ГЕНОМ ЛЮДИНИ ТА МЕТОДИ ЙОГО ВИВЧЕННЯ
ЛЕКЦІЯ 10

Тема: Генетика внутрішньоутробного розвитку

План:
1. Чинники транскрипції та ранній розвиток
2. Органогенез
3. Апоптоз
4. Загальні закономірності регуляції онтогенезу

Період внутрішньоутробного розвитку людини традиційно поділяють на дві фази:
1. Фаза розвитку ембріону або ембріональна фаза (перші вісім тижнів)
2. Фаза розвитку плоду або фаза фетального або плацентарного розвитку (починаючи з дев'ятого тижня).

Під час ембріональної фази розвитку закладаються форма та рудименти більшості органів і саме в цей час генетичні аномалії виявляються найбільше, так само і вплив мутагенів в цей час, також має найгірші наслідки для розвитку.

1. Чинники транскрипції та ранній розвиток

Розвиток визначається ієрархією транскрипційних чинників (ТЧ). Вони утворюють складну та розгалужену мережу взаємодії між собою. Певні ТЧ ініціюють одну стадію спеціалізації, що викликає активацію інших ТЧ, що регулюють наступну стадію, та, в свою чергу, вимикають ТЧ першої стадії та активують наступні, які за принципом зворотного зв'язку складним чином втручаються в події, які вже відбулись.

Фундаментальним аспектом раннього розвитку є диференціювання ембріону вздовж передньозадньої осі. У дрозофіли головними передньозадніми районами є грудний відділ (торакс) та черевний відділ (абдомен). У людини та інших ссавців – це різні відділи головного та спинного мозку. У всіх багатоклітинних організмів починаючи з медуз і до людини основні особливості осьової диференціації регулюються групою генів, що має назву НОХ. Білки НОХ – це чинники транскрипції, загальним в їх будові є наявність гомеодомену, яким визначається специфічність їх приєднання до ДНК. Гомеодомен-вмісні гени визначаються за наявністю характерної послідовності ДНК довжиною 183 п.н., що кодує консервативну ділянку білку довжиною 61 а.о. (гомеодомен). Гомеобокс – це пептид, який відіграє ключову роль в регуляції експресії генів через високу спорідненість з певними послідовностями ДНК.

Гени НОХ вперше були відкриті у дрозофіли, вони виявились відповідальними за гомеозис – перетворення одного органу на інший, наприклад, перетворення антен у лапи. У всіх вивчених до нині організмів гени НОХ об'єднанні в кластери.

У людини є чотири таких кластери (A, B, C та D), кожен з них містить 13 генів. Ці кластери розташовані на хромосомах 2, 7, 12 та 17. Всередині кластера спостерігаються значні варіації в амінокислотних послідовностях, які кодуються різними гомеодоменами або прилеглими ділянками, проте послідовності паралогів (генів, що займають одне й те саме положення в кожному кластері) дуже схожі. Так, наприклад, A10 більш схожий на B10, C10 та D10, ніж на A9 чи A11. Це свідчить про те, що паралоги виконують дуже схожі, але не обов'язково що ідентичні функції.

Цікавою особливістю генів HOX є те, що вони експресуються саме в том порядку як вони розташовані в геномі. Тобто, ген 1 експресуються в тих, що формуються першими структурах, а ген 13 – у самих пізніх. Патерн експресії HOX нечіткий, наявні значні перехрестя між прилеглими ділянками тіла, і, до того ж, в останніх районах гени HOX більш активні, ніж в передніх.

Щодо людини поки ідентифіковано лише деякі з мутацій в цих генах. Мутації в гені HOXD13 може викликати синполідактилію (коли зростаються більш ніж п'ять пальців). Ген HOXA13 викликає синдром кість-стопа-геніталії (аномально великі пальці, невеличкі ступні та подвоєні жіночі статеві органи).

Така невелика кількість виявлених мутацій пояснюється тим, що будь-яка мутація, яка суттєво впливає на функцію ТЧ буде летальної, і, скоріш за все, жінка навіть ще й не буде знати про свою вагітність. Тільки мутації з помірним впливом на розвиток доступні для вивчення. Білки HOX важливі не лише на ранніх етапах розвитку, але й на більш пізніх стадіях розвитку окремих органів та тканин. Тому мутації, що зачіпають ці процеси більш доступні для вивчення. Так, мутації генів HOXA10 та HOXA11 зачіпають рецептивність матки, що є вже функцією зрілого організму.

Гени HOX та їх білки ілюструють такі факти щодо експресії генів в процесі розвитку, як комплексність та взаємодію.

Взаємодія генів та їх продуктів досить складна. Припустимо, що є певний ген XYZ який кодує білок XYZ, що може зв'язуватись з регуляторними послідовностями 10-20 інших генів та вмикати або вимикати їх. Проте, насправді цей ген XYZ в різних частинах ембріону може транскрибуватись з різною швидкістю, і, за рахунок альтернативного сплайсингу, він може продукувати кілька альтернативних різновидів білку, тобто бути відповідальним за формування цілої родини білків. Білки, що продукуються геном XYZ, майже завжди взаємодіють з кількома іншими ТЧ для того, щоб ці ТЧ визначились, чи активований ген на який вони націлені. Внаслідок таких взаємодій загальний ефект продуктів гену XYZ може варіювати у широких межах. Наразі людина ще не знає скільки генів є мішенню для кожного конкретного білку з родини HOX, не знає скільки ще інших ТЧ взаємодіють зі специфічними білками HOX та не знаємо нічого про молекули, які впливають на транскрипцію генів HOX.

Іншою групою ТЧ, які впливають на ранній розвиток та діють як регулятори органогенезу є білки PAX. Вони необхідні для підтримки плюріпотентності популяцій стовбурних клітин, тобто на підтримку їх здатності диференціюватись в низку спеціалізованих типів клітин. Білки PAX,

скоріш за все, зв'язуються з енхансерними послідовностями ДНК, модифікуючи таким чином транскрипційну активність генів що розташовані нижче. Визначальною особливістю білків PAX є наявність парного домену, що складається з 128 амінокисотних залишків, які утворюють два регіону зв'язування з ДНК. У людини існує дев'ять генів PAX мутації в яких призводять до дефектів розвитку.

Гени PAX1 та PAX9 експресуються під час розвитку хребта, зачатків кінцівок та тимусу, де вони виявляють патерни експресії що перекриваються. У мишей мутації PAX1 викликають осьові дефекти скелету, а мутації в PAX9 можуть викликати відсутність тимусу та паращитовидних залоз, та, також викликають різноманітні дефекти скелету. У людини мутації в PAX9 викликають олігодонтію – не здатність розвинути шість та більше постійних зубів.

Ген PAX3 експресується на ранніх стадіях розвитку у ссавців в дорзальній нервовій трубці., а саме, у регіоні, що продукує мігруючі клітини нервового гребня. Вони приймають участь в розвитку різних органів, в тому числі серця, периферичних та черевних нервових гангліїв, меланоцитів та шваннових клітин. Дефекти черевних гангліїв, в свою чергу, викликають порушення скорочення ШКТ.

Мутації гена PAX викликають у людини також одну з форм синдрому Ваардебурга. Функція гена PAX6 є провідною в розвитку очей та зору. У людини гетерозиготність за мутацією PAX6 викликає серед інших дефектів анірідію (відсутність райдужки) та катаракту.

Функції білків PAX комплексні. Вони експресуються на декількох стадіях розвитку, взаємодіють з іншими ТЧ та мають тканинну специфічність за рахунок альтернативного сплайсингу.

І Нох-, і Рах-білки зв'язуються з ДНК і активують транскрипцію інших генів. Вважається, що вони діють як перемикачі, що запускають програми тканинно-специфічного розвитку.

2. Органогенез

Детально вивчений процес органогенезу щитоподібної залози. Однією з найрозповсюдженіших вад є вроджений гіпотиреоз, що зустрічається з частотою 1 на 3000-4000 новонароджених. Причиною 85% всіх випадків є тиреоїдний дисгенез – явище за якого щитоподібна залоза або набагато менша за розмірами від норми, або розташована у іншому місці. В процесі ембріонального розвитку утворення щитоподібної залози починається як ендодермальний виріст на задній поверхні глотки. Цей виріст мігрує на передню стінку трахеї протягом перших восьми тижнів вагітності. Після цього деякі клітини починають диференціюватися в тиреоїдні фолікулярні клітини в яких згодом буде вироблятись тиреоїдний гормон. Для цього необхідні органоспецифічні гени, включаючи гени тиреоглобуліну, тиреоїдної пероксидази та рецептора тиреотропіну. Протягом кількох наступних тижнів відбувається екстенсивна проліферація тиреоїдних фолікулярних клітин. У

розвитку та диференціації щитоподібної залози поряд з деякими іншими важливими білками значну роль відіграють такі ТЧ, як TTF1, TTF2 та PAX8.

Іншим прикладом майже дослідженого органогенезу є розвиток кінцівок. Кінцівки мають три осі симетрії (осі напрямку росту): проксимальнодистальну (від центру до країв), передньозадню та дорзовентральну. Для кожної осі існують специфічні ключові гени, але між цими наборами генів спостерігається взаємодія та перекриття функцій.

Для проксимальнодистальної осі вадливу роль відіграють кілька чинників росту фібобластів та їх рецептори. Мутації в цих генах можуть зумовити синдактилію (зростання двох або більше сусідніх пальців кісті або стопи), брахидактилію (короткопалість), зрощення або викривлення довгих кісток та інше.

Однією з найвідоміших аномалій проксимодистального розвитку кінцівок є ахондроплазія (карликовість). За неї відповідальна мутація гена третього рецептору чинника росту фібробластів (FGFR3). Фактично всі мутації цього гена зачіпають один єдиний сайт та є заміною аргініну на гліцин в положенні 380, який входить у склад трансмембранного домену цього білка. На рівні нуклеотидної послідовності майже всі ці зміни відбуваються у положенні 1138. Це положення виявляється «гарячою точкою», тобто найбільш мутабельним положенням. Частота мутацій в ньому більш ніж у 1000 разів перевищує звичайну частоту виникнення мутацій у геномі. Чому так відбувається і досі загадка для вчених.

Наслідки ось цієї заміни аргініну на гліцин у положенні 380 теж не дуже зрозумілі. На додаток виявляється, що сама по собі мутація в цій діляночці гену FGFR3 не викликає ахондроплазію. Інший високомутабельний сайт у положенні 250 викликає появу синдрому Мюнке, а мутації на інших сайтах спричиняють летальну карликовість новонароджених. Різницю в фенотипах, що виникають внаслідок мутацій в різних сайтах одного і того ж гена можна пояснити взаємодією продуктів цього гена з різними іншими білками.

3. Апоптоз

Велике теоретичне та практичне значення має вивчення апоптозу – програмованою загибеллю клітин, що обумовлена генетичною програмою самогубства. Можна зробити припущення, що така програма вельми консервативна та універсальна для всього живого. Завдяки апоптозу відбувається регуляція кількості клітин в органах та видалення зайвих та потенційно небезпечних клітин. Апоптоз часто супроводжується поступовим розщепленням ДНК на все брідніші шматочки. Прикладом гену апоптозу є ген rpr у дрозофіли, який хздатний акумулювати внутрішні та зовнішні сигнали для своєї експресії та викликати загибель клітини.

Експресія гена bcl2 у людини, навпаки, блокує програму апоптозу у клітинах пухлин. В нормі клітини региструють порушення експресії генів, що контролюють поділ, і, в таких клітинах, вмикається процес апоптозу. В цих випадках апоптоз виступає у якості захисту організму від клітин з генетичними

порушеннями. Однак, при деяких захворюваннях (гаприклад, нейродегенеративних), навпаки, відбувається інтенсифікація процесі апоптозу у звичайних нормальних клітинах. Інколи механізми апоптозу вмикаються ще під час внутрішньоутробного розвитку.

Успіхі геноміки дозволяють всі чіткіше ідентифікувати гени, які впливають на тривалість життя. За фундаментальні дослідження апоптозу С. Бреннер, Дж. Салтон та Р. Хорвиц отримали у 2002 році Нобелевську премію.

4. Загальні закономірності регуляції онтогенезу

Молекулярно-генетичні механізми регуляції онтогенезу подібні у організмів різного філогенетичного рівня та засновуються на фундаментальних процесах активації та репресії. Стартовим сигналом багатьох процесів слугує позиційна інформація яйцеклітини. У поцесах детермінації та диференціації ключовим чинником є диференційована експресія генів. Еукаріоти мають багаторівневу систему експресії генів. Гени, що відповідають за розвиток формують ієрархічну систему. Активація одних генів приводить до вимкнення інших, а регуляція експресії можу здійснюватися на кількох рівнях.

Такий ланцюжок може бути увімкнений лише-но одним геном, який активує каскад послідовних формоутворюючих процесів. Гени, що активують такий каскад у біології розвитку отримали назву генів-господ, а структурні гени найнижчого рівня – генів-рабів. Між ними розташовуються багаточисленні регуляторні гени до яких належать, у тому числі, і гомеозисні. Існують гени, що контролюють гомеозисні гени, і гени, які в свою чергу знаходяться під їх контролем. Диференціальна експресія забезпечується взаємодією багатьох регуляторних генів. Схематично та узагальнено це виглядає приблизно так: гени материнського ефекту-гени-господа-система регуляторних генів-гени-раби (структурні).

Молекулярно-генетичні механізми онтогенезу дуже складні та не зовсім зрозумілі. Однак, вже не викликає сумнівів, той факт, що формоутворюючі процеси обумовлені специфічною, чітко визначеною, послідовністю експресії різноманітних ієрархічно розташованих в системі генів, що контролюють розвиток.