawić zwykłym mutacjom. Okazało się jednak, że mutacje chromosomowe, które z definicji mogą obejmować dużą liczbę genów, a w tym poliploidalność (która jest szczególnie częsta w świecie roślin) nie powodują „makroefektów”, czyli dużych zmian morfologicznych. Z kolei, mutacje punktowe, czyli błędy w replikacji pojedynczych nukleotydów, bądź mutacje typu insercji/delecji zachodzą w ten sam sposób w całym genomie. Mogą one jednak mieć bardzo różne konsekwencje fenotypowe w zależności od miejsca ich występowania: (i) mutacje zachodzące w niekodujących odcinkach DNA nie będą przekładane na zmiany fenotypu danego organizmu; (ii) inne mutacje punktowe, występujące w obrębie DNA kodującego białka i zmieniające aminokwasy (nie-synonimiczne) mogą dotyczyć stosunkowo drobnych cech, chociaż istotnych dla szansy przeżycia zwierzęcia, takich jak n. p. barwa włosów czy upierzenia, długość włosa itp.; (iii) wreszcie pojedyncze mutacje w obrębie genów programu rozwoju, takich jak geny homeotyczne lub szerzej geny *hox*, a także w genach kodujących białka szlaków związanych z degradacją bądź funkcją wolnej niespolimeryzowanej  $\beta$ -kateniny mogą mieć natychmiastowe dramatyczne konsekwencje dla budowy ciała zwierzęcia<sup>6</sup>.

Amerykański genetyk Goldshmidt wprowadził kiedyś pojęcie „hopefull monsters”, czyli „nadziejnych potworów” (tłumaczenie z ang. wg Adama Urbanka) i miał na myśli mię-

<sup>6</sup>Warto zauważyć, że mutacje całkowicie znoszące funkcje poszczególnych genów *hox*, lub ich delecje prowadzą z reguły do śmierci muchy już na stadium larwy (brak przeobrażenia). Ponieważ u ssaków występują 4 zespoły genów *hox*, więc nokauty poszczególnych genów są często częściowo kompensowane przez pozostałe kopie, ale nawet wtedy są one źródłem poważnych wad genetycznych (ubytki elementów kostnych w kończynach). Mutacje białek regulujących fosforylację  $\beta$ -kateniny u muchy powodują brak przeobrażenia larw, których segmenty wykazują brak lub nadmiar ząbków kutikularnych. Można oczekiwać, że analogiczne mutacje u kręgowców będą nie tylko letalne ale będą zaburzać wczesny rozwój embrionalny.



dzy innymi mutacje opisanych wyżej much czteroskrzydłych, które powstają w wyniku mutacji homeotycznych. Ktoś jednak celnie zauważył, że z punktu widzenia doboru naturalnego owe „hopeful monsters” są raczej „hopeless monsters”, ponieważ czteroskrzydłość muchy nie będzie zharmonizowana z budową reszty ciała i taka mucha w zwykłych warunkach będzie eliminowana przez dobór naturalny. Wydaje się, że istotna zmiana budowy (zmiana „makro”) jednego narządu czy elementu budowy musi być zharmonizowana z budową reszty ciała i to szczególnie wtedy, kiedy zwierzę stanowi aparat latający. Wprawdzie hierarchiczna regulacja funkcji genów homeotycznych i innych genów programu rozwoju stwarza możliwość zharmonizowania zmian w budowie organizmu, ale nie wydaje się, aby pojedyncza radykalna zmiana budowy mogła być tolerowana przez dobór naturalny zanim nie nastąpiła koewolucja innych cech budowy. W bardzo szczególnych warunkach możliwe są jednak następujące scenariusze.

(1) Bardzo mała grupa przypadkowych osobników, która w wyniku migracji zakłada nową populację w nowym środowisku nie musi być dobrą i pełną reprezentacją wyjściowej populacji. Jeżeli wśród nich znajdują się nosiciele mutacji programu rozwoju to istnieje szansa, że w następnych pokoleniach cechy te będą podlegały takiej ekspresji, która wymusi dostosowanie innych cech budowy, pomimo tego, że dobór naturalny eliminowałby te same osobniki gdyby pozostały one w obrębie macierzystej populacji. Wówczas utrwalenie się mutacji programu rozwoju w populacji następowałoby w wyniku następującego po sobie działania dryfu genetycznego i doboru naturalnego zgodnie z artykułem KORONY w tym zeszycie KOMOSU. Byłby to jednak skrajny przypadek działania dryfu genetycznego i powstaje wątpliwość, czy proponowany wyżej scenariusz jest chociaż w części prawdopodobny. Istnieją jednak pewne dane, które przynajmniej częściowo sugerują taką możliwość. W Ameryce Środkowej występują dwa bardzo blisko spokrewnione gatunki ryb z rodzaju *Xiphophorus*. (Są to tak zwane mieczyki, często hodowane w akwariach). Jeden gatunek, *X. maculatus*, posiada niewielkie plamy pigmentowe na powierzchni ciała, a drugi, *X. helleri*, takich plam nie posiada. Na drodze sztucznej inseminacji można otrzymać mieszańce międzygatunkowe i wówczas w drugim pokoleniu mieszańców rozwijają się

nowotwory złośliwe typu melanoma. Analiza genetyczna tych mieszańców wykazała, że w gatunku *X. maculatus* występuje dodatkowy gen oznaczany jako *Tu*, lub *Xmrk2*, który jest onkogenem (*Tu* z ang. „tumor”, czyli nowotwór). Jest to zduplikowana i zmutowana kopia innego genu *Xmrk1*, który występuje u obu gatunkach ryb i koduje receptor kinazy tyrozynowej (WALTER i KAZANIS 2001). Gen *Tu/Xmrk2* u gatunku *X. maculatus* jest pod kontrolą supresora *Dif* i powoduje, że na ciele ryby występują jedynie stosunkowo niewielkie plamy melaninowe, ale nie rozwija się melanoma. Aktywny supresor *Dif* nie występuje jednak u gatunku *X. helleri*. Krzyżówki międzygatunkowe pomiędzy *X. maculatus* i *X. helleri* mogą stanowić doskonały materiał do badań nad nowotworami typu melanoma i ich supresją. Pozostaje jednak pytanie, w jaki sposób mógł powstać układ dwóch genów *X. maculatus*, który indukuje i kontroluje plamy ciemnego ubarwienia skóry. Nawet zakładając, że takie ubarwienie ma pewną wartość adaptacyjną, trudno sobie wyobrazić, że przeważała ona nad skłonnością do nowotworzenia, zanim powstał odpowiedni supresor. A jeśli tak, to zachodzi pytanie, w jaki sposób nastąpiło utrwalenie się w populacji dodatkowego zduplikowanego genu, który stał się onkogenem. Można oczywiście przypuścić, że mutacje supresora wyprzedziły duplikacje i mutacje onkogeny. Ale i wówczas nie wiemy, jaką wartość adaptacyjną posiadał supresor melanomy, zanim pojawił się właściwy onkogen skoro supresor ten nie występuje w pokrewnym i obecnie współwystępującym gatunku *X. helleri*. Wydaje się, że w obu przypadkach powstanie omawianego układu dwóch genów *X. maculatus* mogło zajść w przeszłości jedynie w bardzo małych izolowanych populacjach, w których dryf genetyczny przeważał nad doбором cech o stosunkowo małej wartości dostosowawczej lub nawet takich cech, które w zwykłych warunkach byłyby eliminowane przez dobór. Pozostaje na razie kwestią otwartą, czy w podobny sposób kiedykolwiek mogło zachodzić utrwalanie się początkowo silnie niekorzystnych mutacji homeotycznych.

(2) Wiadomo, że działając parami eteru na wczesne zarodki normalnych, a więc nie zmutowanych much można uzyskać fenokopie mutacji *bithorax*, czyli czteroskrzydłość muchy. Chociaż trudno wyobrazić sobie środowisko, w którym występowałby eter, to z drugiej strony w „dawnych czasach” („dawnych” w odniesieniu do historii

życia na ziemi) mogły występować jakieś szczególne warunki, całkowicie inne niż te, które nam są znane, obecnie powodujące duże zmiany fenotypowe przy tym samym genotypie, na przykład redukcję drugiej pary skrzydeł owada lub odwrotną zmianę. Wówczas mutacje, które w normalnych warunkach dawałyby ten sam efekt, byłyby mutacjami neutralnymi i jako takie prędzej czy później ulegałyby utrwaleniu w populacji poprzez dryf, a po tym byłyby zachowane po ustąpieniu owych szczególnych warunków.

(3) Niektóre mutacje w genach homeotycznych być może miały nie tak radykalny charakter jak obecnie znane mutacje *bitho-*

*rax*, lecz prowadziły do stopniowej redukcji wielkości drugiej pary skrzydeł owada i liczby odnóży stawonogów, tak jak na to wskazywali RAGHAUSEN i współpracownicy (2002). Wówczas „makroewolucja” zachodziłaby na drodze kumulacji drobnych zmian (modyfikacji budowy narządów), które podlegałyby selekcji wewnątrz populacji tak jak wszystkie inne mutacje, zgodnie z kanonem opisywanym w innych artykułach w tym zeszycie KOSMOSU (JERZMANOWSKI, KORONA ŁOMNICKI, PILOT). Łatwo zauważyć, że wyżej wymienione mechanizmy (1), (2) i (3) nie wykluczają się wzajemnie i żaden z nich nie wymaga przyjęcia założeń sprzecznych z teorią doboru naturalnego.

#### EVOLUTION OF MAJOR CHANGES IN ANIMAL MORPHOLOGY. REMARKS ON EVOLUTION OF ANIMAL DEVELOPMENTAL PROGRAM AND ON HUMAN GENETIC HERITAGE

##### Summary

Evolution of complex organisms required additions of new gene loci and appearing of new functions by duplications of preexisting genes and subsequent diversification of duplicated copies. However, the number of genes in genome is surprisingly low in animal and human genomes, since it is limited by genetic load, which is a function of mutation rate and real number of genes. The genetic information of a higher organism is organized in a very economical way. There is hierarchical regulation of genes transcription by transcription factors, and pathways of post translational regulation of activity of gene products that are common for the whole animal kingdom. The roles of *hox* genes, *wnt*/catenin and

apoptosis pathways in animal development, evolution, and homology of genes involved in these regulations (orthologous and paralogous) are discussed in this article. It may be speculated that a common ancestor of all animals contained a set of genes of developmental program which was prerequisite for animal evolution. There is some difficulty in explanation how extensive morphological changes could be favoured by natural selection. The problem of “macroevolution” may be reduced to evolution of developmental program. However, this evolution did not require special mechanisms not consistent with paradigms of the theory of evolution.

##### LITERATURA

- AVEROF M., AKAM M., 1995. *Hox genes and diversification of insects and crustacean body plans*. Nature 376, 420-423.
- CAPECHI M., 1994. *Gen naszym celem*. Świat Nauki 5, 36-63.
- FUNAYAMA N., FAGOTO F., MC CREA P., GUMBIER P. M., 1995. *Embryonic axis induction by the armadillo repeat domain of  $\beta$ -catenin*. J. Cell. Biol. 128, 959-968.
- GERHART J., KIRSHNER M., 1997. *Cells, Embryos and Evolution* Blackwell Science Inc., Malden, Mass 1-642.
- GILBERT S. F., 2006. *Developmental mechanisms of evolutionary change*. [W:] *Developmental Biology*. GILBERT S. F. (red.). Wyd. 8, Sandauer Assoc. Inc, Sunderland Mass, 721-752.
- HOBMAYER B., RENTZCH F., KUHN K., HAPPEL C. M., ROTBACHER U., HOLSTEIN T. W., 2000. *Wnt signaling molecules act in axis formation in the diploblastic metazoan Hydra*. Nature 407, 186-189.
- INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2001. *Initial sequencing and analysis of the human genome*. Nature 409, 860-921.
- INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2004. *Finishing the euchromatic sequence of the human genome*. Nature 431, 931-945.
- JACQUARD A., 1974. *The genetic structure of populations*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- KACZANOWSKI A., KACZANOWSKA J., 2000. *Mechanizmy przestrzennego różnicowania zarodka*. Post. Biol. Kom. 28, 69-98.
- KACZANOWSKI A., KACZANOWSKA J., 2002. *Rola programu genetycznego i sygnałów zewnątrzkomórkowych w embriogenezie bezkręgowców*. [W:] *Molekularne Mechanizmy Rozwoju zarodkowego*. KRZANOWSKA H., SOKÓŁ W., MISIAK L. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa, 9-104.
- KRZANOWSKA H., 1997. *Zapis informacji genetycznej*. [W:] *Zarys Mechanizmów ewolucji*. KRZANOWSKA H., ŁOMNICKI, A. (red.), Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 17-68.
- KUBICZ A., 1999. *Tajemnice Ewolucji molekularnej*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- MAKAŁOWSKA J., KABZA M., CIOMBOROWSKA J., 2009. *Ewolucja struktury genów*. Kosmos 58, 5-16.

- MCGINNIS W., Kundziera M., 1994. *Molekularni architekci*. Świat Nauki 4, 38-44.
- MURAKAGI Y., MUNDLOS S., UPTON J., OLSEN B. R., 1966. *Altered growth and branching pattern in synpolydactyly caused by mutation in Hox D13*. Science 272, 548-551.
- NOBEL PRIZE INTERNET ARCHIVE. Nobel Prize in Physiology or Medicine winners 1901-2008.
- OHNO S., 1985. *Dispensable genes*. Trends Genet. 160-164.
- RANGHAUSEN M., MCGINNIS N., MCGINNIS W., 2002. *Hox protein mutation and macroevolution of the insect body plan*. Nature 415, 914-917.
- WALTER R. B., KAZANIS S., 2001. *Xiphophorus interspecies hybrids as genetic model of induced neoplasia*. Ilar J. 42, 299-321.